

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NA NUTRIÇÃO DE
VACAS EM LACTAÇÃO**

Alysson Martins Wanderley

CAMPO GRANDE, MS
2020

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NA NUTRIÇÃO DE
VACAS EM LACTAÇÃO**

POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE NUTRITION OF LACTATING COWS

Alysson Martins Wanderley

**Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo
Co-Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Gonçalves Mateus**

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS 2020

Dedicatória

*As pessoas que em toda a minha vida me incentivaram e
não mediram esforços para que eu tivesse oportunidade
de estudar.*

Meus pais e meu irmão!

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente pela dádiva da vida, por me permitir ter o direito de escolhas e por me iluminar sempre a cada passo que dou.

Aos meus pais Roque e Romilda, pelo incessante incentivo, pelas inúmeras noites mal dormidas de trabalho duro, pelos conselhos, pelo apoio a cada momento.

Ao meu irmão Aldrey, por ser a cada dia fonte de inspiração, fonte de força, por ser muitas e muitas vezes, mesmo sem saber, o motivo para que a caminhada continuasse.

A minha noiva Mayara, por ser essa companheira tão maravilhosa, por me incentivar a crescer e por crescer ao meu lado, de mãos dadas, inúmeras vezes me guiando nos tempos difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo, por ter aceito me orientar sem que nunca tivéssemos trabalhado juntos, pela confiança depositada em mim. Pelas orientações, pelos inúmeros ensinamentos nas disciplinas, no laboratório e muitas vezes numa simples conversa. Pelo enorme respeito e amizade com que trata não só a mim, mas a todos os seus orientados, tornando nossos dias de pós-graduandos mais fáceis. Obrigado por ser não só uma referência profissional, mas também uma referência de caráter.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Rodrigo Gonçalves Mateus, pela pronta receptividade com que me recebeu na UCDB, pela disponibilidade irrestrita para ajudar, para conversar sobre o projeto e pela amizade durante esses anos de meu doutorado.

A Prof^a. Dr^a. Marina de Nadai Bonin pelo valioso auxílio durante a pesquisa e pela disponibilidade de seu tempo, por muitas vezes aos finais de semana, para realização das ultrassonografias nas vacas.

A Prof^a. Dr^a. Claudia Andréa Lima Cardoso pelo auxílio no projeto através da realização das análises do perfil de ácidos graxos do leite.

Aos “irmãos” da família NPR, que tão bem me acolheram, de braços abertos. Vocês não imaginam o quanto tornaram minha estadia em Campo Grande melhor. Marlova, Noemila, Eduardo, Marcus, Gabi e Débora vocês sempre estarão em meu coração.

Aos alunos da UCDB, bravos colaboradores, que passaram horas, dias e algumas noites auxiliando em minha pesquisa. Murilo, Endyara, Nivanildo, Celso, Douglas, Josias e Letícia. Um agradecimento especial a vocês João, Rafael, Aline, Lucas e Eliseu, mais que colaboradores vocês se tornaram meus amigos.

A Dr^a. Ariadne Gonçalves, Bacharel em Direito, Bióloga que encarou o desafio de fotografar vacas. Muito obrigado pela ajuda e pelas risadas na fazenda.

Ao Dr. Luiz Carlos Pereira, pela ajuda e apoio na pesquisa.

Aos funcionários da Fazenda Escola da UCDB, Paulinho, Sr. Pedro e Sr. Alfredo, meu muito obrigado pela ajuda em todos os momentos e pela disponibilidade de todos.

A todos os professores da pós-graduação com os quais tive o prazer de ter aulas, meu muito obrigado pelos conhecimentos passados.

Ao secretário do programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Ricardo de Oliveira dos Santos, pela disponibilidade em elucidar dúvidas, resolver problemas com documentos, sempre com muita educação e bom humor, e sempre nos oferecendo um cafezinho.

Aos membros da banca de defesa, Prof. Dr. Marcus Vinicius Morais de Oliveira, Prof. Dr. Gelson dos Santos Difante, Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, Prof^a. Dr^a. Camila Soares Cunha e Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo pela disponibilidade de tempo e pelas correções e sugestões.

Aos amigos Rone e Andrei, pelo tempo de convívio em Campo Grande, pelas risadas e pelas horas conversando.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por meio da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FAMEZ que através do Programa de Pós-graduação, contribuiu para minha capacitação profissional.

A Universidade Católica Dom Bosco, pela disponibilidade da sua estrutura para que eu pudesse realizar minhas pesquisas.

A Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, pelo incentivo a minha capacitação.

A FUNDECT, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro para realização do projeto.

Aos amigos Luceno, Célio, Vanessa, Adriana, Rafael, Juliana, Larissa, Jé, João, Edimilson e tantos outros que foram fundamentais em todos os momentos dessa jornada.

A todos que me ajudaram, me incentivaram ou apenas torceram para que tudo desse certo MUITO OBRIGADO!

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta”.

Chico Xavier

Resumo

WANDERLEY, A. M. Ácidos graxos poli-insaturados na nutrição de vacas em lactação. 2020 Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

A hipótese testada foi que diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados provenientes de sementes de oleaginosas (girassol, soja e caroço de algodão) aumentam a quantidade de ácidos graxos insaturados no leite de vacas Girolando. Objetivou-se avaliar a influência de diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados sobre a produção e o perfil de ácidos graxos do leite, consumo, digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes das dietas. Foram utilizadas cinco vacas primíparas, em início de lactação (35 ± 8 dias pós-parto) com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg distribuídas aleatoriamente num Quadrado Latino 5×5 . Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta padrão sem fonte adicional de lipídio e quatro com diferentes fontes de lipídios: caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja para atingir o 79 g kg^{-1} de extrato etéreo. As amostras de leite foram coletas nas duas ordenhas dos dois últimos dias de cada período experimental. Foram realizadas avaliações de produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite. A mensuração do consumo foi realizada pela diferença entre o total de nutrientes ofertados no dia e as sobras dos mesmos. O coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculado com base na quantidade de nutrientes ingeridos e também excretados nas fezes. Foram realizadas avaliação de digestibilidade e produção cumulativa de gases *in vitro* e degradabilidade ruminal das dietas *in situ*. Os balanços energético e de nitrogênio foram calculados com base no consumo e utilização desses nutrientes. As vacas foram avaliadas quanto ao Escore de Condição Corporal e, por meio de ultrassonografia, quanto a deposição de gordura corporal. Foram utilizadas imagens infravermelho para avaliar a influência das dietas na temperatura da glândula mamária. Os dados de consumo, aproveitamento de nutrientes e desempenho foram avaliados por Análise de Componentes Principais (ACP). O fornecimento de grão de soja integral aumentou em aproximadamente 2 kg dia^{-1} a produção de leite em comparação com a dieta com caroço de algodão. O rendimento do leite (produção corrigida para 4% de gordura) foi aproximadamente 4 kg dia^{-1} maior para vacas consumindo grão de soja comparada a vacas consumindo dieta com óleo de soja. O teor de ácidos graxos de cadeia longa foi aproximadamente 2% superior no leite de vacas consumindo caroço de algodão em comparação com as demais dietas. A ingestão diária de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutriente digestíveis totais (NDT) foi menor em vacas recebendo caroço de

algodão como fonte de ácido graxos poli-insaturados. O fornecimento de fontes adicionais de lipídios resultou em maior consumo de e detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA). As avaliações *in vitro* demonstraram redução na digestibilidade das dietas contendo grãos como fonte de lipídios, sendo aproximadamente 22% para as dietas com caroço de algodão e grão de girassol e 11% nas dietas com grãos de soja. A produção cumulativa de gases demonstrou digestibilidade 15% superior nas dietas padrão e com óleo de soja, comparadas as dietas contendo grãos inteiros. Todas as dietas apresentaram balanços energético e de nitrogênio positivos. A condição corporal das vacas não foi afetada pelas dietas ao longo do experimento. O fornecimento de fontes de ácidos graxos poli-insaturados não alterou a temperatura da glândula mamária. A ACP foi capaz de demonstrar a influência de cada variável nas dietas de forma a proporcionar um entendimento mais sistêmico dos processos digestivos e produtivos das dietas. É recomendado o uso de grão de soja integral na dieta de vacas em lactação por proporcionar maior produção diária de ácidos graxos no leite.

Palavras-chave: Caroço de algodão, desempenho, girassol, Girolando, infravermelho, leite, oleaginosas, soja

Abstract

WANDERLEY, A. M. Polyunsaturated fatty acids in the nutrition of lactating cows. 2020. Tesis - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

The hypothesis was that different sources of polyunsaturated fatty acids from oilseeds (sunflower, soybeans and cottonseed) increase the amount of unsaturated fatty acids in cow's milk. The aim was to evaluate the influence of different sources of polyunsaturated fatty acids on the yield and profile of milk fatty acids, voluntary intake, digestibility and nutrient utilization. Five primiparous cows, in early lactation (35 ± 8 days postpartum) averaging 410 ± 7.15 kg body weight, were randomly distributed in a 5 x 5 Latin Square. Treatments consisted of five experimental diets, one standard diet without an additional source of lipid and four diets cottonseed, sunflower seed, whole soybean or soybean oil as lipid source to reach 70 g Kg⁻¹ ether extract. Milk samples were collected during morning and afternoon milking on the last two days of each experimental period. Milk, milk composition and milk fatty acids were evaluated. Voluntary intake was measured by the difference between diets total nutrients offered and the leftovers. The apparent digestibility coefficient of nutrients was calculated based on the intake and also excretion of nutrients. *In vitro* digestibility, cumulative gas

production and ruminal degradability of diets *in situ* were evaluated. Energy and nitrogen balances were calculated based on the intake and use of these nutrients. The body condition score was evaluated and, body fat deposition was assessed by an ultrasound equipment. Infrared images were used to evaluate the influence of diets on mammary gland temperature. Voluntary intake, nutrient utilization and performance data were analyzed by Principal Component Analysis (PCA). Whole soybean diet increased milk yield by approximately 2 kg day⁻¹ compared to the cottonseed diet. Milk yield corrected for 4% fat was approximately 4 kg day⁻¹ greater for cows consuming whole soybean diet compared to cows consuming soybean oil diet. The content of long-chain fatty acids was approximately 2% greater in the milk of cows consuming cottonseed diet compared to other diets. Dry matter (DM), crude protein (PB), total carbohydrates (TC), non-fibrous carbohydrates (NFC) and total digestible nutrients (TDN) intake were lower in cows fed cottonseed as source of poly unsaturated fatty acids. The supply of additional sources of lipids resulted in greater neutral detergent (NDF) and acid detergent fiber (ADF) intake. *In vitro* analyses revealed a reduction in the gain diets digestibilities by approximately 22% for diets with cottonseed and sunflower grain and 11% for diets with soybeans. Gas-production a 15% higher digestibility in the standard diet and in the soy oil diet, compared to diets containing whole grains was observed. All diets provided positive energy and nitrogen balances. Cows' body condition score was not affected by the diets throughout the experiment. The polyunsaturated fatty acids, from different sources, did not change the the mammary gland temperature. The ACP was able to demonstrate the influence of each variable on diets providing a systemic understanding of the digestive processes and productive responses to the diets. It is recommended to use whole soybean in the diet of lactating cows as it provides greater daily production of fatty acids in milk.

Keyword: Cottonseed, Girolando, infrared, milk, oilseeds, performance, soybean, sunflower

Lista de Figuras

Revisão de Literatura

Figura 1 - Ácidos graxos saturados, insaturados cis e trans.....	19
Figura 2 - Vias da biohidrogenação do ácido linolênico, linoleico e oleico.....	23

Artigo 2

Figura 1 - Projeção das variáveis em estudo de acordo com os componentes principais 1(Dim 1) e 2 (Dim 2).....	89
---	----

Artigo 3

Figura 1 - Projeção das variáveis em estudo de acordo com os componentes principais 1 e 2.....	119
Figura 2 - Representação gráfica das dietas a partir da interseção dos componentes 1 e 2	120
...	

Artigo 4

Figura 1- Imagem infravermelha da glândula mamária e temperatura média dos tetos e antes da ordenha (A), após a ordenha (B), quarto mamário traseiro (C) quarto mamário dianteiro (D).....	140
--	-----

Lista de tabelas

Artigo 1

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).....	46
Tabela 2 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da ingestão diária de nutrientes de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	50
Tabela 3 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção (kg/dia) e composição (g/kg) do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	51
Tabela 4 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da porcentagem de cada ácido graxo dentro da gordura total do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	53
Tabela 5 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção em g/kg de leite dos ácidos graxos de acordo com o tamanho da cadeia e o grau de saturação do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	54

Artigo 2

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).....	73
Tabela 2 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção (kg/dia) e composição (g/kg) do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	79
Tabela 3 - Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da ingestão diária de nutrientes de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.....	81
Tabela 4 - Estimativas dos parâmetros da degradação no rúmen e digestibilidade efetiva da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das dietas contendo diferentes fontes de lipídios.....	83
Tabela 5 - Médias e Erro Médio Padrão para o balanço de Nitrogênio em função das dietas experimentais.....	85
Tabela 6 - Médias e Erro Médio Padrão para o balanço energético em função das dietas experimentais.....	86
Tabela 7 - Médias e Erro Médio Padrão da espessura de gordura (mm) mensurada pela ultrassonografia e Escore de Condição Corporal em função das dietas experimentais.....	87
Tabela 8 - Correlações das variáveis em estudo em cada componente, Autovalores e variância dos componentes principais	88

Artigo 3

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).....	110
Tabela 2 - Médias e Erro médio da digestibilidade in vitro da dieta (g/kg) em função dos tratamentos experimentais.....	115
Tabela 3 - Cinética de degradação in vitro da dieta em função dos tratamentos experimentais.....	116
Tabela 4. - Médias e erro médio do consumo de matéria seca e produção de leite em função dos tratamentos experimentais (kg/dia).....	118

Tabela 5 - Correlações das variáveis em estudo em cada componente, Autovalores e variância dos componentes principais	118
---	-----

Artigo 4

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	136
Tabela 2 - Erro médio e padrão da média (EPM) da produção de leite, contagem de células somáticas do leite (CCS) e temperatura de tetas e úbere de vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes lipídicas.....	138
Tabela 3 - Erro médio e padrão da média (EPM) da temperatura da superfície da pele dos tetos, úbere e quarto mamário em função das dietas, processo de ordenha e posição do quarto mamário de vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes lipídicas.....	139

Lista de Abreviaturas

- %PC** – Porcentagem do Peso Corporal
- a** – Fração solúvel em água;
- A** - Volume de gás (mL) de degradação rápida;
- ACP** – Análise de Componentes Principais
- AGMI** – Ácido Graxo Monoinsaturado
- AGPI** – Ácido Graxo Poli-insaturado
- AOL** – Área de Olho de Lombo
- b** - Fração insolúvel em água potencialmente degradável;
- B** - Taxa de degradação da fração rápida (/hora);
- BE** – Balanço Energético (Mcal/dia)
- BE (%)** – Balanço Energético (% da EI)
- BN (%)** – Balanço de Nitrogênio (% do NT)
- BN (g)** – Balanço de Nitrogênio (g/dia)
- c** - Taxa de degradação da fração b (%);
- C10:0** – Ácido Cáprico
- C12:0** – Ácido Láurico
- C14:0** – Ácido Mirístico
- C14:1** – Ácido Miristoléico
- C15:0** – Ácido Pentadecílico
- C15:1** – Ácido Pentadecenóico
- C16:0** – Ácido Palmítico
- C16:1** – Ácido Palmitoléico
- C17:0** – Ácido Heptadecanóico
- C17:1** – Ácido cis10-Heptadecanóico
- C18:0** – Ácido Esteárico
- C18:2 ω6** – Ácido Linoléico
- C18:3 ω3** – Ácido Alfa Linoléico
- C20:0** – Ácido Araquídico
- C20:1** – Ácido Gadoléico
- C22:0** – Ácido Behênico
- C24:0** – Ácido Lignocérico
- C4:0** – Ácido Butírico
- C6:0** – Ácido Capróico
- C8:0** – Ácido Caprílico
- cis-9 C18:1** – Ácido Oléico
- Cis-9, trans-11 C18:2** – Ácido Linoléico Conjugado
- D** - Volume de gás (mL) de degradação lenta;
- DCHOT** – Digestibilidade dos Carboidratos Totais
- DCNF** – Digestibilidade dos Carboidratos Não Fibrosos
- DE** - Degradabilidade efetiva (%); k - taxa estimada de passagem das partículas no rúmen (2, 5 e 8%/hora).
- DEE** – Digestibilidade do Extrato Etéreo
- DFDA** – Digestibilidade do FDA
- DFDN** – Digestibilidade do FDN
- DMO** - Digestibilidade da Matéria Orgânica
- DMS** – Digestibilidade da Matéria Seca
- DP** - Taxa de degradação potencial no tempo t (%);
- DPB** – Digestibilidade da Proteína Bruta

E = Taxa de degradação da fração lenta (/hora); e
EGC – Espessura de Gordura Subcutânea
EGP – Espessura de Gordura da picanha
EL – Energia Líquida (Mcal)
ELc - Energia Líquida de Crescimento
ELI - Energia Líquida de Lactação
ELm – Energia Líquida de Manutenção
EMP – Erro Médio Padrão
g PM⁻¹ – Gramas por Kg de PC^{0,75}
IDCHOT - Ingestão Diária de Carboidratos Totais
IDCNF - Ingestão Diária de Carboidratos Não Fibrosos
IDEE - Ingestão Diária de Extrato Etéreo
IDFDA - Ingestão Diária de FDA
IDFDN - Ingestão Diária de FDN
IDMO – Ingestão Diária de Matéria Orgânica
IDMS – Ingestão Diária de Matéria Seca
IDPB – Ingestão Diária de Proteína Bruta
Lag = Tempo de colonização das bactérias (h);
NDT – Nutrientes Digestíveis Totais (kg/dia)
NDT (%) – Porcentagem de Nutrientes Digestíveis Totais
N-Fecal (%) - Nitrogênio Fecal (% do NT)
N-Fecal (g) – Nitrogênio Fecal (g/dia)
N-Leite (%) - Nitrogênio do Leite (% do NT)
N-Leite (g) - Nitrogênio do Leite (g/dia)
NT – Nitrogênio Total Consumido
N-Urinário (%) - Nitrogênio Urinário (% do NT)
N-Urinário (g) – Nitrogênio Urinário (g/dia)
Sat:Insat = Relação entre a porcentagem de ácidos graxos saturados e insaturados
t - Tempo de incubação;
trans-11 C18:1 – Ácido Vacênico
Σ C17 – C24 = Somatório das porcentagens de ácidos graxos com cadeias de 17 a 24 carbonos
Σ C4 – C16 = Somatório das porcentagens de ácidos graxos com cadeias de 4 a 16 carbonos

Sumário

1. Introdução.....	17
2. Revisão Bibliográfica.....	18
2.1 Características dos lipídios.....	18
2.2 Metabolismo dos lipídios nos ruminantes.....	20
2.2.1 Lipólise.....	20
2.2.2 Biohidrogenação.....	21
2.3 Utilização de lipídios na alimentação de ruminantes.....	24
2.4 Grãos de oleaginosas na nutrição de vacas leiteiras	26
2.4.1 Soja	27
2.4.2 Algodão	28
2.4.3 Girassol	29
2.5 Metabolismo dos lipídios na glândula mamária	30
3. Referências Bibliográficas.....	33
ARTIGO 1 - Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite de vacas da raça Girolando recebendo diferentes fontes de lipídios na dieta	42
Resumo.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	45
Resultados.....	49
Discussão.....	55
Conclusão.....	62
Referências Bibliográficas.....	62
ARTIGO 2 Análise de Componentes Principais da avaliação in vivo das dietas e desempenho de vacas leiteiras recebendo diferentes fontes de lipídios	69
Resumo.....	69
Introdução.....	71
Material e Métodos.....	72
Resultados.....	79
Discussão.....	90
Conclusão.....	98
Referências Bibliográficas.....	98
ARTIGO 3 - Análise de Componentes Principais do desempenho e da avaliação in vitro de dietas para vacas leiteiras contendo diferentes fontes de lipídios.....	105

Resumo.....	105
Introdução.....	107
Material e Métodos.....	109
Resultados.....	115
Discussão.....	121
Conclusão.....	127
Referências Bibliográficas.....	128
ARTIGO 4 - Temperatura superficial da pele da glândula mamária, medida por termografia infravermelha, em vacas primíparas Girolando alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas.....	133
Resumo.....	133
Introdução.....	134
Material e Métodos.....	135
Resultados.....	138
Discussão.....	140
Conclusão.....	142
Referências Bibliográficas.....	142
4. Considerações Finais.....	144

1. INTRODUÇÃO

A alimentação saudável é uma preocupação para boa parte da população mundial, existindo um interesse nos efeitos benéficos determinados alimentos, que além de satisfazer às necessidades nutritivas básicas, forneça um benefício fisiológico adicional ao homem (MANSUR e FAVARATO, 2016). Novas descobertas na área da saúde tem mudado os hábitos relacionados com a alimentação humana. Tais mudanças referem-se, principalmente, aos benefícios da ingestão da gordura presente no leite e seus derivados.

O consumo de ácidos graxos insaturados com mais de 18 carbonos está relacionado com uma alimentação saudável para os seres humanos já que, em dietas balanceadas, se preconiza a ingestão de mais ácidos graxos poli-insaturados, ômega 3 (ácido α linolênico) e ácido linoleico conjugado (CLA). A ingestão de alimentos ricos em ácidos graxos da série ômega 3 pode ser responsável pela redução na incidência de doenças cardiovasculares (BUCHER et al., 2002; DE LORGERIL e SALEN, 2002; SANGIOVANNI et al., 2000).

Na maioria dos países desenvolvidos o leite é a principal fonte de ácidos graxos para a saúde humana podendo representar cerca de 25% da gordura total ingerida. O teor de gordura do leite pode ser alterado pela dieta das vacas com mudanças no tipo de volumoso e na proporção deste na dieta, no pH ruminal, no balanço energético da dieta e nas fontes de lipídios, seja fornecendo um maior teor de ácido graxos insaturados ou protegendo essa fonte da biohidrogenação ruminal (CHILLIARD et al., 2000).

Diversos autores têm reportado alterações no perfil de ácidos graxos do leite em estudos utilizando diferentes fontes de lipídios na dieta de vacas em lactação (BAYAT et al., 2018; KLIEM et al., 2017; MOURTHÉ et al., 2015). No entanto, a suplementação com fontes de lipídios insaturados prontamente disponíveis causa efeitos deletérios sobre as bactérias metanogênicas e protozoários ruminais e também aumentam o processo de biohidrogenação, reduzindo o teor de ácidos graxos insaturados absorvidos no intestino (PALMQUIST e MATTOS, 2011). Cabiddu et al. (2017) relatam desvantagens na suplementação lipídica para ruminantes como redução da ingestão diária e na digestibilidade da matéria seca total.

Os grãos de oleaginosas possuem proteção natural, e por isso podem ser inertes sobre as bactérias ruminais, não interferindo nos processos de fermentação ruminal, em especial da fibra (PALMQUIST e MATTOS, 2011). As pesquisas, vêm demonstrando variados efeitos da adição de diferentes grãos de oleaginosas à dieta de vacas em lactação (DE ARAÚJO et al., 2018; GANDRA et al., 2016; MUÑOZ et al., 2019; RICO et al., 2017). A utilização de grãos

de oleaginosas, na dieta de vacas em lactação, tanto pode surtir efeitos na produção e composição do leite como no processo digestivo desses animais.

Desta forma, objetivou-se avaliar a produção e a qualidade do leite, perfil de ácidos graxos do leite, consumo voluntário, a digestão e utilização de nutrientes das dietas com diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características dos lipídios

Os lipídios presentes na alimentação de ruminantes são compostos orgânicos de origem vegetal de alto potencial energético (VAN SOEST, 1994). Esses compostos são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos desempenhando importantes papéis na fisiologia do animal (CHURCH e POND, 1977) dentre as quais pode-se destacar como sendo uma eficiente fonte de energia, isolante térmico, auxiliar na absorção de vitaminas e agir como uma camada protetora dos tecidos e do corpo (BOTHAM e MAYES, 2012). Os ácidos graxos (AG) podem ser definidos como ácidos carboxílicos de cadeias hidrocarbonadas e são classificados em saturados, insaturados, *trans* ou *cis* (Figura 1) (LEHNINGER et al., 2005; NELSON e COX, 2011). A extensão, saturação e ramificação dos AG's podem modificar as características químicas das suas moléculas (CHAMPE et al., 2009).

Além disso, o número, a posição e a geometria das duplas ligações influenciam as funções biológicas e definir a essencialidade dos ácidos graxos (PALMQUIST e MATTOS, 2011). Nos ácidos graxos saturados, os carbonos estão ligados por meio de ligações simples, enquanto os AG's insaturados possuem em sua estrutura linear uma ou mais duplas ligações. O tipo de ligação que compõe o AG resulta em um maior ou menor ponto de fusão, determinando assim seu estado físico (líquido ou sólido), de forma que ácidos graxos saturados possuem maior ponto de fusão que os insaturados (LEHNINGER et al., 2005).

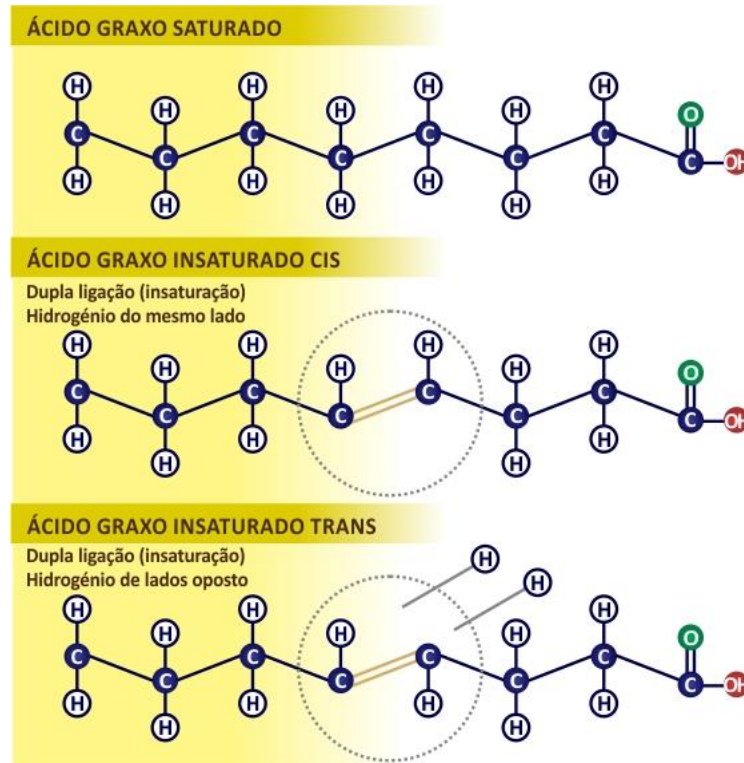


Figura 1 – Ácidos graxos saturados, insaturados *cis* e *trans* (adaptado de KOSLOSK, 2017).

Os lipídios que possuem AG's ligados por ligações ésteres a glicerol ou outro álcool são os mais comuns na natureza, podendo ser divididos em simples ou complexos. São considerados simples quando possuem em sua estrutura apenas carbono, hidrogênio e oxigênio combinados a algum tipo de álcool por exemplo, os glicerídeos, encontrados nas gorduras e óleos que são formados pela junção de ácidos graxos e glicerol (NELSON e COX, 2011). Lipídios complexos ou compostos apresentam, além das substâncias contidas nos simples, átomos de fósforo e carbono, formando fosfolipídios e glicolipídios (CHAMPE et al., 2009).

A maior parte dos AG's encontrados na natureza possuem número de carbono variando de 14 a 24 (LEHNINGER et al., 2005), são sintetizados via condensação de duas unidades de carbono (malonil-CoA), derivado do acetil-CoA e pela ação do complexo ácido graxo sintetase (AGSin), formando assim ácidos graxos saturados. Quando é adicionada uma dupla ligação ao ácido graxo produz-se ácido graxo insaturado, quando a inclusão é de duas ou mais duplas ligações são caracterizados como ácidos graxos poli-insaturados (GURR et al., 2002).

A nomenclatura dos ácidos graxos considera o número de carbonos, o número de duplas ligações da cadeia e a primeira dupla ligação está localizada com o final metil. Exemplificando o ácido linoleico (C 18:2, ômega-6) possui 18 carbonos, duas duplas ligações e a primeira delas ocorre entre os carbonos 6 e 7 (PETIT, 2003). Outro sistema utilizado é o delta que começa com um final ácido e tem o número de átomos de carbono em direção inversa.

Existem famílias diferentes de ácidos graxos nos alimentos sendo o mais comum o sistema ômega (ômega-3, ômega-6, ômega-7 e ômega-9). Esse sistema apresenta os átomos de carbono em sequência começando do final metil.

2.2 Metabolismo dos lipídios nos ruminantes

A composição dos ácidos graxos nos tecidos e leite de ruminantes é determinada pelo metabolismo dos lipídios no rúmen. Assim a taxa de liberação dos lipídios nos alimentos é um fator determinante para esse metabolismo. Desta forma, alimentos como grãos que possuem os lipídios protegidos, por estarem presentes na maioria das vezes no germe, necessitam que a parede celular seja rompida para que inicie o processo de hidrólise (lipólise) (PALMQUIST e MATTOS, 2011). Os lipídios são liberados no rúmen a medida que ocorre o processo de fermentação dos componentes da dieta, sendo que, grande parte sofrerá ação de microrganismos ruminais em processo sequencial de hidrólise ou lipólise e posterior biohidrogenação (FERRO et al., 2014). O processo de lipólise consiste na quebra das ligações éster dos lipídios e a biohidrogenação reduz o número de dupla ligações dos ácidos graxos insaturados oriundos dos vegetais (JENKINS e THOMAS C., 1994).

2.2.1 Lipólise

Ao serem liberados no rúmen, os lipídios estão na forma esterificada (ligações éster) como: triglicerídeos, fosfolipídios e galactolipídeos (LEHNINGER et al., 2005). Após sua disponibilização aos microrganismos ruminais, são rapidamente hidrolisados (lipólise) por lipases associadas a membrana bacteriana e também por fosfolipases e galactolipases, havendo pouca contribuição dos fungos e protozoários ruminais (JENKINS e THOMAS, 1994). A lipólise é extracelular, havendo a liberação de glicerol e açúcares que rapidamente são fermentados a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) sendo o glicerol convertido a propionato e butirato (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

O que contribui para a ação das bactérias na lipólise é a presença da lipase, uma enzima extracelular armazenada em partículas membranosas (ÍTAVO et al., 2005). As principais responsáveis pelo processo de lipólise são as bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter* (PARIZA et al., 2001). Embora tenha alta atividade lipolítica a

Anaerovibrio lipolytica possui menor atividade esterase que diversas bactérias não lipolíticas (ÍTAVO et al., 2005).

Em geral a extensão da lipólise é maior que 85% sendo suficiente para converter parte dos triglicerídeos, fosfolipídios e glicolipídios em ácidos graxos livres (JENKINS e THOMAS, 1994). A saturação do ácido graxo é um fator que interfere na taxa de lipólise, sendo esta maior em ácidos graxos com maior instauração (VAN SOEST, 1994). A frequência de alimentação, composição da dieta, maturidade da forragem e tamanho da partícula ingerida também são fatores que afetam a taxa de lipólise ruminal (NRC, 2001). Partículas pequenas tendem a sofrer menor ação microbiana em função da menor área de ataque dos microrganismos e maior taxa de passagem no rúmen (GERSON et al., 1985).

O aumento do teor de gordura ou a utilização de gorduras com ponto de fusão elevados pode reduzir a extensão da lipólise. Outros fatores como a redução do pH ruminal e o uso de ionóforos também causam esse efeito em função da redução da atividade microbiana (BEAM et al., 2000; LOOR et al., 2004). Van Soest, 1994; Loor et al. (2004) afirmaram que a maturidade do volumoso e o teor de nitrogênio também causam efeito sobre a extensão da lipólise. Desta forma após a lipólise são liberados no rúmen ácidos graxos de cadeia longa como oleico, linoleico e linolênico (GONZÁLEZ e SILVA, 2006)

2.2.2 Biohidrogenação

Ácidos graxos, principalmente poli-insaturados, são tóxicos aos microrganismos ruminais. Como forma de reduzir a instauração e conseqüentemente a toxicidade, as bactérias desenvolveram um mecanismo de autodefesa chamado de biohidrogenação capaz de converter ácidos graxos insaturados em saturados (PALMQUIST et al., 1993; PALMQUIST e MATTOS, 2011). Por não apresentar toxicidade, após a lipólise, os ácidos graxos saturados liberados no rúmen vão para o intestino sem que tenham sofrido nenhum processo metabólico (MARÍN et al., 2010)

Após a lipólise, com a oxidação dos triglicerídeos a ácidos graxos livres ocorre o processo de isomerização e posterior biohidrogenação (HOLANDA et al., 2012). A isomerização ocorre com a ação da enzima trans-11 isomerase convertendo a dupla ligação *cis*-12 em seu isômero *trans*-11. A isomerização do ácido linoleico resulta em ácido rumênico CLA *cis*-9 *trans*-11, já quando esse processo ocorre no ácido α linolênico é formado o ácido C18:2 *cis*-9 *trans*-11 *cis*-15. Após a formação da ligação *trans*-11 pela isomerase ocorre a

hidrogenação da ligação *cis*-9 no C18:0 realizada por redutase microbiana resultando em ácido esteárico (Figura 2) (HOLANDA et al., 2012; ÍTAVO et al., 2005; JENKINS e THOMAS, 1994; KHANAL e DHIMAN, 2004).

O processo de biohidrogenação consiste na adição de um íon de hidrogênio em uma dupla ligação, convertendo assim ácidos graxos insaturados em seus correspondentes saturados. A maioria dos ácidos graxos insaturados possuem 18 carbonos, como o oleico, o linoleico e o linolênico (18:1; 18:2 e 18:3, respectivamente), ou 16 carbonos como o ácido palmitoleico (16:1), estes serão convertidos a ácido esteárico 18:0 e palmítico 16:0. O processo de biohidrogenação não ocorre em sua totalidade para todos os poli-insaturados, alguns ácidos como o linoleico e linolênico, bem como produtos intermediários como o ácido linoleico conjugado e trans-11 C18:1 (ácido trans-vacênico) alcançam o duodeno ocorrendo posterior absorção (HOLANDA et al., 2012).

Ítavo et al. (2005) afirmam que a natureza dos doadores de hidrogênio para esse processo é desconhecida, de forma que os cofatores (NADH, FADH e FMNH) são a provável fonte, assim como substratos que também desempenham esse papel, além disso, a biohidrogenação contribui pouco para a retirada de hidrogênio do ambiente ruminal, pois, cerca de 1 a 2% do hidrogênio metabólico é utilizado para esse propósito.

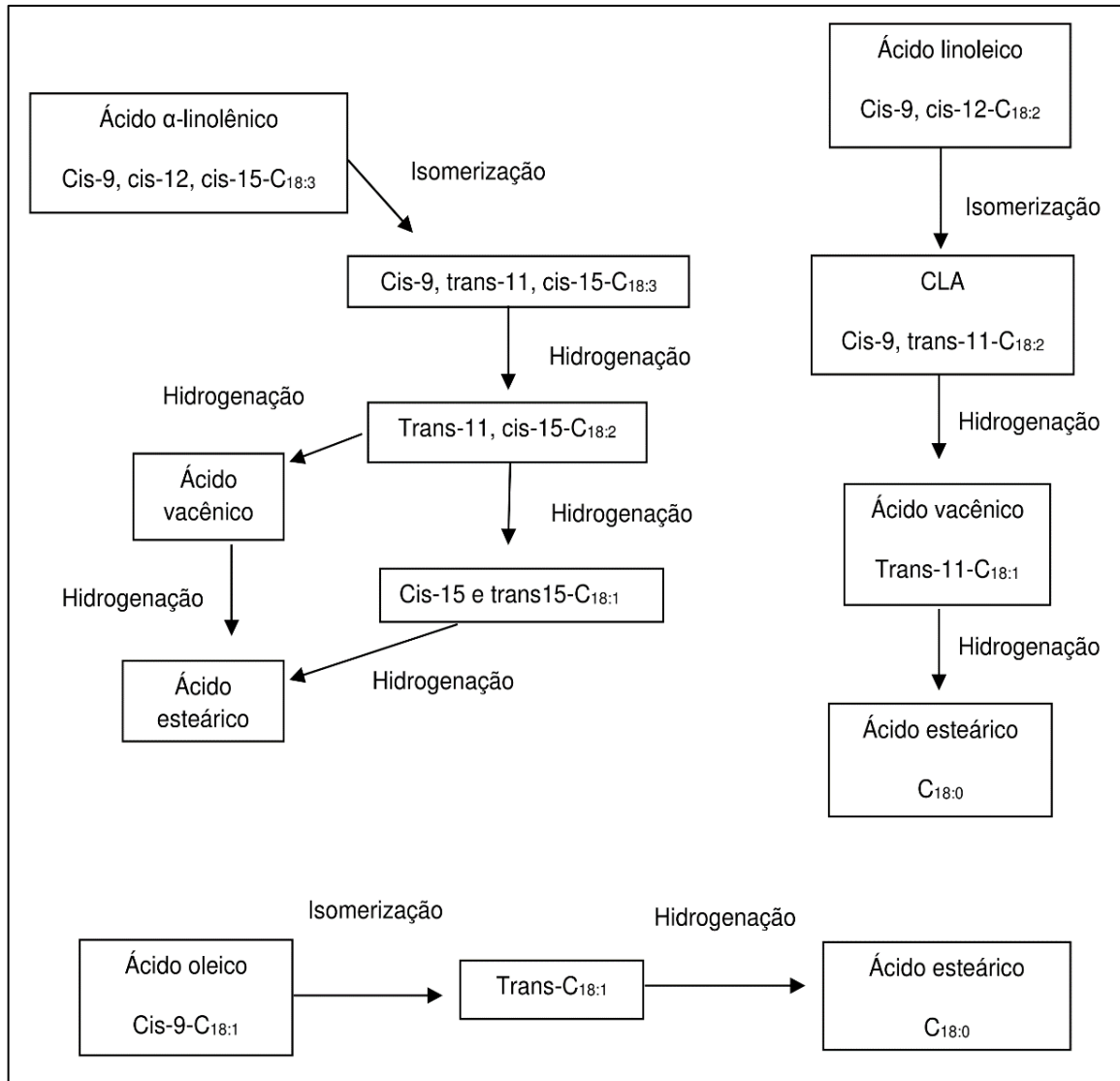


Figura 2 - Vias da biohidrogenação do ácido linolênico, linoleico e oleico (adaptado de HARFOOT e HAZLEWOOD, 1988)

Se por um lado o processo de biohidrogenação é um mecanismo de defesa das bactérias ruminais, tal processo, resulta numa menor disponibilidade de ácidos graxos insaturados nos produtos de ruminantes, carne e leite (DA SILVA et al., 2007). Nesse sentido torna-se importante a utilização de fontes de lipídios ricas em ácidos graxos insaturados, mas que tenham uma liberação lenta no rúmen, reduzindo assim a toxicidade para os microrganismos e resultando numa maior disponibilidade de ácidos graxos insaturados para absorção intestinal. Para esse propósito diversas fontes de lipídios podem ser utilizadas em dietas de ruminantes desde óleo de soja, gorduras protegidas e grãos de oleaginosas (HIGHTSHOE et al., 1991).

2.3 Utilização de lipídios na alimentação de ruminantes

A suplementação de ruminantes com fontes de lipídios proporciona melhor eficiência de uso da energia, em função da redução do incremento calórico e do consumo de fonte de energia mais concentrada quando há redução do consumo de matéria seca. Ocorre também, o aumento da eficiência produtiva de leite em função da incorporação direta da gordura da dieta no leite, substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis, visando a otimização do consumo de forragem e fermentação ruminal. Estes efeitos aumentam a flexibilidade da formulação das dietas, proporcionam melhor absorção de nutrientes solúveis e atuam na modificação da composição da gordura do leite visando melhor aceitação do consumidor (NRC, 2001; PALMQUIST e MATTOS, 2011).

Essa suplementação é uma estratégia utilizada na nutrição de animais em estado de limitado consumo, como em situações de estresse calórico no terço final de gestação ou início de lactação e momentos em que ocorre um déficit energético nutricional (PAULA et al., 2012). Nesse sentido, uma das maiores vantagens da inclusão de fontes lipídicas na dieta é aumentar a concentração energética sem que haja modificação na relação volumoso:concentrado resultando em melhor produtividade e qualidade dos produtos (HESS et al., 2008).

Kliem et al. (2017) relatam a eficiência do uso da suplementação com fontes de lipídios na qualidade do leite, demonstrando uma redução do teor de gordura saturada do leite de vacas Holandesas suplementadas com linhaça, colza e sais de cálcio de palma com óleo de linhaça. Os mesmos autores reportaram não haver redução no consumo de matéria seca e produção de leite dos animais suplementados e aumento do CLA total do leite das vacas alimentadas com sais de cálcio de palma com óleo de linhaça. Em experimento usando diferentes níveis de inclusão de grão de soja tostado na dieta de vacas leiteiras em pastejo Mourthé et al. (2015) afirmaram haver aumento linear nos teores de ácido linoleico, linolênico e oleico do leite em vacas que receberam dietas com 0 a 3,9 kg/dia de grão de soja tostado.

Outro efeito benéfico da suplementação de fontes de lipídio na dieta de ruminantes foi reportado por Bayat et al. (2018), onde atribuíram a redução da emissão de metano nos animais à suplementação da dieta com óleos vegetais. Esses autores forneceram óleo de colza, cártamo e linhaça, além de uma dieta sem adição de óleo, e observaram redução na produção de metano dos animais que receberam as três fontes de óleo. Os autores afirmaram que a redução da produção de metano está pouco associada a menor ingestão de matéria seca e provem em sua maior parte da maior disponibilização dos lipídios insaturados, aumentando assim a biohidrogenação ruminal e a utilização do hidrogênio. Para Berchielli; Messana; Canesin,

(2012) a suplementação com fontes de lipídio insaturados prontamente disponíveis causa efeitos deletérios sobre as bactérias metanogênicas e protozoários ruminais e também aumentam o processo de biohidrogenação reduzindo assim as moléculas de hidrogênio disponíveis à produção de metano. Além da redução na produção de metano (BAYAT et al., 2018) afirmam haver redução nos teores de ácidos graxos saturados e aumento dos poli-insaturados no leite de vacas recebendo óleos de cártamo e linhaça na dieta.

Embora tenham observado redução de ácidos graxos saturados e aumento dos insaturados no leite de animais recebendo grão de girassol e grão de linhaça no concentrado Cabiddu et al. (2017) relataram desvantagens na suplementação lipídica para ruminantes como redução da ingestão diária de matéria seca e digestibilidade da matéria seca total quando comparados a animais consumindo somente pasto. Os autores atribuem a redução da ingestão e digestibilidade a um possível efeito entre a fibra da forragem, o amido e o lipídio do concentrado. Para Ítavo et al. (2005), a degradação ruminal de carboidratos estruturais pode ser reduzida em até 50% com a adição de lipídios à dieta, essa redução resulta numa maior excreção de fibra e redução da degradabilidade total da dieta.

Alguns mecanismos podem estar ligados a redução da ingestão de matéria seca, como a redução de matéria orgânica fermentescível, uma vez que os lipídios não são fonte de energia para as bactérias e efeitos tóxicos dos ácidos graxos insaturados sobre as bactérias celulolíticas e protozoários (SOLÓRZANO et al., 2015). De acordo com Jenkins (1994) os lipídios podem causar um revestimento nas partículas do alimento, inibindo a digestão da celulose. Essa cobertura causa efeito prejudicial por inibir o contato das bactérias ou suas enzimas com as partículas de fibra. Allen (2000) sugeriu que a adição de lipídios à dieta pode reduzir o consumo em função também da ação de hormônios intestinais e oxidação de gorduras no fígado. Existem divergências na redução do consumo de matéria seca quando são adicionadas fontes de lipídios a dieta, para Palmquist; Jenkins (1980) essas divergências ocorrem em função das diferentes fontes, processamentos e níveis de inclusão utilizados.

O teor de lipídios fornecido na dieta é um fator de grande importância na limitação da digestibilidade ruminal, não sendo recomendado o uso de mais que 6 a 7% da MS total, de forma a evitar a depressão na digestibilidade da fibra e no consumo. Em dietas com altos níveis de concentrado a suplementação máxima é de 6% (HESS et al., 2008; MACHADO et al., 2011).

Ítavo et al. (2005) afirmaram que o grau de instauração da fonte de lipídio influencia na redução da fermentação ruminal, onde ácidos graxos insaturados promovem maior redução da fermentação da fibra que ácidos graxos saturados. Murphy et al. (1987) observaram maiores depressões no consumo de matéria seca quando os lipídios foram fornecidos na forma de óleo,

essa redução foi minimizada quando o teor equivalente de lipídio foi fornecido na forma de grãos. O fornecimento de ácidos graxos insaturados na forma de óleo promove inibição da função microbiana (ENGLE et al., 2000). Ao entrar na membrana bacteriana esses compostos promovem uma desorganização dos fosfolipídios e um possível dano citológico (JENKINS, T. C. et al., 2008) e redução do cálcio necessário para função microbiana (JENKINS e PALMQUIST, 1984)

Para Jenkins (1994) o fornecimento de ácidos graxos insaturados pode causar efeitos negativos na fermentação ruminal. Essa influência está associada a quantidade de ácidos graxos fornecida, ao grau de instauração, e a taxa de liberação desses no ambiente ruminal. Quando a hidrogenação dos ácidos graxos ultrapassa seu limite a fermentação ruminal passa a sofrer alterações em função dos efeitos negativos dos ácidos graxos insaturados sobre os microrganismos ruminais (NRC, 2001).

2.4 Grãos de oleaginosas na nutrição de vacas leiteiras

A suplementação lipídica em dietas de vacas leiteiras tem como objetivos aumentar o aporte energético da dieta, reduzir os efeitos tóxicos dos lipídios sobre a degradação ruminal e modificar o perfil de ácidos graxos do leite. Segundo (NRC, 2001) os grãos de oleaginosas possuem uma mistura única de proteína e lipídios, sendo que os lipídios são constituídos em sua maioria por triglicerídeos. Palmquist; Mattos (2011) destacam ainda que a utilização de grãos de oleaginosas como fonte de lipídio para vacas leiteiras tem como características a liberação lenta dos lipídios no ambiente ruminal, o que reduz a biohidrogenação e possibilita o aumento da ingestão de energia sem que haja redução do pH; reduz o estresse térmico dos animais em função da melhor utilização da energia; ocorre a substituição dos carboidratos rapidamente fermentáveis resultando num aumento do consumo de forragem; melhora na qualidade da gordura do leite; aumento da absorção de nutrientes solúveis e flexibilidade na formulação das dietas.

Diversas oleaginosas vem sendo utilizadas em pesquisas com vacas leiteiras na forma de grãos ou óleo demonstrando o potencial desses produtos na alimentação. Estudos demonstram alterações na produção de leite com a inclusão de oleaginosas na dieta de vacas em lactação (RICO et al., 2017; VENTURELLI et al., 2015). A utilização dessas fontes de lipídios também resultam em mudanças na ingestão de alimentos (ALMEIDA et al., 2019;

MUÑOZ et al., 2019; MURTA et al., 2016), alterações na digestibilidade da dieta (BARLETTA et al., 2016) e da biohidrogenação ruminal (SAMADI et al., 2018).

Outro efeito reportado com o uso de diversas oleaginosas está ligado à gordura do leite, esses grãos podem alterar a quantidade de gordura produzida (MUÑOZ et al., 2019; VENTURELLI et al., 2015) e o perfil de ácidos graxos que compõem essa gordura (BARLETTA et al., 2016; MUÑOZ et al., 2019; VENTURELLI et al., 2015; WELD e ARMENTANO, 2018). Os efeitos do fornecimento de oleaginosas são variados e dependem da oleaginosa a ser utilizada, quantidade fornecida, características da dieta e do animal (RABIEE et al., 2012).

2.4.1 Soja

A soja (*Glycine max*) é uma planta herbácea, dicotiledônea anual. Apresenta grande variabilidade genética, tanto no ciclo vegetativo como no reprodutivo. É considerada a principal forrageira leguminosa, pela alta concentração de lipídeos nas sementes, sendo importante fonte de matéria prima para produção de óleo e farelo (SILVA et al., 2006). A planta é originária da China e foi introduzida no Brasil na década de 60 e atualmente é o grão mais produzido no país, o que torna o Brasil o segundo maior produtor mundial, com estimativa de cultivo de 28 milhões de hectares para a safra 2019-2020 (CONAB, 2019).

O grão da soja, devido a sua composição, é um excelente alimento para vacas em lactação sendo ótima fonte de energia e proteína (PALMQUIST, 1991). A composição nutricional do grão de soja é de aproximadamente 39% de proteína, 19% de lipídios e 85% de nutrientes digestíveis totais NDT (NRC, 2001; VALADARES FILHO et al., 2019). Dos 19% de lipídios presentes no grão de soja, cerca de 11% são de palmítico (C16:0), 4% esteárico (C18:0), 23% oleico (C18:1), 51% linoleico (C18:2) e 7% linolênico (C18:3) (PALMQUIST e MATTOS, 2011).

De acordo com Rennó et al. (2009) as pesquisas utilizando grãos de soja na alimentação de ruminantes iniciaram na década de 60 juntamente com as pesquisas do uso de outras oleaginosas. No entanto, a utilização desse grão deve ser moderada. Palmquist; Jenkins (1980) afirmam que devido ao alto teor lipídico, o uso do grão de soja deve ser limitado para que não cause alterações na fermentação ruminal e, por consequência, no aproveitamento dos nutrientes, recomendando assim o uso de 1,8 a 2,5 kg por animal/dia.

Embora o uso do grãos de soja na alimentação de vacas leiteiras exija cuidado em função do potencial efeito negativo no desempenho dos animais, os ruminantes não apresentam problemas com as substâncias alérgicas, anticoagulantes e tóxicas presentes no grão de soja pois, essas substâncias são metabolizadas ou desativadas durante o processo de digestão ruminal (McDONALD et al., 2002). Para Rennó et al. (2009), embora diversas pesquisas já tenham sido realizadas com o uso de grãos de soja para alimentação de vacas leiteiras, é importante avaliar o potencial desse grão na alimentação das vacas em condições que reflitam as que são comumente utilizadas na produção de leite no Brasil.

O uso da soja em grão ou óleo foi bastante estudado e seus resultados recentes indicam variações na produção e qualidade do leite. Freitas et al. (2018) utilizando 2.7% de óleo de soja e 14% de grão de soja integral demonstraram não haver efeito dos tratamentos na ingestão diária de alimento, digestibilidade da dieta e produção de leite. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Zanferari et al. (2018), que também afirmam não haver efeito do grão de soja sobre o consumo e a digestibilidade, quando adicionado em 14% na dieta. Esses autores afirmam ainda que houve redução do teor de ácidos graxos saturados e aumento de mono e poli-insaturados do leite. Barletta et al. (2016) fornecendo níveis de grãos de soja na dieta até 24%, observaram efeito linear negativo na ingestão de alimentos e produção de leite. Não foi observado efeito dos níveis de inclusão de grãos de soja sobre a porcentagem de ácidos graxos saturados e insaturados do leite.

2.4.2 Algodão

O algodão (*Gossypium L.*), da família Malvaceae é uma dicotiledônea de ciclo anual. Beltrão et al. (2008) relataram que existem mais de 50 espécies do gênero *Gossypium*, mas apenas quatro são cultivadas, isto é, domesticadas. As espécies cultivadas, a *G. hirsutum L.* e a *G. barbadense L.*, descendam de um ancestral comum originário do Continente Africano, classificado como *Gossypium herbaceum africanum*.

No Brasil, a estimativa de cultivo de algodão para a safra 2019-2020 é de 1,7 milhões de hectares, resultando em 4,1 milhões de toneladas de caroço de algodão (CONAB, 2019). O caroço de algodão é constituído por línter, casca e amêndoa e possui em suas características bromatológicas aproximadamente 23% de PB, 19% de EE e 46% de FDN e 80% de NDT, podendo ser incluído na dieta de vacas em lactação com o intuito de aumentar a densidade energética (NRC, 2001; VALADARES FILHO et al., 2019). Cerca de 25% dos ácidos graxos

do caroço de algodão são representados pelo palmítico (C16:0), 3% esteárico (C18:0), 17% oleico (C18:1) e 53% linoleico (C18:2), caracterizando-se como uma fonte altamente insaturada (PALMQUIST e MATTOS, 2011).

Em função do seu teor de lipídios, assim como a soja, o caroço de algodão não pode ser fornecido à vontade. As recomendações são para que o caroço de algodão seja adicionado a dieta de vacas em lactação na quantidade de 2 a 4 kg/dia, dependendo da produção de leite dos animais. Níveis mais elevados podem causar queda da fermentação ruminal pelo excesso de lipídios no rúmen (CAMPOS et al., 1995).

Por apresentar alto teor de ácidos graxos insaturados, o óleo proveniente do caroço de algodão pode ser prejudicial aos microrganismos ruminais (JENKINS e THOMAS, 1994). Por esse motivo se os ácidos graxos estiverem na forma livre poderão comprometer a digestão da fibra e, conseqüentemente, dos demais nutrientes da dieta. Assim torna-se interessante o uso do caroço de algodão já que, desta forma, o óleo está protegido (SULLIVAN et al., 2005).

Nos últimos anos as pesquisas utilizando caroço de algodão vêm demonstrando diversos resultados na ingestão e digestibilidade da dieta e na produção e composição do leite de vacas em lactação. Costa et al., (2018) fornecendo níveis de 0 a 24% de caroço de algodão para vacas cruzadas Holandês x Zebu, observaram redução linear nos teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados no leite e aumento no teor de ácidos poli-insaturados. Muñoz et al. (2019) ofertando 18% de caroço de algodão na dieta, reportaram semelhanças na ingestão de matéria seca, produção de leite e teor de gordura do leite com a dieta sem caroço de algodão e aumento nos teores de ácidos mono e poli-insaturados do leite.

2.4.3 Girassol

O cultivo do girassol (*Helianthus annuus L.*) no Brasil teve início no século XIX, sendo trazido pelos colonos europeus (Pelegriani, 1985), e teve como objetivo inicial a extração de óleo que é considerado, dentro os óleos vegetais, como um dos óleos de melhor qualidade e melhor perfil de ácidos graxos (ROSSI, 1998). A estimativa da área plantada no Brasil em 2019 foi de aproximadamente 62 mil hectares com produção esperada de 98 mil toneladas de grãos (CONAB, 2019).

A composição nutricional do grão de girassol pode sofrer alguma variação em função da variedade cultivada, no entanto, Valadares Filho et al. (2019) demonstraram valores médios de 19% de PB, 43% de EE e 48% FDN. Segundo Bett; Silva (2005) a razão de ácidos graxos poli-insaturados:saturados no grão de girassol é de 6:1. Sua composição de ácidos graxos

apresenta cerca de 5,5% de ácido palmítico (C16:0), 16 a 27% de ácido oleico (C18:1), 48 a 74% de ácido linoleico (C18:1) e reduzidos valores de ácido linolênico (PALMQUIST e MATTOS, 2011).

O grão de girassol apresenta uma casca rígida que o envolve o grão, dessa forma, a utilização de grão inteiro na dieta pode prejudicar a digestibilidade dos nutrientes pelos animais. Entretanto, no caso dos ruminantes, o grão inteiro apresenta-se como uma forma de proteção contra a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados pelas bactérias ruminais (OLIVEIRA e CÁCERES, 2005).

Pesquisas recentes têm demonstrado os efeitos da inclusão de grãos de girassol na produção de leite. Salehi et al. (2016) utilizando 8% de grãos de girassol na dieta de vacas leiteiras, reportaram redução na porcentagem de ácidos graxos com cadeias com menos de 18 carbonos e aumento no teor de ácido linoleico do leite. Também utilizando dieta com 8% de grãos de girassol Razzaghi et al. (2016) afirmaram não haver diferença na ingestão diária de matéria seca (IDMS), produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite em relação a dieta sem grãos de girassol. Do Prado et al. (2015) afirmaram que a utilização de 4,2% de óleo de girassol na dieta pode aumentar a digestibilidade aparente de proteína bruta (PB) da dieta, reduzir a excreção de nitrogênio nas fezes, aumentar a produção de butirato no rúmen, e aumentar a proporção dos ácidos graxos de cadeia longa no leite. Essa alteração se deve não só ao perfil de ácidos graxos do óleo de girassol, mas também ao fornecimento como óleo, tendo os ácidos graxos prontamente disponíveis.

2.5 Metabolismo dos lipídios na glândula mamária

O perfil de ácidos graxos do leite é caracterizado pela diversidade no tamanho das cadeias de carbonos desses ácidos graxos, podendo apresentar desde 4 a 26 carbonos, incluindo cadeias ramificadas e diversos isômeros dos insaturados (KRAMER et al., 1997). A gordura do leite pode apresentar mais de 400 ácidos graxos, sendo a composição final afetada em sua maior parte pela nutrição (JENSEN, 2002). Dentre os componentes do leite, a gordura é o que sofre maior oscilação, podendo variar entre 2 e 3%. Fatores nutricionais como a relação volumoso concentrado, fibra efetiva da dieta, tipo de concentrado e o seu processamento, além da inclusão de gordura na dieta, podem resultar em diferenças no percentual de gordura do leite bem como no perfil de ácidos graxos (JENKINS e THOMAS, 1994).

Há três principais fatores que influenciam a transferência de lipídios da dieta para o leite, a biohidrogenação ruminal, a absorção (digestibilidade) e a deposição no tecido adiposo (PALMQUIST et al., 1993). A gordura do leite é composta, principalmente, por triacilgliceróis (cerca de 98%), diacilgliceróis (entre 0,25 e 0,48%), monoacilgliceróis (0,02 a 0,4%), glicolipídios (0,006%), ácidos graxos livres (0,1 a 0,4%), fosfolipídios e esteróis (SEÇKIN et al., 2005). Existem três maneiras dos ácidos graxos serem incorporados aos triacilgliceróis do leite: pela captação de ácido graxos pré formados provenientes da circulação sanguínea, oriundos da dieta; pela mobilização da gordura corporal, responsável por parte dos ácidos graxos de 16 carbonos e ácidos graxos de cadeia longa e pela síntese *de novo* que corresponde aos ácidos graxos de cadeias entre 4 e 14 carbonos e cerca de 50% dos ácidos graxos de 16 do leite carbonos (COZMA et al., 2013).

Cerca de 10% dos ácidos graxos presentes no leite são mobilizados do tecido adiposo, no entanto, no início da lactação essa porcentagem pode ser maior devido ao balanço energético negativo (BAUMAN e GRIINARI, 2001). A maior parte dos ácidos graxos do leite possuem cadeia de carbono entre 4 e 16 carbonos e são, principalmente, provenientes da síntese *de novo*. A síntese *de novo* na glândula mamária envolve duas enzimas-chave: acetilCoA carboxilase e ácido graxo sintetase, tendo o acetato como principal contribuinte para a unidade inicial de carbonos (CHILLIARD e FERLAY, 2005). A acetilCoA carboxilase transforma o acetato em malonil-CoA e a ácido graxo sintetase catalisa os ciclos de condensação do malonil-CoA originados no metabolismo do acetato e do beta-hidróxibutirato. Desta forma, a glândula mamária bovina possui a capacidade de liberação de ácidos graxos a partir de várias fases da síntese, resultando na secreção de ampla variedade de ácidos graxos de cadeia curta ou média (SHINGFIELD et al., 2008).

A enzima estearoil-CoA dessaturase ou Δ^9 – desaturase também está presente no processo de formação dos ácidos graxos na glândula mamária. Ela converte ácidos graxos saturados em ácidos graxos monoinsaturados através da introdução de uma dupla ligação *cis* entre os átomos 9 e 10 da cadeia de carbono (GRIINARI et al., 2000). Cerca de 50 a 77% da síntese de ácido rumênico na glândula mamária é oriunda dessa reação. Outros ácidos graxos também são formados a partir da ação desta enzima como: ácido oleico (56%), ácido palmitoleico (60%) e ácido miristoléico (90%) (SHINGFIELD e WALLACE, 2014).

A atividade dessas enzimas pode ser diretamente influenciada pela dieta. Dietas contendo maior teor de fibra resultam em maior atividade enzimática (LOCK e GARNSWORTHY, 2003). Este fato pode ser observado em vacas alimentadas com dietas com elevadas concentrações de carboidratos fermentáveis e baixos teores de fibra e/ou quando

suplementadas com óleos insaturados (HARVATINE, 2012). Alguns ácidos graxos poli-insaturados provenientes da deita são capazes de inibir a transcrição de genes que codificam as enzimas, reduzindo a atividade da acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase envolvidas na síntese de novo de ácidos graxos (HARVATINE e ALLEN, 2006; PERFIELD et al., 2007).

Baseado no exposto, a hipótese testada foi que diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados provenientes de sementes de oleaginosas (girassol, soja e caroço de algodão) aumentem a quantidade de ácidos graxos insaturados no leite de vacas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir). Objetivou-se avaliar a influência de diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados sobre a produção e o perfil de ácidos graxos do leite, consumo, digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes das dietas

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, Michael S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 83, n. 7, p. 1598–1624, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75030-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2)>.
- ALMEIDA, O. C.; FERRAZ, M. V.C.; SUSIN, I.; GENTIL, R. S.; POLIZEL, D. M.; FERREIRA, E. M.; BARROSO, J. P.R.; PIRES, A. V. Plasma and milk fatty acid profiles in goats fed diets supplemented with oils from soybean, linseed or fish. *Small Ruminant Research*, v. 170, p. 125–130, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.11.002>>.
- BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JUNIOR, J. E.; VERDURICO, L. C.; MINGOTI, R. D.; BETTERO, V. P. High levels of whole raw soya beans in dairy cow diets: digestibility and animal performance. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 100, n. 6, p. 1179–1190, 2016.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science* 70, v. 70, p. 15–29, 2001.
- BAYAT, A. R.; TAPIO, I.; VILKKI, J.; SHINGFIELD, K. J.; LESKINEN, H. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 2, p. 1136–1151, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13545>>.
- BEAM, T. M.; JENKINS, T. C.; MOATE, P. J.; KOHN, R. A.; PALMQUIST, D. L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *Journal of Dairy Science*, v. 83, n. 11, p. 2564–2573, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75149-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75149-6)>.
- BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P.; FILHO, F. J.; BRITO, G. G. Enfoque Agrometeorológico para Cultura da Mamoneira 120. *Circular Técnica*, p. 1–13, 2008.
- BERCHIELLI, Telma Teresinha; MESSANA, Juliana Duarte; CANESIN, Roberta Carrilho. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, v. 13, n. 4, p. 954–968, 2012.
- BETT, V.; SILVA, L.D.F. Girassol na dieta de ruminantes. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. (Org.). *Girassol no Brasil*. Londrina: EMBRAPA, 2005. p. 69–92.
- BOTHAM, K. M.; MAYES, P. A. Lipídios de Importância Fisiológica. In: MURRAY, R. K. et al. (Org.). *Harper Bioquímica Ilustrada*. 20. ed. [S.l.]: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A, 2012. p. 140–152.

- BUCHER, H. C.; HENGSTLER, P.; SCHINDLER, C.; MEIER, G. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Medicine*, v. 112, n. 4, p. 298–304, 2002.
- CABIDDU, A.; ADDIS, M.; FIORI, M.; SPADA, S.; DECANDIA, M.; MOLLE, G.; Pros and cons of the supplementation with oilseed enriched concentrates on milk fatty acid profile of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research*, v. 147, p. 63–72, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.11.019>>.
- CAMPOS, O.F.; LIZIERI, R.S.; DAYRELL, M. S.; OLIVEIRA, J. S. Características e composição de alguns alimentos concentrados utilizados na alimentação de bovinos de leite. p. 30, 1995.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. *Bioquímica Ilustrada*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R. M.; DOREAU, M. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Animal Research*, v. 49, n. 3, p. 181–205, 2000.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction, nutrition, development*, v. 44, n. 1, p. 467–492, 2005.
- CHURCH, D. C.; POND, W. G. *Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos*. Zaragoza: Acribia, 1977.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. Companhia Nacional de Abastecimento, v. 6, n. 9, p. 1–113, 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>>.
- COSTA, E. N.; FERRÃO, S. P. B.; SILVA, R. R.; PORTO, A. F.; DAMÁSIO, J. M. A.; SANTIAGO, B. M.; COSTA, E. G. L.; DA SILVA, F. F. Fatty acid profile and milk cholesterol of crossbred holstein × zebu cows fed on whole cottonseed. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 29, n. 8, p. 1770–1775, 2018.
- COZMA, A.; MIERE, D.; FILIP, L.; ANDREI, S.; BANC, R.; LOGHIN, F. A Review of the Metabolic Origins of Milk Fatty Acids. *Notulae Scientia Biologicae*, v. 5, n. 3, p. 270–274, 2013.
- DA SILVA, D. C.; SANTOS, G. T.; BRANCO, A. F.; DAMASCENO, J. C.; KAZAMA, R.; MATSUSHITA, M.; HORST, J. A.; DOS SANTOS, W. B.R.; PETIT, H. V. Production performance and milk composition of dairy cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 6, p. 2928–2936, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2006-573>>.

- DE ARAÚJO, C. E.; GANDRA, J. R.; BARLETT, R. V.; MINGOTI, R. D.; BETTERO, R. V.; DE JESUS, E. F.; DEL VALLE, T. A.; GHIZZI, L. G.; SILVA, J. R.; RENNÓ, F. P. Dietary calcium salts of fatty acids and soybean oil effects on mid-lactation dairy cows performance. *Archivos de Zootecnia*, v. 67, n. 257, p. 119–125, 2018.
- DE LORGERIL, M.; SALEN, P. Fish and N-3 fatty acids for the prevention and treatment of coronary heart disease: Nutrition is not pharmacology. *American Journal of Medicine*, v. 112, n. 4, p. 316–319, 2002.
- DO PRADO, R. M.; CÔRTEZ, C.; BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V. Interaction of sunflower oil with monensin on milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 207, p. 85–92, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.06.017>>.
- ENGLE, T. E.; SPEARS, J. W.; FELLNER, V.; ODLE, J. Effects of soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *Journal of Animal Science*, v. 78, n. 10, p. 2713–2721, 2000.
- FERRO, M. M.; MOURA, D. C.; GERON, L. J. V. Revisão Bibliográfica Compostos Secundários Em Co-Produtos Agroindustriais. *Revista de Ciências Agroambientais*, v. 12, n. 1, p. 87–100, 2014.
- FREITAS, J. E.; TAKIYA, C. S.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; VENTURELLI, B. C.; VENDRAMINI, T. H.A.; MINGOTI, R. D.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; FERREIRA DE JESUS, E.; OLIVEIRA, M. D.S.; RENNÓ, F. P. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 9, p. 7881–7891, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13666>>.
- GANDRA, J. R.; MINGOTI, R. D.; BARLETTA, R. V.; TAKIYA, C. S.; VERDURICO, L. C.; FREITAS, J. E.; PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; CALOMENI, G. D.; RENNÓ, F. P. Effects of flaxseed, raw soybeans and calcium salts of fatty acids on apparent total tract digestibility, energy balance and milk fatty acid profile of transition cows. *Animal*, v. 10, n. 8, p. 1303–1310, 2016.
- GERSON, T.; JOHN, A.; KING, A. S. The effects of dietary starch and fibre on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. *The Journal of Agricultural Science*, v. 105, n. 1, p. 27–30, 1985.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. 2. ed. [S.l.: s.n.], 2006.

- GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated Linoleic Acid Is Synthesized Endogenously in Lactating Dairy Cows by Δ^9 -Desaturase. *The Journal of Nutrition*, v. 130, n. 9, p. 2285–2291, 2000.
- GURR, M. I.; HARWOOD, J. L.; FRAYN, K. N. *Lipid Biochemistry*. 5. ed. [S.l.]: Wiley, 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470774366>>.
- HARFOOT, C. G. HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. *The Rumen Microbial Ecosystem*. New York: Elsevier Science Publishing, 1988. p. 285–322.
- HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 3, p. 1104–1112, 2006. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72178-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72178-6)>.
- HARVATINE, K. J. Circadian Patterns of Feed Intake and Milk Composition Variability. n. 814, p. 43–55, 2012.
- HESS, B. W.; MOSS, G. E.; RULE, D. C. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, v. 86, n. 14 Suppl, 2008.
- HIGHTSHOE, R. B.; COCHRAN, R. C.; CORAH, L R; KIRACOFÉ, G. H; HARMON, D. L. Effects of calcium soaps of fatty acids in beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 69, p. 4097–4103, 1991.
- HOLANDA, M. A. C.; HOLANDA, M. C. R.; MENDONÇA JR, A. Suplementação Dietética De Lipídios Na Concentração De Ácido Linoléico Conjugado Na Gordura Do Leite. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 3, p. 221–229, 2012. Disponível em: <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/2305>>.
- ÍTAVO, C. C. B. F.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, F.F.; VELOSO, C.M.; OLIVEIRA, R.L. Aspectos da fermentação ruminal de lipídios. In: ÍTAVO, L. C. V.; ÍTAVO, C. C. B. F. (Org.). *Nutrição de ruminantes: aspectos relacionados à digestibilidade e ao aproveitamento de nutrientes*. 1. ed. Campo Grande: UCDB, 2005. p. 184.
- JENKINS, T. C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E.; Board-Invited Review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science*, v. 86, n. 2, p. 397–412, 2008.
- JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of Fatty Acids or Calcium Soaps on Rumen and Total Nutrient Digestibility of Dairy Rations. *Journal of Dairy Science*, v. 67, n. 5, p. 978–986, 1984.

- JENKINS, T. C. Regulation of Lipid Metabolism in the Rumen. *The Journal of Nutrition*, v. 124, n. suppl_8, p. 1372S-1376S, 1994. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)>.
- JENSEN, R. G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, v. 85, n. 2, p. 295–350, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4)>.
- KHANAL, R. C.; DHIMAN, T. R. 2004.pdf. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 3, n. 2, p. 72–81, 2004.
- KLIEM, K. E.; HUMPHRIES, D. J.; REYNOLDS, C. K.; MORGAN, R.; GIVENS, D. I. Effect of oilseed type on milk fatty acid composition of individual cows, and also bulk tank milk fatty acid composition from commercial farms. *Animal*, v. 11, n. 2, p. 354–364, 2017.
- KOSLOSK, G.V. Metabolismo microbiano ruminal. In: EDITORAUFISM (Org.). . *BIOQUÍMICA DOS RUMINANTES*. 3. ed. Santa Maria: [s.n.], 2017. p. 9–99.
- KRAMER, J. K.G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E.R.; SAUER, F. D.; MOSSOBA, M. M.; YURAWECZ, M. P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids*, v. 32, n. 11, p. 1219–1228, 1997.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios da Bioquímica*. 4. ed. São Paulo: SARVIER, 2005.
- LOCK, Adam L.; GARNSWORTHY, P. C. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. *Livestock Production Science*, v. 79, n. 1, p. 47–59, 2003.
- LOOR, J. J.; UEDA, K.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of Trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 87, n. 8, p. 2472–2485, 2004. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73372-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73372-X)>.
- MACHADO, F. S.; PEREIRA, L. G. R.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; LOPES, F. C. F.; CHAVES, A. V.; CAMPOS, M. M.; MORENZ, M. J. Emissão de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação. [S.l: s.n.], 2011.
- MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Trends in mortality rate from cardiovascular disease in Brazil, 1980-2012. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 107, n. 1, p. 20–25, 2016.
- MARÍN, A. L. M.; HERNÁNDEZ, M. P.; ALBA, L. P.; CASTRO, G. G. Digestión de los lípidos em los rumiantes: Uma versión. *Interciencia*, v. 35, p. 1–7, 2010.

- McDONALD, P. M.; DWUARDES, R. A.; GREENHALG, J. F. D.; MORGAN, C. A. *Animal Nutrition*. Harlow: Pearson, 2002.
- MOURTHÉ, M. H.F.; REIS, R. B.; GAMA, M. A.S.; LOPES, F. C.F.; BARROS, P. A.V.; ANTONIASSI, R.; BIZZO, H. R. Milk fatty acid profile of holstein x gyr cows grazing on marandugrass supplemented with increasing levels of roasted soybeans. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, n. 4, p. 1150–1158, 2015.
- MUÑOZ, C.; SÁNCHEZ, R.; PERALTA, A. M.T.; ESPÍNDOLA, S.; YAN, T.; MORALES, R.; UNGERFELD, E. M. Effects of feeding unprocessed oilseeds on methane emission, nitrogen utilization efficiency and milk fatty acid profile of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 249, p. 18–30, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.015>>.
- MURPHY, M.; UDÉN, P.; PALMQUIST, D. L.; WIKTORSSON, H. Rumen and Total Diet Digestibilities in Lactating Cows Fed Diets Containing Full-Fat Rapeseed. *Journal of Dairy Science*, v. 70, n. 8, p. 1572–1582, 1987.
- MURTA, R. M.; VELOSO, C. M.; PIRES, A. J. V.; DA SILVA, F. F.; DE CARVALHO, G. G. P.; FILHO, A. E.; MARANHÃO, C. M. A.; DA CRUZ, C. H. Intake, apparent digestibility, production, and composition of milk from cows fed diets with different sources of lipids. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 45, n. 2, p. 56–62, 2016.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7. ed. Washington: The National Academies, 2001.
- OLIVEIRA, M.D.S.; CÁCERES, D.R. *Girassol na alimentação de bovinos*. Jaboticabal: FUNEP, 2005.
- PALMQUIST, D. L. Influence of Source and Amount of Dietary Fat on Digestibility in Lactating Cows. *Journal of Dairy Science*, v. 74, n. 4, p. 1354–1360, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78290-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78290-8)>.
- PALMQUIST, D. L.; DENISE BEAULIEU, A.; BARBANO, D. M. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *Journal of Dairy Science*, v. 76, n. 6, p. 1753–1771, 1993. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77508-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77508-6)>.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, Thomas C. Fat in lactation rations – review. *Journal of Dairy Science*, v. 63, p. 1–14, 1980.

- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G (Org.). . Nutrição de Ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 299–322.
- PALMQUIST, D. L.; WEISBJERG, M. R.; HVELPLUND, T. Ruminant, Intestinal, and Total Digestibilities of Nutrients in Cows Fed Diets High in Fat and Undegradable Protein. *Journal of Dairy Science*, v. 76, n. 5, p. 1353–1364, 1993. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77466-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77466-4)>.
- PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v. 40, n. 4, p. 283–298, 2001.
- PAULA, E. F. E.; MAIA, F. P.; CHEN, R. F. F. Óleos Vegetais Na Nutrição De Ruminantes. v. 9, p. 2075–2103, 2012. Disponível em: <www.nutritime.com.br>.
- PERFIELD, J. W.; LOCK, A. L.; GRINARI, J. M.; SÆBØ, A.; DELMONTE, P.; DWYER, D. A.; BAUMAN, D. E. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 5, p. 2211–2218, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2006-745>>.
- PETIT, H. V. Effects of dietary fat on reproduction. 2003, [S.l: s.n.], 2003. p. 35–47.
- RABIEE, A. R.; BREINHILD, K.; SCOTT, W.; GOLDBERGER, H. M.; BLOCK, E.; LEAN, I. J. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, v. 95, n. 6, p. 3225–3247, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4895>>.
- RAZZAGHI, A.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. A.; MESGARAN, M. DANESH; CARPENTER, A. J.; GHAFFARI, M. H. Effect of dietary sugar concentration and sunflower seed supplementation on lactation performance, ruminal fermentation, milk fatty acid profile, and blood metabolites of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 99, n. 5, p. 3539–3548,
- RENNÓ, F.P.; DE FREITAS JÚNIOR, J. E.; GRANDRA, J. F. R.; BARLETTA, R. V.; NAVES, A. B.; GAMEIRO, A. H.; VERDURICO, L. C. Grão de soja na alimentação de vacas leiteiras. In: SANTOS, M.V. et al. (Org.). *Desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal*. 5. ed. Pirassununga: [s.n.], 2009. p. 191–214.
- RICO, J. E.; DE SOUZA, J.; ALLEN, M. S.; LOCK, A. L. Nutrient digestibility and milk production responses to increasing levels of palmitic acid supplementation vary in cows receiving diets with or without whole cottonseed. *Journal of Animal Science*, v. 95, n. 1, p. 436–446, 2017.
- ROSSI, R. O Girassol. Curitiba: [s.n.], 1998.

- SALEHI, R.; AMBROSE, D. J.; OBA, M. Short communication: Effects of prepartum diets supplemented with rolled oilseeds on Brix values and fatty acid profile of colostrum. *Journal of Dairy Science*, v. 99, n. 5, p. 3598–3601, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10189>>.
- SAMADI, M. S.; CHASHNIDEL, Y.; DIRANDEH, E.; DELDAR, H. Effects of heat processing of soybeans and linseed on ruminal fatty acid biohydrogenation in situ. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, v. 8, n. 4, p. 583–589, 2018.
- SAN GIOVANNI, J. P.; PARRA-CABRERA, S.; COLDITZ, GR. A.; BERKEY, C. S.; DWYER, J. T. Meta-analysis of dietary essential fatty acids and long-chain polyunsaturated fatty acids as they relate to visual resolution acuity in healthy preterm infants. *Pediatrics*, v. 105, n. 6, p. 1292–1298, 2000.
- SEÇKIN, A. K.; GURSOY, O.; KINIK, O.; AKBULUT, N. Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. *LWT - Food Science and Technology*, v. 38, n. 8, p. 909–915, 2005.
- SHINGFIELD, K. J. CHILLIARD, Y.; TOIVONEN, V. Trans fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. In: BÖSZE, Z. (Org.). . *Bioactive components of milk*, *Advances in Experimental and Medical Biology*. [S.l: s.n.], 2008. .
- SHINGFIELD, K. J.; WALLACE, R. J. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: SELS, B.; PHILIPPAERTS, A. (Org.). . *Conjugated linoleic acids and conjugated vegetable oils*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2014. p. 1–64.
- SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; DE OLIVEIRA, R. B.; DE LEITE, O. S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 3, p. 571–576, 2006.
- SOLÓRZANO, L.A.R.; CARVALHO, R. F.; CASSIANO, E.C.O.; NOGUEIRA, R.G.S.; PERNA JUNIOR, F.; VÁSQUEZ, D.C.Z. Aditivos e fontes alimentares como estratégias de mitigação das emissões de metano entérico por bovinos. In: PERNA JUNIOR, F.; RODRIGUES, PAULO HENRIQUE MAZZA (Org.). . *Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal*. 1. ed. Pirassununga: 5D Editora, 2015. p. 358.
- SULLIVAN, H. M.; BERNARD, J. K.; AMOS, H. E. Ruminal fermentation and amino acid flow in holstein steers fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. *Journal of Dairy Science*, v. 88, n. 2, p. 690–697, 2005. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72733-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72733-8)>.
- VALADARES FILHO, S. C.; LOPES, S. A.; MACHADO, P. A. S.; CHIZZOTTI, M. L.; AMARAL, H. F.; MAGALHÃES, K. A.; JUNIOR, V. R. R.; CAPELLE, E. R. Tabelas

Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. Disponível em: <<http://www.cqbal.com.br/#/>>.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994.

VENTURELLI, B. C.; DE FREITAS JÚNIOR, J. E.; TAKIYA, C. S.; DE ARAÚJO, A. P.C.; SANTOS, M. C.B.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; VENDRAMINI, T. H.A.; RENNÓ, F. P. Total tract nutrient digestion and milk fatty acid profile of dairy cows fed diets containing different levels of whole raw soya beans. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 99, n. 6, p. 1149–1160, 2015.

WELD, K. A.; ARMENTANO, L. E. Feeding high oleic acid soybeans in place of conventional soybeans increases milk fat concentration. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 11, p. 9768–9776, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-14498>>.

ZANFERARI, F.; VENDRAMINI, T. H.A.; RENTAS, M. F.; GARDINAL, R.; CALOMENI, G. D.; MESQUITA, L. G.; TAKIYA, C. S.; RENNÓ, F. P. Effects of chitosan and whole raw soybeans on ruminal fermentation and bacterial populations, and milk fatty acid profile in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 12, p. 10939–10952, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-14675>>.

ARTIGO 1

Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite de vacas da raça Girolando recebendo diferentes fontes de lipídios na dieta

Yield, composition and profile of fatty acids in the milk of Girolando cows receiving different sources of dietary lipids

Redigido conforme normas da revista Food Chemistry

Resumo

A hipótese testada foi que diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados, provenientes de sementes de oleaginosas (girassol, soja e caroço de algodão), aumentam a quantidade de ácidos graxos insaturados no leite de vacas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir). Desta forma o objetivo foi avaliar os efeitos de diferentes fontes adicionais de lipídios para vacas em lactação sobre a produção e composição do leite de vacas Girolando. Foram utilizadas cinco vacas primíparas, em início de lactação (35 ± 8) dias com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg distribuídas aleatoriamente em um Quadrado Latino 5 x 5. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro dietas com diferentes fontes de lipídios: caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral ou óleo de soja, como fonte lipídica, para atingir o valor de extrato etéreo 70 g/kg. Amostras de leite foram coletas nas duas ordenhas dos dois últimos dias de cada período experimental. A utilização de caroço de algodão reduziu em 15% ($P=0,029$) a produção diária de leite. O rendimento do leite e a porcentagem de gordura foram reduzidos com a adição de óleo de soja à dieta em 22% ($P=0,037$) e 20% ($P=0,021$) respectivamente. As fontes de lipídios não causaram alterações significativas no perfil de ácidos graxos. O grão de soja integral proporcionou maior produção diária de leite e de ácidos graxos.

Palavras-chave: ácidos graxos, biohidrogenação, insaturados, oleaginosas, síntese *de novo*

Abstract

The hypothesis was that different sources of polyunsaturated fatty acids from oilseeds (sunflower, soybean and cottonseed) increase the amount of unsaturated fatty acids in the milk of Girolando cows (3/4 Holstein 1/4 Gir). Thus, the aim was to evaluate the effects of different additional sources of lipids for lactating cows on milk production and composition in Girolando cows. Five primiparous cows, in early lactation (35 ± 8) days with an average body weight of 410 ± 7.15 kg, were randomly distributed in a 5 x 5 Latin Square. The treatments consisted of five experimental diets, one standard diet without an additional source of lipid and four diets cottonseed, sunflower seed, whole soybean or soybean oil to reach as lipid sources 70 g Kg^{-1} ether extract. Milk samples were collected during morning and afternoon milking two days of each experimental period. Cottonseed reduced daily milk production by 15% ($P = 0.029$). Milk yield and fat percentage were reduced with the addition of soy oil to the diet by 22% ($P=0.037$) and 20% ($P=0.021$), respectively. Lipid sources did not cause significant changes in the fatty acid profile. The whole soybean led to the greatest milk yield and fat acids.

Key words: biohydrogenation, *de novo* synthesis, fatty acids, oilseeds, unsaturated

1 Introdução

A gordura do leite é composta de triacilgliceróis, constituídos por três ácidos graxos e uma molécula de glicerol. Esses ácidos graxos estão presentes, em sua maioria, na forma saturada, no entanto, existe grande variedade de ácidos graxos poli-insaturados e seus isômeros (Eifert et al., 2006). Nas últimas décadas pesquisas vem demonstrando os efeitos benéficos do consumo de ácidos graxos do leite à saúde humana. Haug et al. (2007) destacaram redução do colesterol sanguíneo com o consumo de ácido oleico e efeitos anticarcinogênicos do ácido linoleico conjugado. Redução no aparecimento de diabetes e doenças cardíacas estão associados ao maior consumo de ácido graxo palmitoléico (Mozaffarian, 2016). Ácidos graxos saturados também têm sido apontados como promotores de benefícios a saúde. Os ácidos

butírico e caprílico podem ter efeitos anticarcinogênicos (Thormar et al., 1994). Além disso, Forouhi et al. (2014) descreveram benefícios metabólicos à saúde humana com o consumo de ácidos capróico, láurico, pentadecílico, heptadecanóico, araquídico e lignocérico.

Alguns ácidos graxos como mirístico e palmítico demonstram efeitos hipercolesterolêmicos o que estimula pesquisas com foco na alteração da gordura do leite (Samková, Špička, Pešek, Pelikánová, & Hanuš, 2012). A busca pela melhor qualidade da gordura do leite ocorre em função de, na maioria dos países desenvolvidos, o leite ser a principal fonte de ácidos graxos para a saúde humana podendo representar cerca de 25% da gordura total ingerida (Chilliard, Ferlay, Mansbridge, & Doreau, 2000).

As características dos ácidos graxos do leite podem ser alteradas através de modificações no manejo alimentar, como mudanças no tipo de volumoso e na proporção deste na dieta, alterações no pH ruminal, balanço energético da dieta e alterações nas fontes de lipídios, seja fornecendo um maior teor de ácido graxos insaturados ou protegendo essa fonte da biohidrogenação ruminal (Chilliard et al., 2000).

Alterações no perfil de ácidos graxos do leite tem sido reportadas por autores utilizando diferentes fontes e lipídios na dieta de vacas em lactação (Bayat, Tapio, Vilkki, Shingfield, & Leskinen, 2018; Kliem, Humphries, Reynolds, Morgan, & Givens, 2017; Mourthé et al., 2015). No entanto, Palmquist & Mattos, 2011 afirmam que a suplementação com fontes de lipídio insaturados prontamente disponíveis causa efeitos deletérios sobre as bactérias metanogênicas e protozoários ruminais e também aumentam o processo de biohidrogenação, reduzindo o teor de ácidos graxos insaturados absorvidos no intestino. Cabiddu et al. (2017) relatam desvantagens na suplementação lipídica para ruminantes como redução da ingestão diária de matéria seca e digestibilidade da matéria seca total.

O uso de fontes de lipídios na forma protegida pode reduzir esses efeitos deletérios no rúmen. Os grãos de oleaginosas possuem proteção natural, e por isso podem ser inertes sobre

as bactérias ruminais, não interferindo nos processos de fermentação ruminal, em especial da fibra (Palmquist & Mattos, 2011). Diversas pesquisas, vêm demonstrando variados efeitos da adição de diferentes grãos de oleaginosas à dieta de vacas em lactação (de Araújo et al., 2018; Gandra et al., 2016; Muñoz et al., 2019; Rico, de Souza, Allen, & Lock, 2017). De acordo com a CONAB (2019) os grãos de oleaginosas, com uso para a produção animal, mais produzidos no Brasil são soja, algodão e girassol, o que justifica a utilização desses grãos como fontes de lipídios em nosso trabalho.

A hipótese foi que diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados provenientes de sementes de oleaginosas (girassol, soja e caroço de algodão) aumentem a quantidade de ácidos graxos insaturados no leite de vacas Girolando. Desta forma o objetivo com este estudo foi avaliar os efeitos de diferentes fontes adicionais de lipídios para vacas em lactação sobre a produção e composição do leite e dos ácidos graxos do leite de vacas Girolando.

2. Material e Métodos

Animais, delineamento experimental e tratamentos

O estudo foi realizado na Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco e foi aprovado pelo Comitê de Ética para o uso de animais em experimento (protocolo nº 011/2016). Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir), com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg (média de peso corporal; erro padrão médio) em início de lactação (35 \pm 8 média de dias pós-parto; erro padrão médio), distribuídas aleatoriamente em um Quadrado Latino 5 x 5. A alimentação foi fornecida para um consumo *ad libitum* na forma de ração total misturada (Tabela 1) e as vacas foram alojadas em baias individuais com acesso livre a água. As vacas foram tratadas com antiparasitário 30 dias antes do início do experimento e atestadas negativa para Mastite.

As dietas foram balanceadas a fim de atender as exigências nutricionais de vacas primíparas com produção média de 18 kg leite/dia, sendo isoprotéicas e isoenergéticas (NRC,

2001). Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro dietas com diferentes fontes de lipídios, caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja formuladas para atingir 70 g/kg de extrato etéreo (Tabela 1).

Tabela 1
Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS)

	Dietas				
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja
Ingredientes					
Silagem de Milho	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0
Milho Triturado	383,0	264,5	209,4	316,0	406,7
Farelo de Soja	167,0	42,9	97,6	-	101,3
Amireia – 20	20	20	20	20	20
Sal Mineral	30	30	30	30	30
Caroço de Algodão	-	242,6	-	-	-
Grão de Girassol	-	-	243,0	-	-
Grão de Soja integral	-	-	-	234,0	-
Óleo de Soja	-	-	-	-	42,0
Composição química					
MO	936	902	896	923	916
PB	180	180	180	180	180
EE	32	70	70	70	70
aFDN	305	401	362	332	290
FDA	231	292	279	234	210
Lignina	29,28	44,25	35,96	31,31	28,52
CHOT	724	652	646	673	666
CNF	419	251	284	341	376
NDT	759	612	723	731	736
Ácidos Graxos					
C14:0	0,02	0,31	0,02	0,02	0,01
C16:0	3,46	13,48	5,53	7,81	7,49
C16:1	0,03	0,2	0,02	0,1	0,02
C18:0	0,66	1,37	2,26	1,85	1,93
C18:1	7,79	12,67	19,92	16,12	16,28
C18:2	17,88	39,92	40,11	38,74	37,97
C18:3	0,98	0,66	0,75	3,68	0,79
C:20	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05
C20:1	0,04	0,04	0,04	0,05	2,53
C22	0,04	0,04	0,52	0,05	0,04
Outros	1,05	1,25	0,79	1,52	2,89

MO – Matéria Orgânica; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; aFDN – Fibra em Detergente Neutro testada com amilase; FDA - Fibra em Detergente Ácido; CHOT – Carboidratos Totais; CNF – Carboidratos não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

C14:0 – Ácido Mirístico; C16:0 – Ácido Palmítico; C16:1 – Ácido Palmitoleico; C18:0 – Ácido Estearico; C18:1 – Ácido Oleico; C18:2 – Ácido Linoleico; C18:3 – Ácido Linolênico; C:20 – Ácido Araquidônico; C20:1 – Ácido Gadoléico; C22 – Ácido Behênico.

Procedimentos Experimentais

O experimento teve duração de 126 dias sendo dividido em 6 períodos de 21 dias cada, conforme utilizado por (Gutierrez et al., 2019 e Verdon et al., 2018). Foram utilizados 5 períodos experimentais e um período de 21 dias de adaptação ao manejo e instalações recebendo como alimentação dieta contendo 40% de silagem de milho e 60% de concentrado. O fornecimento de alimento ocorreu duas vezes ao dia às 6 e 16 horas.

Foram realizadas duas ordenhas a cada dia, às 5:00 e 15:00 horas. A coleta do leite foi realizada em quatro ordenhas consecutivas nos dois últimos dias de cada período experimental. As amostras para determinação dos componentes do leite foram armazenadas a 4°C com Bronopol-B2 até o momento da análise e as amostras destinadas a determinação dos ácidos graxos foram armazenadas a -20°C. Para determinação do perfil de ácidos graxos as amostras foram congeladas sem conservante. A produção de leite foi determinada através da pesagem do leite nos últimos três dias de cada período experimental.

Análise dos componentes do leite

As amostras de leite foram analisadas no Laboratório Central do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa. Foram avaliados os teores de proteína, gordura, lactose e sólidos pelo método infravermelho (Internacional IDF Standart 141C; 2000). A contagem de células somáticas (CCS) foi realizada pelo método de citometria de fluxo (Internacional IDF Standart 148-2; 2006).

Para análise da composição de ácidos graxos do leite os lipídios foram esterificados segundo método de Hartman; Lago, (1973). Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por cromatógrafo a gás Thermo Finnigan, equipado com coluna capilar (Supelco, Sigma-Aldrich) de sílica fundida (100m de comprimento x 0,25mm diâmetro interno x 0,2 µm de espessura do

filme) e detector por ionização de chama (FID). A coluna foi aquecida a 35°C por 2 minutos aumentou-se 10°C por minuto até que temperatura de 150°C fosse alcançada, permanecendo por 2 minutos. Então, aumentou-se 2°C por minuto até atingir 200°C, permanecendo por 2 minutos e novamente aumentou-se 2°C por minuto até atingir 220°C, permanecendo por 21 minutos, totalizando a corrida em 73,5 minutos. O Nitrogênio foi usado como gás de arraste a 0,9 mL/min. O volume de amostra injetada (modo split) foi de 1 µL. A temperatura usada para o detector (FID) foi de 280°C. As injeções foram realizadas em triplicata. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação dos tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma-Aldrich).

Cálculos e Análise estatística

A produção de leite diária foi calculada através da soma da produção individual a cada ordenha nos três últimos dias de cada período experimental. A correção do leite para 4% de gordura foi realizada através da equação do (NRC, 2001), $LCG = 0,4 \times \text{Produção} + 15 \times \% \text{GOR}/100 \times \text{Produção}$. Onde: LCG = Leite corrigido para 4% de gordura em kg/d; Produção = produção de leite em kg/d; %GOR = porcentagem de gordura do leite.

A Ingestão Diária de Matéria Seca (IDMS) foi determinado pela diferença entre o nutriente fornecido e o nutriente da sobra das dietas (NRC, 2001).

Para análise estatística os dados foram processados utilizando o pacote Exp.Des.pt do software R (R Development Core Team, 2018). Foram realizados teste de Shapiro-Wilk para determinação da normalidade dos dados e teste de Bartlett para determinação da homogeneidade. Após atendidos os pressupostos foi realizada uma análise de variância em um Quadrado Latino 5 x 5. As médias foram analisadas pelos testes de Dunnett para comparação dos tratamentos com fonte de lipídios e o tratamento controle e teste de Tukey para comparação de todos. Para ambos foi utilizado 5% de significância de acordo com o modelo matemático $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$, onde: Y_{ijk} = valor da variável dependente; μ = média geral;

A_i = efeito da vaca; P_j = efeito do período; $T_k(i, j)$ = efeito do tratamento dentro de cada vaca e período; e_{ijk} = erro experimental.

3. Resultados

Consumo de nutrientes

Vacas submetidas a dieta com caroço de algodão apresentaram redução de aproximadamente 2 kg na IDMS em relação a dieta controle ($P=0,042$; Tabela 2). O consumo em porcentagem do peso corporal apresentou o mesmo comportamento, de maneira que quando as vacas receberam caroço de algodão como fonte de lipídio houve uma redução no consumo de 0,45% do PC ($P=0,029$). O efeito de redução no consumo causado pelo caroço de algodão também concorreu no consumo de MO com uma redução de cerca de 1,3 kg ($P=0,039$). O consumo de PB da dieta contendo grão de soja integral foi semelhante ao da dieta sem adição de lipídios, no entanto, se mostrou superior às demais fontes de lipídio utilizadas ($P=0,011$). Todas as dietas contendo fontes de lipídios resultaram em maior consumo de EE sendo que, vacas consumindo óleo de soja tiveram ingestão EE superior a dieta controle e com caroço de algodão ($P<0,001$).

Tabela 2

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da ingestão diária de nutrientes (kg dia⁻¹) de vacas Girolando recebendo dietas com diferentes fontes de lipídios

	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de soja Integral	Óleo de Soja	P
IDMS	13,95±0,43a	11,98±0,55b*	13,55±0,63ab	13,51±0,74ab	12,98±1,22ab	0,042
% PC	3,39±0,04a	2,94±0,12b*	3,26±0,02ab	3,21±0,13ab	3,13±1,10ab	0,029
g PM ⁻¹	152,7±1,36a	132,1±4,79b*	145,7±2,14a	145,6±5,50a	149,6±4,97a	0,003
IDMO	13,32±0,05a	11,01±0,09b*	12,78±0,09ab	12,85±0,16ab	12,11±0,21ab	0,039
IDPB	1,96±0,02ab	1,79±0,06b	1,92±0,07b	2,39±0,04a	1,85±0,08b	0,011
IDEE	0,46±0,19c	0,72±0,27b*	0,86±0,26ab*	0,77±0,28ab*	0,93±0,39a*	<0,001
IDFDN	5,61±0,12ab	5,75±0,18ab	6,26±0,17a	5,96±0,18ab	5,29±0,22b	0,009
IDFDA	3,40±0,35bc	3,89±0,42a*	4,06±0,44a*	3,78±0,50ab	3,21±0,84c	<0,001
IDCHOT	10,90±0,35a	8,50±0,40b*	10,00±0,44ab	9,69±0,50ab	9,33±0,84ab	0,005
IDCNF	5,29±0,04a	3,17±0,12b*	3,74±0,15b*	3,73±0,13b*	4,04±0,25b*	<0,001
NDT	10,59±0,35a	7,36±0,50b*	9,82±0,56ab	9,90±0,65a	10,11±1,14a	0,012

Médias com letras diferentes na coluna indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

IDMS – ingestão Diária de Matéria Seca; %PC – Consumo em porcentagem do Peso Corporal; g PM-1 – gramas por Kg de PC^{0,75}; IDMO – Ingestão Diária de Matéria Orgânica; IDPB – Ingestão Diária de Proteína Bruta; IDEE - Ingestão Diária de Extrato Etéreo; IDFDN - Ingestão Diária de FDN; IDFDA - Ingestão Diária de FDA; IDCHOT - Ingestão Diária de Carboidratos Totais; IDCNF - Ingestão Diária de Carboidratos Não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais (kg/dia)

Vacas consumindo dieta com caroço de algodão apresentaram ingestão diária de FDN superior a dieta com óleo de soja (P=0,009) as demais dietas foram semelhantes. Houve maior consumo de FDA em vacas alimentadas com dietas contendo caroço de algodão e grão de girassol, ambas apresentaram valores semelhantes à dieta contendo grão de soja, mas foram superiores às dietas com óleo de soja e controle (P<0,001). A dieta contendo caroço de algodão reduziu a ingestão diária de CHOT em aproximadamente 2,4 kg quando comparada a dieta controle (P=0,017). O consumo de CNF foi inferior em todas as dietas contendo fontes adicionais de lipídios (P<0,001).

Produção e composição do leite

Vacas consumindo dieta com grão de soja integral apresentaram maior produção diária de leite que as vacas que consumiram caroço de algodão (P=0,029; Tabela 3). A produção de leite corrigido para 4% de gordura foi maior nas vacas consumindo grão de soja integral em comparação com as vacas que consumiram óleo de soja (P=0,037). O teor de gordura do leite

das vacas que receberam óleo de soja foi inferior que ao das vacas consumindo as demais dietas contendo fontes de lipídios ($P=0,021$), mas similar a dieta controle.

Tabela 3

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção (kg/dia) e composição (g/kg) do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de soja Integral	Óleo de Soja	
PL	13.3±0,37ab	11.4±1,21b	13.4±0,45ab	14.6±0,10a	11.5±0,27ab	0.029
PLG	10.3±0,92ab	9.0±1,07ab	10.7±0,79ab	11.9±0,38a	8.0±0,45b	0.037
Gordura	24,6±3,7ab	26,3±1,9a	26,5±3,1a	27,6±1,7a	19,6±2,6b	0.021
Proteína	32,4±1,2	31,1±1,4	33,5±1,7	31,2±1,5	30,2±1,3	0.104
Lactose	47,0±0,5	45,3±1,9	46,4±0,8	47,9±0,5	47,2±0,4	0.501
ST	11.4±0,045ab	11.3±0,40ab	11.7±0,33ab	11.7±0,33a	10.7±0,28b	0.036

Médias com letras diferentes na coluna indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

PL – Produção de Leite (kg/dia); PLG - produção de leite corrigida para 4% de gordura (kg/dia); ST – Sólidos Totais; CCS (x1000/ml)

Perfil e produção de ácidos graxos do leite

A porcentagem de Ácido Caprótico C6 foi reduzida no leite de vacas consumindo caroço de algodão ($P=0,015$; Tabela 4). O fornecimento de caroço de algodão, grão de girassol e óleo de soja aumentou a porcentagem de Ácido Láurico C12 na gordura do leite ($P<0,001$) e também de Ácido Mirístico C14 ($P=0,001$). O Ácido Pentadenóico C15 teve maior porcentagem no leite proveniente de vacas consumindo caroço de algodão e grãos de girassol ($P<0,001$). Houve redução na porcentagem de Ácido Palmítico no leite de vacas consumindo caroço de algodão ($P=0,012$). A dieta contendo caroço de algodão aumentou o teor de Ácido Heptadenóico C17 em relação a dieta contendo grão de soja integral, no entanto as dietas com fontes e lipídios não foram capazes de alterar a porcentagem desse ácido graxo em relação a dieta controle ($P=0,024$).

Ocorreu redução na porcentagem de Ácido Esteárico C18 no leite vacas que consumiram dietas com caroço de algodão, grão de girassol e óleo de soja ($P<0,001$). As fontes de lipídios

não foram capazes de alterar a porcentagem de Ácido Oleico cis-9 C18:1 em relação a dieta controle, no entanto, a dieta contendo grão de soja integral apresentou menor porcentagem que a dieta contendo caroço de algodão ($P=0,047$). A dieta contendo grão de girassol reduziu a porcentagem de Ácido Linoleico cis-9, trans-11 C18:2 na gordura do leite, em relação a dieta controle e com caroço de algodão ($P=0,002$). A porcentagem de Ácido Linolênico C18:3 ω 3 foi reduzida no leite das vacas que consumiram caroço de algodão ($P=0,040$). As dietas com caroço de algodão e grão de girassol apresentaram maior porcentagem de Ácido Behênico C22 que as dietas controle e com grão de soja integral ($P=0,021$). A maior porcentagem de Ácido Lignocérico C24 foi observado nas dietas com caroço de algodão, óleo de soja e grão de soja integral como fonte de lipídio ($P<0,001$).

Foi observada uma tendência ($P=0,068$) de redução na porcentagem de ácidos graxos saturados na dieta contendo caroço de algodão. Essa mesma dieta apresentou tendência ($P=0,070$) de aumento na porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados, no entanto, a porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados não sofreu alteração com a adição de fontes de lipídios ($P=0,157$). A tendência de redução da porcentagem de ácidos graxos saturados na dieta contendo caroço de algodão resultou numa tendência a menor relação saturados:insaturados para leite proveniente de vacas consumindo essa dieta ($P=0,070$). Embora tenha havido algumas alterações nas porcentagens de ácidos graxos com a inclusão de fontes de lipídios na dieta, a porcentagem de ácidos graxos de acordo com o tamanho de suas cadeias de carbono não foi alterada ($P>0,05$).

Tabela 4

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da porcentagem de cada ácido graxo dentro da gordura total do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.

	Dieta					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de soja Integral	Óleo de Soja	
C4:0	1,6±0,00	1,6±0,01	1,6±0,01	1,58±0,01	1,6±0,02	0,111
C6:0	1,7±0,00a	1,7±0,02b*	1,7±0,01ab	1,71±0,00a	1,7±0,01ab	0,015
C8:0	2,9±0,04	2,9±0,02	2,9±0,05	3,0±0,01	3,0±0,04	0,140
C10:0	6,6±0,06	6,8±0,03	6,6±0,23	6,6±0,00	6,6±0,01	0,682
C12:0	4,2±0,00c	4,2±0,01b*	4,3±0,00a*	4,2±0,02bc	4,3±0,01a*	<0,001
C14:0	10,0±0,05b	11,0±0,03a*	10,7±0,22ab	10,2±0,03b	10,7±0,22ab	0,001
C14:1	0,1±0,00	0,1±0,00	0,1±0,00	0,1±0,00	0,1±0,00	0,084
C15:0	1,4±0,00c	1,5±0,00a*	1,5±0,01b*	1,4±0,00c	1,4±0,02c	<0,001
C15:1	0,2±0,00	0,2±0,01	0,2±0,00	0,2±0,00	0,2±0,00	0,288
C16:0	28,7±0,21a	26,9±0,60b*	28,9±0,43a	29,1±0,06a	28,5±0,46ab	0,012
C16:1	1,0±0,01	1,0±0,02	1,0±0,00	1,0±0,02	1,0±0,00	0,446
C17:0	0,7±0,01ab	0,2±0,00a	0,2±0,00ab	0,2±0,00b	0,2±0,00ab	0,024
C17:1	0,5±0,03	0,4±0,02	0,4±0,01	0,5±0,00	0,5±0,01	0,163
C18:0	14,6±0,01a	14,3±0,03bc*	14,2±0,08c*	14,4±0,06ab	14,3±0,06c*	<0,001
<i>trans</i> -11 C18:1	7,2±0,12	7,3±0,13	7,0±0,07	7,0±0,02	7,0±0,05	0,138
<i>cis</i> -9 C18:1	13,2±0,14ab	13,7±0,24a	13,0±0,08ab	13,0±0,02b	13,1±0,20ab	0,047
C18:2 ω6	1,60±0,00	1,95±0,25	1,66±0,02	1,58±0,00	1,62±0,00	0,195
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 C18:2	0,9±0,00a	0,9±0,00a	0,8±0,00b*	0,9±0,00ab	0,9±0,01ab	0,002
C18:3 ω3	1,6±0,00a	1,6±0,02b*	1,6±0,02ab	1,6±0,02ab	1,6±0,00ab	0,040
C20:0	0,9±0,01	0,9±0,03	0,9±0,02	0,9±0,02	1,0±0,02	0,215
C22:0	0,8±0,00b	0,9±0,00a*	0,9±0,00a*	0,8±0,02b	0,9±0,01ab	0,021
C24:0	0,2±0,01bc	0,2±0,01ab*	0,2±0,00c	0,2±0,00a*	0,2±0,01ab*	<0,001
Saturados	73,0±0,24	72,1±0,59	73,6±0,27	73,47±0,02	73,3±0,26	0,068
Monoinsaturados	21,5±0,26	22,3±0,39	21,2±0,15	21,1±0,03	21,3±0,25	0,074
Poli-insaturados	5,4±0,03	5,7±0,20	5,2±0,21	5,4±0,01	5,5±0,01	0,157
Relação Sat:Insat	2,7±0,03	2,6±0,07	2,8±0,04	2,8±0,00	2,7±0,04	0,070
Cadeia Curta	3,3±0,00	3,2±0,02	3,2±0,02	3,3±0,01	3,3±0,01	0,140
Cadeia Média	13,7±0,02	13,8±0,04	13,8±0,21	13,8±0,02	13,8±0,05	0,920
Cadeia Longa	83,0±0,02	83,0±0,04	83,0±0,23	83,0±0,02	83,0±0,05	0,998
Σ C4 – C16	58,6±0,15a	56,8±0,50b*	59,0±0,09a	59,0±0,05a	58,8±0,16a	<0,001
Σ C17 – C24	41,5±0,15b	43,2±0,50a*	41,1±0,09b	41,1±0,05b	41,2±0,16b	<0,001

Médias com letras diferentes na coluna indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

C4:0 – Ácido Butírico; C6:0 – Ácido Capróico; C8:0 – Ácido Caprílico; C10:0 – Ácido Cáprico; C12:0 – Ácido Láurico; C14:0 – Ácido Mirístico; C14:1 – Ácido Miristoléico; C15:0 – Ácido Pentadecílico; C15:1 – Ácido Pentadecenóico; C16:0 – Ácido Palmítico; C16:1 – Ácido Palmitoléico; C17:0 – Ácido Heptadecanóico; C17:1 – Ácido *cis*-10-Heptadecanóico; C18:0 – Ácido Esteárico; *trans*-11 C18:1 – Ácido Vacênico; *cis*-9 C18:1 – Ácido Oléico; C18:2 ω6 – Ácido Linoléico; *Cis*-9, *trans*-11 C18:2 – Ácido Linoléico Conjugado; C18:3 ω3 – Ácido Alfa Linoléico; C20:0 – Ácido Araquídico; C22:0 – Ácido Behênico; C24:0 – Ácido Lignocérico

Sat:Insat = relação entre a porcentagem de ácidos graxos saturados e insaturados

Σ C4 – C16 = somatória das porcentagens e ácidos graxos com cadeias de 4 a 16 carbonos

Σ C17 – C24 = somatória das porcentagens e ácidos graxos com cadeias de 17 a 24 carbonos

O somatório da porcentagem dos ácidos graxos de 4 a 16 carbonos, provenientes da

Síntese de Novo, foi menor na dieta contendo caroço de algodão (P<0,001) em contrapartida

essa dieta apresentou maior somatória da porcentagem de ácidos graxos com cadeia maiores que 16 carbonos ($P < 0,001$).

A dieta contendo grão de soja integral aumentou a quantidade em g/kg de leite dos ácidos graxos de cadeia curta quando comparada a dieta contendo óleo de soja ($P = 0,024$; Tabela 5). Os ácidos graxos de cadeia média tiveram maior produção em g/kg de leite em vacas consumindo grão de soja integral e grão de girassol ($P = 0,018$) que em vacas consumindo dieta com óleo de soja. A dieta contendo óleo de soja reduziu a quantidade de ácidos graxos de cadeia longa em g/kg quando comparada as dietas com grão de girassol e grão de soja integral ($P = 0,021$).

Tabela 5

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção em g/kg de leite dos ácidos graxos de acordo com o tamanho da cadeia e o grau de saturação do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios.

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
Cadeia curta	0,81±0,09ab	0,82±0,02ab	0,86±0,02ab	0,91±0,06a	0,64±0,02b	0,026
Cadeira média	3,37±0,38ab	3,52±0,05ab	3,66±0,10a	3,80±0,24a	2,69±0,08b	0,018
Cadeia longa	20,39±2,30ab	21,11±0,3ab	22,02±0,63a	22,88±1,44a	16,25±0,53b	0,021
Saturados	17,96±2,02ab	18,35±0,38ab	19,51±0,50a	20,27±1,28a	14,35±0,49b	0,021
AGMI	5,29±0,61ab	5,66±0,07a	5,63±0,18a	5,83±0,37a	4,16±0,11b	0,020
AGPI	1,33±0,15ab	1,44±0,04ab	1,39±0,08ab	1,49±0,09a	1,07±0,03b	0,040

Médias com letras diferentes na linha indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

AGMI – ácido Graxo Monoinsaturado

AGPI – Ácido Graxo Poli-insaturado

Os ácidos graxos saturados foram produzidos em maiores quantidades por vacas consumindo grão de soja integral e grão de girassol, já a dieta contendo óleo de soja resultou em menor produção dos mesmos ($P = 0,021$). Vacas que receberam dietas contendo grãos de soja integral e de girassol apresentaram maior produção de ácidos graxos mono insaturados que as vacas que receberam óleo de soja ($P = 0,020$). As dietas com grãos de girassol e soja integral

apresentaram maior produção de ácidos graxos poli-insaturados, os menores valores dessa produção foram observados em dietas contendo óleo de soja ($P=0,040$).

4. Discussão

Consumo de nutrientes

A redução da IDMS, IDMO e IDMS %PC ocorreu somente na dieta contendo caroço de algodão. Desta forma podemos inferir que a redução no consumo não está ligada ao teor de EE das dietas. Existem diversas teorias para explicar alterações no consumo de vacas em lactação. Segundo NRC (2001) há uma discussão onde se busca entender se a produção de leite é regulada pelo IDMS ou a IDMS é uma resposta à produção de leite. Para Mertens (1987) o consumo diário é influenciado pela produção de leite, os animais consomem devido a sua exigência de energia.

A teoria da regulação de consumo pela FDN talvez possa explicar o ocorrido, pois o menor IDMS, IDMO e IDMS %PC foi observado na dieta que obteve maior teor de FDN e FDA e menor teor de CNF fornecidos. A FDN é a fração de lenta degradação ou indegradável dos alimentos, permanecendo por mais tempo no rúmen. E em razão disto, pesquisas mais antigas utilizam essa fração fibrosa como preditor do IDMS (Mertens, 1987; Van Soest, 1994). Rayburn e Fox (1993) afirmaram que a predição de IDMS foi mais precisa quando a FDN foi utilizada em uma equação junto com a produção de leite, produção de leite corrigida e os dias em lactação. A teoria da regulação pela produção de leite parece estar mais associada a IDMS desse estudo. A dieta contendo caroço de algodão apresentou maior teor de FDN mas não apresentou o maior consumo para esse nutriente, em contrapartida, essa dieta resultou em menor produção diária de leite.

A alteração no consumo foi semelhante a reportada por De Almeida et al. (2017) em trabalho utilizando dietas contendo 50% de silagem de milho e 35% de concentrado a base de farelo de soja e milho moído e 12% de grãos de soja integral ou caroço de algodão. Esses autores

reportam uma redução consumo nas vacas em lactação que receberam caroço de algodão comparada as vacas que consumiram dieta controle, que não receberam grãos.

Nogueira, et al. (2019) utilizando 30% de caroço de algodão na dieta pra vacas Holandesas e Muñoz et al. (2019) fornecendo aproximadamente 20% de caroço de algodão, não observaram mudanças no consumo comparando com a dieta sem adição de caroço de algodão.

O consumo de PB parece estar associado ao consumo de MS, visto que as dietas que apresentaram maior consumo de MS também apresentaram maior consumo de PB. As dietas foram balanceadas isoprotéicas e conseqüentemente o consumo de PB está correlacionado a quantidade de MS ingerida.

Todas as dietas com fontes adicionais de lipídios apresentaram consumo de EE superiores que a dieta controle. O maior consumo ocorreu na dieta com óleo de soja o que parece estar associado a melhor homogeneização do lipídio na ração total em função da forma líquida do óleo, reduzindo o efeito de seleção dos alimentos pelos animais. Esse acréscimo pode estar associado ao maior teor de lipídio dessa dieta em comparação com a dieta controle. O menor consumo de EE entre as dietas com fontes de lipídio foi observado nas vacas recebendo caroço de algodão, como as dietas com fontes de lipídios tiveram o mesmo teor de EE essa redução pode estar associada ao menor consumo de MS. Em estudo utilizando 2,68% de óleo de soja ou 14,3% de grão de soja integral como fonte adicional de lipídios, em dietas a base de silagem de milho e concentrado, Freitas et al. (2018) relatam um maior consumo de EE nas vacas recebendo dietas com fonte adicional de lipídio mesmo havendo redução no consumo de MS demonstrando o efeito do maior teor de EE na dieta.

O consumo de aFDN foi semelhante entre as dietas com e sem adição de lipídios. Vacas recebendo grãos de girassol consumiram mais aFDN que as vacas que receberam óleo de soja. Embora o consumo de MS dessas dietas tenha sido semelhante, a dieta contendo grãos de

girassol apresentou FDN 70 g/kg superior à dieta contendo óleo de soja. A inclusão de caroço de algodão e grão de girassol à dieta proporcionou maior consumo de FDA que a dieta controle e também que a dieta contendo óleo de soja. Isso se deve ao maior teor de lignina, fração constituinte da FDA, nas dietas contendo caroço de algodão e grão de girassol. Diversos autores reportam aumento da ingestão das frações fibrosas com a inclusão de grãos de girassol e caroço de algodão na dieta de ruminantes e atribuem isso ao alto teor de fibra desses grãos (Murta et al., 2016; Nogueira et al., 2019).

O consumo de CNF foi reduzido em todas as dietas com fontes de lipídios em função da maior participação da fibra nesses grãos. Cabiddu et al. (2017) relatam redução no consumo de CNF em animais recebendo grãos oleaginosas na dieta em comparação com animais que receberam apenas volumoso e concentrado e atribuem esse efeito a possível redução da digestibilidade da dieta causada pelo aumento do teor de lipídio e conseqüentemente a redução consumo. A redução da ingestão de CNF pode estar relacionada a menor quantidade de concentrado nas dietas com fontes de lipídios, principalmente dietas com grãos, e também a um possível efeito do teor de lipídio na digestão já que houve pequena redução na ingestão de MS dos animais consumindo óleo de soja.

Produção e composição do leite

A produção de leite média desse experimento foi de 12,82 kg/dia, ficando abaixo da esperada pela formulação da dieta 18 kg/dia. No entanto, a produção está dentro da média esperada para vacas Girolando primíparas, aproximadamente 11 kg/dia (Canaza-Cayo, Lopes, Cobuci, Martins, & Silva, 2018). De acordo com o NRC (2001), fatores como dieta basal, estágio de lactação, balanço energético, tipo de fonte de lipídio e nível de inclusão dessas fontes na dieta podem influenciar a resposta da suplementação lipídica sobre a produção de leite.

A dieta contendo óleo de soja demonstrou menor rendimento do leite em consequência do também menor teor de gordura que a dieta contendo grão de soja integral. Rabiee et al. (2012) reportaram que os efeitos da adição de lipídios sobre o teor de gordura do leite é bastante variado podendo, em muitos casos, aumentar ou reduzir a gordura do leite, e dependem da fonte de lipídio utilizada, da saturação dos lipídios fornecidos, da dieta basal fornecida e do tipo de processamento dessas fontes de lipídios.

As possíveis causas da redução do teor de gordura e consequentemente do rendimento do leite, de vacas consumindo óleo de soja como fonte de lipídio, podem ser a menor quantidade de FDN na dieta contendo óleo de soja ou o fato dos lipídios fornecidos na forma de óleo não estarem protegidos, podendo sofrer ação dos microrganismos ruminais e realizar o recobrimento da fibra reduzindo a digestibilidade da mesma. De acordo com Jenkins (1994), os lipídios podem causar um revestimento nas partículas do alimento inibindo a digestão da celulose. Essa cobertura causa efeito prejudicial por inibirem o contato das bactérias ou suas enzimas com as partículas de fibra.

A digestão da fibra no rúmen produz acetato e suas quantidades são menores em dietas onde o FDN é mais baixo. Bauman e Griinari (2003) afirmam que a redução do acetato e butirato no rúmen causam redução no teor de gordura do leite. Esses AGV são produzidos na fermentação ruminal e transportados até a glândula mamária pela corrente sanguínea, onde são absorvidos como precursores na *síntese de novo* onde cerca de 17% a 45% da gordura do leite tem origem no acetato e 8% a 25% no butirato (Santos e Fonseca, 2007).

Outra possível causa da redução da gordura do leite na dieta contendo óleo de soja está baseada no maior conteúdo de ácidos graxos linoleico passível de sofrer biohidrogenação e isomeração no rúmen que essa dieta apresenta. Embora não tenha o maior teor de ácido linoleico, o fato de não estar protegido na forma de grão pode favorecer a ação dos microrganismos ruminais. Os lipídios são liberados no rúmen a medida que ocorre o processo

de fermentação dos componentes da dieta, sendo que, grande parte sofrerá ação de microrganismos ruminais em processo sequencial de hidrólise ou lipólise e posterior biohidrogenação (Ferro, Moura, e Geron, 2014).

A isomerização ocorre através de modificações da conformação geométrica do ácido graxo, passando de *cis* para *trans* e realizando mudanças em algumas posições e duplas ligações (Hoffmann et al., 2015). Bauman e Griinari (2003) afirmam que em dietas com baixo teor de fibra, como observado na a dieta contendo óleo de soja, reduzem o pH ruminal e com isso ocorre modificação na rota de biohidrogenação do ácido linoleico passando a produzir um ácido específico *trans*-10 *cis*-12. Esse ácido possui efeito na síntese de gordura na glândula mamária, atuando na redução das enzimas lipogênicas Acetil-CoA Carboxilase e Sintetase de Ácido Graxo (Baumgard et al., 2002; Piperova et al., 2000). A principal redução ocorre nos ácidos graxos oriundos da *síntese de novo*, mas também pode haver redução em função do efeito deste isômero sobre a enzima Δ^9 -dessaturase, causando redução ainda maior na gordura do leite (Loor & Herbein, 2003; Shingfield, Bernard, Leroux, & Chilliard, 2010).

Mahdavi et al. (2019) em uma meta-análise dos efeitos da utilização de óleo e soja como fonte de lipídio em dietas para vacas em lactação detectaram uma constante redução no teor de gordura do leite. Essa redução também foi comprovada por Freitas et al. (2018) que forneceram óleo de soja, grão de soja integral e sais de cálcio para vacas em lactação e reportaram uma tendência a redução do teor de gordura do leite de vacas suplementadas com óleo de soja.

Por se tratar de um dos principais componentes dos sólidos do leite a redução do teor de gordura na dieta com óleo de soja resultou também na redução dos sólidos totais do leite. Redução de sólidos totais do leite também foram reportados por (Murta et al., 2016), utilizando óleo de soja na dieta para vacas em lactação, e (Oliveira et al., 2007) em estudo testando altos e baixos níveis de concentrado e lipídio, esses autores reportam que a adição de lipídios reduz a gordura do leite e conseqüentemente os sólidos totais.

Perfil e produção de ácidos graxos do leite

Embora tenha ocorrido alteração nas porcentagens de alguns ácidos graxos de cadeias curta, média e longa, é possível observar que o somatório geral para cada tamanho de cadeia não foi afetado pela dieta ofertada. No entanto, quando se observa a porcentagem de ácidos graxos oriundos da *síntese de novo* é possível verificar a redução que ocorreu na dieta contendo caroço de algodão.

A teoria dos ácidos graxos intermediários da biohidrogenação parece ser a que melhor explica os resultados, já que, o leite das vacas consumindo caroço de algodão apresentou menor proporção de ácidos graxos provenientes da síntese de novo e também maior concentração de ácidos graxos oleico e linoleico, no entanto foi observado menor teor de linolênico. Griinari et al., 1998 afirmam que a suplementação com ácidos graxos poli-insaturados em dietas com baixo teor de volumoso reduz a *síntese de novo* em vacas em lactação.

A redução do teor de ácidos graxos provenientes da *síntese de novo* também foi observada por (Rico et al., 2017) utilizando 16,7% de caroço de algodão na dieta. Assim como em nosso estudo essa redução está associada a maior proporção de ácidos oleico e linoleico demonstrando o efeito deletério desses ácidos graxos sobre a *síntese de novo*. Costa et al., 2018 reportaram redução linear dos ácidos graxos oriundos da *síntese de novo* em experimento testando níveis de inclusão de 0% a 24% de caroço de algodão na dieta, no entanto, ao contrário do ocorrido em nosso estudo, não houve aumento na proporção de ácido oleico e linoleico.

As alterações nas porcentagens de ácidos graxos esteárico, oleico, linoleico e linolênico foram variadas de acordo com a fonte de lipídio utilizada. Nenhuma fonte de lipídio utilizada foi capaz de aumentar a porcentagem de todos esses ácidos graxos no leite demonstrando que existe diferença na biohidrogenação do lipídio de cada uma delas. Para Rabiee et al., 2012 a extensão da biohidrogenação de diferentes fontes e lipídios é bastante heterogênea. Embora a biohidrogenação possa ser alta, chegando a 90%, características da fonte de lipídio, tempo de

retenção dessa fonte no rúmen e características da população microbiana ruminal podem interferir na quantidade de lipídio a ser biohidrogenada.

Nenhuma fonte de lipídio foi capaz de aumentar de maneira significativa o teor de ácidos graxos com 18 carbonos no leite. Mesmo a fonte de lipídio sem proteção (óleo de soja) não causou alterações no perfil desses ácidos graxos comparada a dieta controle. Houve pouca alteração na porcentagem de ácidos graxos com 18 carbonos entre as fontes de lipídios, no entanto sem que a quantidade fosse maior que a dieta controle. As fontes de lipídios utilizadas parecem não terem sofrido biohidrogenação ruminal, ou que essa biohidrogenação ocorreu em pequena quantidade.

A dieta contendo caroço de algodão apresentou tendência a reduzir o teor de ácidos graxos saturados no leite e aumentar a porcentagem de ácidos graxos de cadeias com mais de 17 carbonos. A redução no teor de gordura saturada pode estar associada a redução da síntese *de novo* onde ocorre a formação da maior parte dos ácidos graxos saturados do leite. Esse aumento na porcentagem de ácidos graxos do somatório de 17 a 24 carbonos demonstra maior utilização dos ácidos graxos livres, de cadeias maiores, absorvidos no intestino. (de Souza, Preseault, & Lock, 2018) reportaram aumento de 8% nos ácidos graxos pré-formados (com mais de 16 carbonos) no leite de vacas consumindo 8,6% de caroço de algodão na dieta, quando comparadas as vacas consumindo dieta controle. Esse aumento foi maior que o observado em nosso experimento (4,17%) possivelmente em função das diferenças no teor de caroço de algodão na dieta, proporção volumoso:concentrado e características das vacas.

As quantidades em gramas por kg de leite dos ácidos graxos não foram alteradas pela inclusão de fontes de lipídios na dieta. As dietas com inclusão de fontes de lipídios não diferiram da dieta controle, o que ocorreu foi a redução nas quantidades na dieta contendo óleo de soja em relação a dieta contendo grão de soja integral e grão de girassol na maioria das vezes.

Essa alteração está associada a redução no teor de gordura do leite apresentado pela dieta com óleo de soja.

5. Conclusão

Dentre as fontes de ácidos graxos poli-insaturados utilizadas é recomendado o uso de grãos de soja integral na dieta de vacas em lactação, pois, embora não tenha alterado a porcentagem de ácidos graxos saturados e insaturados do leite esse grão proporcionou maior produção em kg/dia desses ácidos graxos sem alterar consumo e produção do leite.

Referencias

- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003a). Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23(1), 203–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003b). Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23(1), 203–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>
- Baumgard, L. H., Matitashvili, E., Corl, B. A., Dwyer, D. A., & Bauman, D. E. (2002). Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(9), 2155–2163. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74294-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74294-X)
- Bayat, A. R., Tapio, I., Vilkki, J., Shingfield, K. J., & Leskinen, H. (2018). Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1136–1151. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13545>
- Beam, T. M., Jenkins, T. C., Moate, P. J., Kohn, R. A., & Palmquist, D. L. (2000). Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *Journal of Dairy Science*, 83(11), 2564–2573. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75149-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75149-6)
- Cabiddu, A., Addis, M., Fiori, M., Spada, S., Decandia, M., & Molle, G. (2017). Pros and cons of the supplementation with oilseed enriched concentrates on milk fatty acid profile of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research*, 147, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.11.019>
- Canaza-Cayo, A. W., Lopes, P. S., Cobuci, J. A., Martins, M. F., & Silva, M. V. G. B. da. (2018). Genetic parameters of milk production and reproduction traits of Girolando cattle in Brazil. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1), 22–30. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1335180>
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R. M., & Doreau, M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty

- acids. *Animal Research*, 49(3), 181–205. <https://doi.org/10.1051/animres:2000117>
- CONAB. (2019). Acompanhamento da Safra Brasileira. *Companhia Nacional de Abastecimento*, 6(9), 1–113. Retrieved from <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>
- Costa, E. N., Ferrão, S. P. B., Silva, R. R., Porto, A. F., Damásio, J. M. A., Santiago, B. M., ... Da Silva, F. F. (2018). Fatty acid profile and milk cholesterol of crossbred holstein × zebu cows fed on whole cottonseed. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(8), 1770–1775. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180053>
- De Almeida, G. F., Del Valle, T. A., De Paiva, P. G., De Jesus, E. F., Barletta, R. V., Gandra, J. R., ... Rennó, F. P. (2017). Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. *Animal Production Science*, 57(1), 122–128. <https://doi.org/10.1071/AN15266>
- de Araújo, C. E., Gandra, J. R., Barlett, R. V., Mingoti, R. D., Bettero, R. V., de Jesus, E. F., ... Rennó, F. P. (2018). Dietary calcium salts of fatty acids and soybean oil effects on mid-lactation dairy cows performance. *Archivos de Zootecnia*, 67(257), 119–125.
- de Souza, J., Preseault, C. L., & Lock, A. L. (2018). Altering the ratio of dietary palmitic, stearic, and oleic acids in diets with or without whole cottonseed affects nutrient digestibility, energy partitioning, and production responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 172–185. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13460>
- Eifert, E. D. C., Lana, R. D. P., Lanna, D. P. D., Teixeira, R. M. A., Arcuri, P. B., Leão, M. I., ... Valadares Filho, S. D. C. (2006). Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoléico conjugado no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(4 SUPPL.), 1829–1837. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000600034>
- Ferro, M. M., Moura, D. C. de, & Geron, L. J. V. (2014). Revisão Bibliográfica Compostos Secundários Em Co-Produtos Agroindustriais. *Revista de Ciências Agroambientais*, 12(1), 87–100.
- Forouhi, N. G., Koulman, A., Sharp, S. J., Imamura, F., Kröger, J., Schulze, M. B., ... Wareham, N. J. (2014). Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: The EPIC-InterAct case-cohort study. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 2(10), 810–818. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70146-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70146-9)
- Freitas, J. E., Takiya, C. S., Del Valle, T. A., Barletta, R. V., Venturelli, B. C., Vendramini, T. H. A., ... Rennó, F. P. (2018). Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 101(9), 7881–7891. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13666>
- Freitas Júnior, J. E., Bettero, V. P., Zanferari, F., Del Valle, T. A., De Paiva, P. G., Ferreira De Jesus, E., ... Rennó, F. P. (2019). Ruminal fatty acid outflow in dry cows fed different sources of linoleic acid: reticulum and omasum as alternative sampling sites to abomasum. *Archives of Animal Nutrition*, 73(3), 171–193. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1595886>
- Gandra, J. R., Mingoti, R. D., Barletta, R. V., Takiya, C. S., Verdurico, L. C., Freitas, J. E., ... Rennó, F. P. (2016). Effects of flaxseed, raw soybeans and calcium salts of fatty acids on

- apparent total tract digestibility, energy balance and milk fatty acid profile of transition cows. *Animal*, 10(8), 1303–1310. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000264>
- Geil, P. (2011). Dietary Guidelines for Americans, 2010. Revised recommendations for a healthier plate. *Diabetes Self-Management*, 28(5).
- Grinari, J. M., Dwyer, D. A., Mcguire, M. A., Bauman, D. E., Palmquist, D. L., & Nurmela, K. V. V. (1998). Trans-Octadecenoic Acids and Milk Fat Depression in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 81(5), 1251–1261. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75686-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75686-3)
- Gutierrez, G. S., Lana, R. P., Teixeira, C. R. V., Veloso, C. M., & Rennó, L. N. (2019). Performance of crossbred lactating cows at grazing in response to nitrogen supplementation and different levels of concentrate feed. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 71(3), 1005–1014. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10265>
- Hartiman, L., & Lago, B. C. (1973). A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, 22, 475–477.
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition - A review. *Lipids in Health and Disease*, 6, 1–16. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Hoffmann, A., Steingass, H., Schollenberger, M., Terry, H., Hartung, K., Weiss, E., & Mosenthin, R. (2015). Effects of different forms and origins of oilseeds on dynamics of ruminal biohydrogenation of long-chain fatty acids in vitro. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(6), 1031–1038. <https://doi.org/10.1111/jpn.12317>
- Jenkins, T. C. (1994). Regulation of Lipid Metabolism in the Rumen. *The Journal of Nutrition*, 124(suppl_8), 1372S-1376S. https://doi.org/10.1093/jn/124.suppl_8.1372s
- Kliem, K. E., Humphries, D. J., Reynolds, C. K., Morgan, R., & Givens, D. I. (2017). Effect of oilseed type on milk fatty acid composition of individual cows, and also bulk tank milk fatty acid composition from commercial farms. *Animal*, 11(2), 354–364. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001403>
- Koslosk, G. V. (2017). Metabolismo microbiano ruminal. In EditoraUFESM (Ed.), *BIOQUÍMICA DOS RUMINANTES* (3rd ed., pp. 9–99). Santa Maria.
- Liu, S., Zhang, R., Kang, R., Meng, J., & Ao, C. (2016). Milk fatty acids profiles and milk production from dairy cows fed different forage quality diets. *Animal Nutrition*, 2(4), 329–333. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.08.008>
- Loor, J. J., & Herbein, J. H. (2003). Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous trans10,cis12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1354–1369. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73720-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73720-5)
- Mahdavi, A., Mahdavi, A., Darabighane, B., Mead, A., & Lee, M. R. F. (2019). Effects of soybean oil supplement to diets of lactating dairy cows, on productive performance, and milk fat acids profile: a meta-analysis. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 809–819. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1585211>
- Mertens, D. R. (1987). PREDICTING INTAKE AND DIGESTIBILITY USING M A T H E M A T I C A L MODELS OF R U M I N A L FUNCTION. *Journal of Animal Science*, 64, 1548–1558.
- Mourthé, M. H. F., Reis, R. B., Gama, M. A. S., Lopes, F. C. F., Barros, P. A. V., Antoniassi, R., & Bizzo, H. R. (2015). Milk fatty acid profile of holstein x gyr cows grazing on marandgrass supplemented with increasing levels of roasted soybeans. *Arquivo*

- Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67(4), 1150–1158. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-7489>
- Mozaffarian, D. (2016). Natural trans fat, dairy fat, partially hydrogenated oils, and cardiometabolic health: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *European Heart Journal*, 37(13), 1079–1081. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv595>
- Muñoz, C., Sánchez, R., Peralta, A. M. T., Espíndola, S., Yan, T., Morales, R., & Ungerfeld, E. M. (2019). Effects of feeding unprocessed oilseeds on methane emission, nitrogen utilization efficiency and milk fatty acid profile of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 249, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.015>
- Murta, R. M., Veloso, C. M., Pires, A. J. V., Da Silva, F. F., De Carvalho, G. G. P., Filho, A. E., ... Da Cruz, C. H. (2016). Intake, apparent digestibility, production, and composition of milk from cows fed diets with different sources of lipids. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(2), 56–62. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000200003>
- Nogueira, R. G. S., Perna Junior, F., Pereira, A. S. C., & Rodrigues, P. H. M. (2019). Nutrient digestibility and changes in feeding behavior of cattle fed cottonseed and vitamin E. *Scientia Agricola*, 76(2), 112–122. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2017-0334>
- NRC. (2001). *Nutrient of requirements of dairy cattle* (7th ed.). Washington: The National Academies.
- Oliveira, M. A., Reis, R. B., Ladeira, M. M., Pereira, I. G., Franco, G. L., Saturnino, H. M., ... Souza Júnior, J. A. (2007). Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(3), 759–766. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000300030>
- Palmquist, D. L., & Jenkins, T. C. (1980). Fat in lactation rations – review. *Journal of Dairy Science*, 63, 1–14. [https://doi.org/doi:10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82881-5](https://doi.org/doi:10.3168/jds.S0022-0302(80)82881-5)
- Palmquist, D. L., & Mattos, W. R. S. (2011). Metabolismo de lipídios. In T. T. Berchielli, A. V. Pires, & S. G. Oliveira (Eds.), *Nutrição de Ruminantes* (2nd ed., pp. 299–322). Jaboticabal: Funep.
- Perk, J., De Backer, G., Gohlke, H., Graham, I., Reiner, Ž., Verschuren, M., ... Wolpert, C. (2012). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *European Heart Journal*, 33(13), 1635–1701. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs092>
- Piperova, L. S., Teter, B. B., Bruckental, I., Sampugna, J., Mills, S. E., Yurawecz, M. P., ... Erdman, R. A. (2000). Mammary Lipogenic Enzyme Activity, trans Fatty Acids and Conjugated Linoleic Acids Are Altered in Lactating Dairy Cows Fed a Milk Fat–Depressing Diet. *The Journal of Nutrition*, 130(10), 2568–2574. <https://doi.org/10.1093/jn/130.10.2568>
- R Development Core Team. (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena. Retrieved from <https://www.r-project.org/>.
- Rabiee, A. R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H. M., Block, E., & Lean, I. J. (2012). Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3225–3247. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4895>
- Rayburn, E. B., & Fox, D. G. (1993). Variation in Neutral Detergent Fiber Intake of Holstein

- Cows. *Journal of Dairy Science*, 76(2), 544–554. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77374-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77374-9)
- Rico, J. E., de Souza, J., Allen, M. S., & Lock, A. L. (2017). Nutrient digestibility and milk production responses to increasing levels of palmitic acid supplementation vary in cows receiving diets with or without whole cottonseed. *Journal of Animal Science*, 95(1), 436–446. <https://doi.org/10.2527/JAS.2016.1089>
- Samková, E., Špička, J., Pešek, M., Pelikánová, T., & Hanuš, O. (2012). Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Sciences*, 42(2), 83–100. <https://doi.org/10.4314/sajas.v42i2.1>
- Santos, M. V., & Fonseca, L. F. L. (2007). *Estratégias para o Controle de mastite e Melhoria na qualidade do leite*. (M. V. Santos & L. F. L. Fonseca, Eds.). São Paulo: Manole.
- Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2010). Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1140–1166. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000510>
- Thormar, H., Isaacs, C. E., Soo Kim, K., & Brown, H. R. (1994). Inactivation of Visna Virus and Other Enveloped Viruses by Free Fatty Acids and Monoglycerides: Inactivation Of Enveloped Viruses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 724(1), 465–471. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb38948.x>
- Van Nevel, C. J., & Demeyer, D. I. (1996). Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reproduction Nutrition Development*, 36(1), 53–63. <https://doi.org/10.1051/rnd:19960105>
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant* (2nd ed.). Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Verdon, M., Rawnsley, R., Raedts, P., & Freeman, M. (2018). The behaviour and productivity of mid-lactation dairy cows provided daily pasture allowance over 2 or 7 intensively grazed strips. *Animals*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/ani8070115>

1. ARTIGO 2

2. Análise de Componentes Principais da avaliação *in vivo* das dietas e desempenho de vacas leiteiras recebendo diferentes fontes de lipídios

Principal Component Analysis of in vivo evaluation of diets and performance of dairy cows receiving different sources of lipids

Redigido conforme normas da revista *Animal Physiology and Animal Nutrition*

Resumo

A hipótese testada foi que o fornecimento de diferentes fontes de lipídios não alteraria as características digestivas da dieta e, conseqüentemente, o desempenho de vacas em lactação. Objetivou-se assim, avaliar a influência de fontes adicionais de lipídios sobre a utilização dos nutrientes por meio do consumo voluntário, digestibilidade aparente e dos balanços energético e de nitrogênio, o desempenho produtivo e demonstrar através da Análise de Componentes Principais (ACP) as variáveis de maior influência em cada dieta experimental. Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir), em início de lactação (35 ± 8) dias pós-parto, com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg distribuídas aleatoriamente em um Quadrado Latino 5 x 5. As dietas foram balanceadas afim de atender as exigências nutricionais de vacas primíparas com produção média de 18 kg leite/dia, sendo isoprotéicas e isoenergéticas. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro dietas com diferentes fontes de lipídios: caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral ou óleo de soja, como fonte lipídica, para atingir o valor de extrato etéreo 70 g/kg. O fornecimento de caroço de algodão reduziu em aproximadamente 2 kg a produção diária de leite. A dieta controle apresentou consumo de MS superior em 2 kg que a dieta com caroço de algodão. A digestibilidade aparente dos nutrientes foi reduzida com o uso de caroço de algodão, sendo aproximadamente 12% inferior para as demais dietas contendo fontes de lipídios e 17% menor que a dieta controle. Os principais fatores da ACP dividiram a variabilidade total dos dados em um grupo relacionado ao consumo e digestibilidade dos

componentes não fibrosos da dieta e outro relacionado aos componentes fibrosos. Concluiu-se que o grão de soja integral apresentou melhores resultados por não comprometer a ingestão de alimentos e a produção de leite mesmo reduzindo a digestibilidade da dieta.

Palavras-chave: balanço, caroço de algodão, degradabilidade, digestibilidade, girassol, soja

Abstract

The hypothesis was that the supplying of different sources of lipids would not influence the digestive characteristics of the diet and the performance of lactating cows. The aim was to evaluate the influence of additional sources of fat on nutrients usage through voluntary intake, digestibility and balances energy and nitrogen, the productive performance and demonstrated by Principal Component Analysis (PCA) the most influential variables each experimental diet. Five primiparous Girolando cows (3/4 Holstein 1/4 Gir), in early lactation (35 ± 8) postpartum, with an average body weight of 410 ± 7.15 kg were randomly distributed in a 5 x 5 Latin Square. The diets were balanced in order to meet the nutritional requirements of cows with an average production of 18 kg milk/day, being isoproteic and isoenergetic. The treatments consisted of five experimental diets, one standard diet without an additional source of lipid and four with different sources of lipids: cottonseed, sunflower seed, whole soybean and soybean oil to reach the value of ether extract 70 g/kg. The supply of cottonseed reduced daily milk yield by approximately 2 kg. The standard diet led to a greater DMI 2 kg higher than the cottonseed diet. The apparent digestibility of nutrients was reduced with the use of cottonseed diet, by 12% than other diets containing additional lipid sources and 17% than the standard diet. The main factors of the PCA divided the total variability of the data into a group related to the voluntary intake and apparent digestibility of the non-fibrous components of the diet and other related to the dietary fibrous components. It was concluded that the whole soybean can be added to cow's diets without compromise voluntary intake and milk production.

Keyword: balance, contonseed, degradability, digestibility, sunflowerseed, soybean

1. Introdução

Efeitos variados da utilização de grãos de oleaginosas na nutrição de vacas em lactação vem sendo reportados nos últimos anos (Gandra et al., 2016 a; Rico et al., 2017; de Araújo et al., 2018; Muñoz et al., 2019). A utilização dessas fontes de lipídios pode causar efeitos na produção e composição do leite e no processo digestivo dos animais. Por possuírem proteção natural, os grãos podem ser inertes no rúmen e por isso, apresentar menor digestibilidade de seus nutrientes. No entanto, essa proteção pode reduzir os efeitos deletérios dos ácidos graxos poli-insaturados sobre a degradabilidade da fibra em dietas com alto teor de extrato etéreo (Palmquist et al., 2011).

A avaliação da dieta permite determinar a fermentação ruminal de componentes, a digestibilidade e o uso dos nutrientes no processo produtivo. Mertens (1993) afirmou que a digestibilidade e, conseqüentemente os nutrientes digestíveis totais (NDT) da dieta, são características determinadas pela composição de seus alimentos, como aspectos físicos e anatômicos e composição de parede celular, porém existem fatores extrínsecos ligados as características do animal e ambiente que exercem grande influência nesse processo.

Métodos de avaliação *in situ* como a degradabilidade ruminal proposta por (Osrkov e McDonald (1979), assim como equações propostas pelo NRC (2001), auxiliam na avaliação do uso dos nutrientes em cada dieta fornecida para vacas em lactação.

O conhecimento isolado das variáveis de consumo voluntário, digestibilidade dos nutrientes e desempenho dos animais muitas vezes não é capaz de demonstrar as inter-relações entre as características. Nesse sentido, analisar os dados estatisticamente de maneira univariada pode não ser suficiente para responder de maneira eficiente o entendimento dos processos de digestão e utilização dos nutrientes, e de desempenho de vacas em lactação. A Análise de

Componentes Principais (ACP) é um método multivariado que proporciona uma avaliação de variáveis agrupadas por meio de escores dos componentes. Estes são criados a partir da correlação entre os dados, gerando resultados que proporcionam uma avaliação integrada (Dillon e Goldstein, 1984). Alguns autores têm utilizado a ACP para avaliação de grupos genéticos de vaca leiteiras (Santos et al., 2010), sistemas de produção (Bodenmüller Filho et al., 2010), propriedades produtoras de leite com diferentes graus de tecnificação (Simioni et al., 2013) e efeitos da dieta para vacas leiteiras (Vazirigohar et al., 2018).

Nesse sentido, foi testada a hipótese que o fornecimento de diferentes fontes de lipídios não alteraria as características digestivas da dieta e conseqüentemente o desempenho de vacas em lactação. Objetivou-se assim avaliar a influência das fontes adicionais de lipídios sobre a utilização dos nutrientes através do consumo, digestibilidade aparente e balanços energético e de nitrogênio, o desempenho produtivo e demonstrar através da Análise de Componentes Principais (ACP) as variáveis de maior influência em cada dieta experimental.

2. Material e Métodos

Animais, delineamento experimental e tratamentos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o uso de animais em experimento (protocolo nº 011/2016). Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês, 1/4 Gir), com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg (media; erro padrão médio), Escore de Condição Corporal (ECC) 3,0 ($\pm 0,5$) em início de lactação (35 ± 8 media; erro padrão médio) dias após o parto, distribuídas aleatoriamente em um Quadrado Latino 5 x 5, alojadas em baias individuais com acesso livre a água. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro com diferentes fontes de lipídios, caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja para atingir 70 g/kg de extrato etéreo. A alimentação foi fornecida para um consumo *ad libitum* na forma de ração total mista (Tabela 1). As dietas foram balanceadas afim de atender as exigências

nutricionais de vacas de primeira cria com produção média de 18 kg leite/dia, sendo isoprotéicas e isoenergéticas (NRC, 2001).

Tabela 1

Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).

	Dietas				
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja
Ingredientes					
Silagem de Milho	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0
Milho Triturado	383,0	264,5	209,4	316,0	406,7
Farelo de Soja	167,0	42,9	97,6	-	101,3
Amireia – 20	20	20	20	20	20
Sal Mineral	30	30	30	30	30
Caroço de Algodão	-	242,6	-	-	-
Grão de Girassol	-	-	243,0	-	-
Grão de Soja integral	-	-	-	234,0	-
Óleo de Soja	-	-	-	-	42,0
Composição química					
MO	936	902	896	923	916
PB	180	180	180	180	180
EE	32	70	70	70	70
aFDN	305	401	362	332	290
FDA	231	292	279	234	210
Lignina	29,28	44,25	35,96	31,31	28,52
CHOT	724	652	646	673	666
CNF	419	251	284	341	376
NDT	759	612	723	731	736
Ácidos Graxos					
C14:0	0,02	0,31	0,02	0,02	0,01
C16:0	3,46	13,48	5,53	7,81	7,49
C16:1	0,03	0,2	0,02	0,1	0,02
C18:0	0,66	1,37	2,26	1,85	1,93
C18:1	7,79	12,67	19,92	16,12	16,28
C18:2	17,88	39,92	40,11	38,74	37,97
C18:3	0,98	0,66	0,75	3,68	0,79
C:20	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05
C20:1	0,04	0,04	0,04	0,05	2,53
C22	0,04	0,04	0,52	0,05	0,04
Outros	1,05	1,25	0,79	1,52	2,89

MO – Matéria Orgânica; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; aFDN – Fibra em Detergente Neutro testada com amilase; FDA - Fibra em Detergente Ácido; CHOT – Carboidratos Totais; CNF – Carboidratos não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

C14:0 – Ácido Mirístico; C16:0 – Ácido Palmítico; C16:1 – Ácido Palmitoleico; C18:0 – Ácido Esteárico; C18:1 – Ácido Oleico; C18:2 – Ácido Linoleico; C18:3 – Ácido Linolênico; C:20 – Ácido Araquidônico; C20:1 – Ácido Gadolêico; C22 – Ácido Behênico.

Procedimentos Experimentais

O experimento teve duração de 126 dias, dividido em 6 períodos de 21 dias cada, conforme utilizado por (Gutierrez et al., 2019 e Verdon et al., 2018). Foram realizados 5 períodos experimentais e um período de 21 dias de adaptação ao manejo e instalações recebendo como alimentação dieta contendo 40% de silagem de milho e 60% de concentrado. O fornecimento de alimento ocorreu duas vezes ao dia às 6 e 16 horas. As sobras de alimentos foram coletadas diariamente afim de ajustar o fornecimento. Nos três últimos dias de cada período experimental as sobras foram congeladas e ao final do período foram homogeneizadas e uma amostra composta foi utilizada para determinação do teor de nutriente.

Foram realizadas duas ordenhas a cada dia, às 5:00 e 15:0 horas. A coleta do leite foi realizada em quatro ordenhas consecutivas nos dois últimos dias de cada período experimental. As amostras para determinação dos componentes do leite foram armazenadas a 4°C com Bronopol-B2 até o momento da análise. A produção de leite foi determinada através da pesagem do leite nos últimos três dias de cada período experimental.

Análises químicas

As amostras de alimentos foram submetidas a análises laboratoriais para avaliação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) segundo os métodos 930.15, 942.05, 976.05 e 920.39 AOAC, 2000, determinação do teor de fibra em detergente neutro (aFDN) de acordo com Mertens et al., 2002 usando alfa-amilase (Termamyl 120 L®), teor de fibra em detergente ácido (FDA) pelo método de Van Soest and Robertson, 1985.

Digestibilidade aparente

A digestibilidade aparente da dieta foi mensurada por meio da diferença entre a quantidade do nutriente ingerida e a quantidade de nutriente excretada nas fezes. Foram coletadas duas amostras de fezes (± 200 g) por dia durante os três últimos dias de cada período experimental. Para estimar a excreção fecal total foi utilizado o marcador interno FDAi (Ítavo et al., 2002).

Amostras de alimentos, sobras e fezes foram acondicionadas em saquinhos de polipropileno e incubadas no rúmen por 144 horas. Após o período de incubação os saquinhos foram retirados e foi avaliar o teor de FDAi.

Análise dos componentes do leite

As amostras de leite foram analisadas no Laboratório Central do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa. Foram determinados os teores de proteína, gordura, lactose e sólidos pelo método infravermelho (Internacional IDF Standart 141C; 2000). A contagem de células somáticas (CCS) foi determinada pelo método de citometria de fluxo (Internacional IDF Standart 148-2; 2006).

Degradabilidade ruminal

Para determinação da degradabilidade ruminal das dietas as amostras de silagem e concentrados foram moídas em moinho de facas com peneira de 1mm. As amostras de grãos foram incubadas sem passar pelo processo de moagem. Foram utilizados sacos de polipropileno, medindo 10 x 25 cm, numerados e pesados. Alíquotas de 5g de cada alimento foram acondicionadas nos sacos de polipropileno.

Os sacos de polipropileno foram acondicionados em sacos de nylon e esses fixados a uma corrente provida de um peso de ancoragem, afim de permanecerem submersos no líquido ruminal durante todo o período de incubação. A incubação ocorreu em duas baterias e cada bateria utilizou três animais fistulados no rúmen alimentados durante 14 dias com dieta semelhante à utilizada no experimento.

Os sacos foram incubados em triplicata em ordem cronológica inversa, nos tempos de 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48 e 72 horas para cada animal fistulado utilizado, num total de 18 repetições por alimento. Após o final do período de incubação, os sacos foram retirados, ao mesmo tempo e imediatamente inseridos em um recipiente com água a 5°C afim de cessar a ação dos microrganismos. Os sacos referentes ao tempo 0 não foram inseridos no ambiente ruminal, porém, foram lavados junto aos demais em água corrente até a água residual da lavagem se tornasse límpida.

Após a lavagem, os sacos foram acondicionados em estufa de circulação de ar forçada a 55°C por 72 horas e posteriormente foram realizadas as análises para determinação da composição das amostras residuais.

Ultrassonografia de carcaça e Escore de Condição Corporal

A avaliação do ECC (1 a 5) e a avaliação da gordura corporal foram realizadas no primeiro dia do experimento e no último dia de cada período experimental. As características da gordura corporal foram avaliadas através de ultrassonografia utilizando-se um aparelho ESAOTE Pie Medical Aquila VET (ESAOTE Pie Medical Imaging Inc., Maastricht, Holanda) equipado com uma probe linear de 18 cm e frequência de 3,5 MHz acoplada a uma guia acústica, sendo empregado óleo vegetal como meio condutor. Imagens do músculo longissimus na região entre a 12^a e 13^a costelas foram utilizadas para avaliação das medidas de área de olho de lombo

(AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) sobre o músculo longissimus e do músculo Biceps femoris para avaliação da espessura de gordura sobre a picanha (EGP).

Cálculos e análise estatística

A ingestão diária de cada nutriente foi estimada pela diferença entre o nutriente fornecido e o nutriente da sobra das dietas (NRC, 2001).

A estimativa da produção fecal foi realizada através da divisão do teor de FDAi ingerido (alimentos – sobras) pelo FDAi contido nas fezes. A digestibilidade aparente foi determinada pela subtração do total de cada nutriente ingerido pelo total do mesmo nutriente excretado nas fezes.

Os teores de Carboidratos Totais foram determinados pela equação: $CHOT = \{100 - [PB (\%MS) + EE (\%MS) + MM (\%MS)]\}$ e os Nutrientes Digestíveis Totais calculados a partir da equação: $NDT (g/dia) = \{(PB \text{ ingerida} - PB \text{ fezes}) + (CHOT \text{ ingerido} - CHOT \text{ fezes}) + [2,25 * (EE \text{ ingerido} - EE \text{ fezes})]\}$, propostas por Sniffen et al. (1992). Os Carboidratos Não Fibrosos (CNF) foram estimados de acordo com a equação proposta por Hall (2000), onde $CNF = \{100 - [[PB (\%MS) - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ de ureia}] + FDN (\%MS) + EE (\%MS) + MM (\%MS)]\}$.

A produção de leite diária foi calculada por meio da soma da produção individual a cada ordenha, sendo realizada uma média dos três últimos dias de cada período experimental. A correção do leite para 4% de gordura foi realizada por meio da equação do (NRC, 2001), $LCG = 0,4 \times \text{Produção} + 15 \times \% \text{GOR}/100 \times \text{Produção}$. Onde: LCG = Leite corrigido para 4% de gordura em kg/d; Produção = produção de leite em kg/d; % GOR = porcentagem de gordura do leite.

A porcentagem de degradação da MS, PB e FDN foi calculada, utilizando-se a equação descrita por Orskov & McDonald (1979): $DP = a + b(1 - e^{-ct})$ onde: DP = taxa de degradação

potencial no tempo t ; a = fração solúvel em água; b = fração insolúvel em água, potencialmente degradável; c = taxa de degradação da fração b ; t = tempo de incubação sendo $a + b \leq 100$. A degradabilidade efetiva (DE) da MS, PB e FDN, no rúmen, foi calculada usando a seguinte equação: $DE = a + (b \times c / c + k)$ em que: k = taxa estimada de passagem das partículas no rúmen (2, 5 e 8%/hora).

O balanço energético foi estimado pela equação $BE = EL \text{ ingerida} - EL \text{ manutenção} - EL \text{ lactação} - EL \text{ ganho}$, onde $EL \text{ ingerida}$ = total de energia líquida consumida no dia; $EL \text{ manutenção}$ = energia líquida gasta para manutenção; $EL \text{ lactação}$ = energia líquida gasta com lactação e $EL \text{ crescimento}$ = energia líquida gasta com crescimento. Para obtenção desses valores foram utilizadas as equações propostas pelo NRC 2001.

O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio consumido pelo nitrogênio excretado nas fezes, urina e leite obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e porcentagem do total ingerido. A eficiência do uso do nitrogênio foi determinada pela divisão do total de gramas de nitrogênio no leite pelo total de gramas de nitrogênio ingerido.

Para determinação do modelo matemático da degradação ruminal de cada dieta os dados foram analisados através do PROC NLIN do software SAS University. Foi realizada uma análise de Correlação de Pearson entre as variáveis. Os dados foram estandardizados para que não houvessem diferenças nas dimensões e na variação das variáveis, após esse processo passaram por uma análise multivariada de Análise de Componente Principal (APC). A análise Correlação de Pearson e componentes principais foi realizada através do pacote Factoshiny do software R (R Development Core Team, 2018), utilizando a metodologia de Ter Braak and Prentice, 1988.

Para análise estatística os dados foram processados utilizando o pacote Exp.Des.pt do software R (R Development Core Team, 2018). Foram realizados teste de Shapiro-Wilk para determinação da normalidade dos dados e teste de Bartlett para determinação da

homogeneidade. Após atendidos os pressupostos, foi realizada uma análise de variância em um Quadrado Latino 5 x 5. As médias foram analisadas pelos testes de Dunnett para comparação dos tratamentos com fonte de lipídios e o tratamento controle e teste de Tukey para comparação de todos. Para ambos foi utilizado 5% de significância de acordo com o modelo matemático $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k(i, j) + e_{ijk}$, onde: Y_{ijk} = valor da variável dependente; μ = média geral; A_i = efeito da vaca; P_j = efeito do período; $T_k(i, j)$ = efeito do tratamento dentro de cada vaca e período; e_{ijk} = erro experimental.

3. Resultados

Produção e composição do leite

A produção de leite foi menor em vacas recebendo dietas contendo caroço de algodão quando comparada a produção de vacas recebendo grão de soja integral ($P=0,029$), no entanto as fontes de lipídios não apresentaram diferença na produção de leite quando comparadas a dieta controle (Tabela 2).

A produção de leite corrigida para 4% das vacas consumindo dieta contendo óleo de soja foi reduzida em relação a das vacas consumindo grão de soja integral ($P=0,037$), não havendo diferença de produção de leite corrigida entre as dietas contendo fontes de lipídios e a dieta controle.

Tabela 2

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da produção (kg/dia) e composição (g/kg) do leite de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de soja Integral	Óleo de Soja	
PL	13.3±0,37ab	11.4±1,21b	13.4±0,45ab	14.6±0,10a	11.5±0,27ab	0.029
PLG	10.3±0,92ab	9.0±1,07ab	10.7±0,79ab	11.9±0,38a	8.0±0,45b	0.037
Gordura	24,6±3,7ab	26,3±1,9a	26,5±3,1a	27,6±1,7a	19,6±2,6b	0.021
Proteína	32,4±1,2	31,1±1,4	33,5±1,7	31,2±1,5	30,2±1,3	0.104
Lactose	47,0±0,5	45,3±1,9	46,4±0,8	47,9±0,5	47,2±0,4	0.501
ST	11.4±0,045ab	11.3±0,40ab	11.7±0,33ab	11.7±0,33a	10.7±0,28b	0.036
CCS	129.8±55,68	1029.3±995,22	207.8±401,24	279.4±256,07	33.4±7,96	0.529

Médias com letras diferentes na coluna indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

PL – Produção de leite (kg/dia); PLG - produção de leite corrigida para 4% de gordura (kg/dia); ST – Sólidos Totais; CCS (x1000/ml)

O teor de gordura do leite foi superior nas dietas contendo grãos inteiros como fonte de lipídios em comparação a dieta contendo óleo de soja, mas, as fontes de lipídios não foram capazes de alterar o percentual de gordura do leite em relação a dieta controle (P=0,021).

O fornecimento de óleo de soja na dieta reduziu o teor de Sólidos Totais do leite em comparação com dietas contendo grão de soja integral, porém, nenhuma das fontes de lipídios foi capaz de alterar o teor de sólidos totais em comparação à dieta controle (P=0,036).

Consumo e Digestibilidade Aparente

A ingestão diária de matéria seca foi aproximadamente 2 kg menor para as vacas consumindo caroço de algodão em comparação com a dieta controle (P=0,042; Tabela 3). Essa redução também ocorreu quando o consumo foi mensurado em porcentagem do peso vivo (P=0,029). O consumo em g/kg de peso metabólico foi reduzido nas vacas que consumiram caroço de algodão (P=0,003). O consumo de MO seguiu a mesma tendência e foi menor na dieta contendo caroço de algodão (P=0,039).

Vacas consumindo dieta contendo grão de soja integral apresentaram maior consumo de PB em relação as demais dietas com adição de lipídios, mas este não foi diferente da dieta controle (P=0,011). Todas as dietas com fontes adicionais de lipídios resultaram em maior consumo de EE comparadas à dieta controle (P<0,001). O consumo de FDN foi superior em vacas consumindo grão de girassol comparada as vacas consumindo óleo de soja (P=0,009). A ingestão de FDA em vacas consumindo grão de girassol e caroço de algodão foi superior a ingestão de vacas que receberam dieta com óleo de soja e dieta controle (P<0,001).

A quantidade de CHOT ingerida pelas vacas que receberam caroço de algodão foi menor que as vacas que receberam dieta controle ($P=0,005$). Todas as dietas com fonte adicionais de lipídios resultaram em menor consumo de CNF que a dieta controle ($P<0,001$). A ingestão de NDT foi menor para vacas consumindo caroço de algodão ($P=0,012$).

Tabela 3

Médias e Erro Médio Padrão (EMP) da ingestão diária de nutrientes de vacas Girolando recebendo dieta com diferentes fontes de lipídios

	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de soja Integral	Óleo de Soja	P
	Consumo					
IDMS	13,95±0,43a	11,98±0,55b*	13,55±0,63ab	13,51±0,74ab	12,98±1,22ab	0,042
% PC	3,39±0,04a	2,94±0,12b*	3,26±0,02ab	3,21±0,13ab	3,13±1,10ab	0,029
g/k PM	152,7±1,36a	132,1±4,79b*	145,7±2,14a	145,6±5,50a	149,6±4,97a	0,003
IDMO	13,32±0,05a	11,01±0,09b*	12,78±0,09ab	12,85±0,16ab	12,11±0,21ab	0,039
IDPB	1,96±0,02ab	1,79±0,06b	1,92±0,07b	2,39±0,04a	1,85±0,08b	0,011
IDEE	0,46±0,19c	0,72±0,27b*	0,86±0,26ab*	0,77±0,28ab*	0,93±0,39a*	<0,001
IDFDN	5,61±0,12ab	5,75±0,18ab	6,26±0,17a	5,96±0,18ab	5,29±0,22b	0,009
IDFDA	3,40±0,35bc	3,89±0,42a*	4,06±0,44a*	3,78±0,50ab	3,21±0,84c	<0,001
IDCHOT	10,90±0,35a	8,50±0,40b*	10,00±0,44ab	9,69±0,50ab	9,33±0,84ab	0,005
IDCNF	5,29±0,04a	3,17±0,12b*	3,74±0,15b*	3,73±0,13b*	4,04±0,25b*	<0,001
NDT	10,59±0,35a	7,36±0,50b*	9,82±0,56ab	9,90±0,65a	10,11±1,14a	0,012
	Coeficiente de Digestibilidade Aparente (%)					
DMS	74,9±0,30a	57,1±2,34b*	70,5±1,17a	68,6±1,40a	72,0±2,77a	<0,001
DMO	77,0±0,24a	60,1±2,12b*	72,5±1,12a	71,0±1,21a	74,5±2,72a	<0,001
DPB	68,6±1,80ab	62,0±2,94b	77,2±1,46a	69,7±1,43ab	71,6±4,56ab	0,029
DEE	84,2±1,13b	74,4±1,53d	77,9±1,74cd*	81,1±0,65bc	91,0±0,78a*	<0,001
DFDN	67,6±0,76a	50,9±2,78b*	62,9±1,76a	59,9±1,21ab	63,4±3,37a	0,007
DFDA	51,9±0,86	34,7±6,43	47,0±2,73	46,2±3,60	49,5±5,94	0,186
DCHOT	76,7±0,28a	56,3±2,27b*	68,2±1,37a	70,2±1,67a	72,7±2,80a	<0,001
DCNF	87,8±0,78a	68,0±2,48b*	78,8±3,50ab	87,6±2,33a	85,6±4,10a	0,004
NDT (%)	75,9±0,28a	61,2±1,79b*	72,3±1,04ab	73,1±1,10ab	73,6±5,98ab	0,046

Médias com letras diferentes na coluna indicam diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*Médias com diferença estatística entre o tratamento e o controle pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

IDMS – ingestão Diária de Matéria Seca; %PC – Consumo em porcentagem do Peso Corporal; g PM-1 – gramas por Kg de PC^{0,75}; IDMO – Ingestão Diária de Matéria Orgânica; IDPB – Ingestão Diária de Proteína Bruta; IDEE - Ingestão Diária de Extrato Etéreo; IDFDN - Ingestão Diária de FDN; IDFDA - Ingestão Diária de FDA; IDCHOT - Ingestão Diária de Carboidratos Totais; IDCNF - Ingestão Diária de Carboidratos Não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais (kg/dia); DMS – Digestibilidade da Matéria Seca; DMO - Digestibilidade da Matéria Orgânica; DPB – Digestibilidade da Proteína Bruta; DEE – Digestibilidade do Extrato Etéreo; DFDN – Digestibilidade do FDN; DFDA – Digestibilidade do FDA; DCHOT – Digestibilidade dos Carboidratos Totais; DCNF – Digestibilidade dos Carboidratos Não Fibrosos; NDT (%) – Porcentagem de Nutrientes Digestíveis Totais

A digestibilidade aparente da MS foi reduzida com a utilização de caroço de algodão na dieta ($P<0,001$; Tabela3). Essa redução também foi observada na digestibilidade aparente da MO ($P<0,001$). Somente a dieta contendo caroço de algodão apresentou redução na digestibilidade aparente da PB em relação a dieta controle ($P=0,029$). O uso de grãos como

fonte de lipídio reduziu a digestibilidade aparente do EE em relação as dietas controle e com óleo de soja ($P < 0,001$).

A dieta com caroço de algodão apresentou menor digestibilidade aparente da FDN que as demais ($P = 0,007$). Houve redução da digestibilidade aparente dos CHOT ($P < 0,001$) e CNF ($P = 0,004$) na dieta com caroço de algodão. O teor de NDT da dieta com caroço de algodão foi inferior ao apresentado na dieta controle ($= 0,046$).

Degradação ruminal

Todas as fontes adicionais de lipídios testadas apresentaram fração solúvel “a” da matéria seca inferior a dieta controle ($P < 0,001$; Tabela 4). A fração potencialmente degradável da MS “b” foi maior na dieta contendo grão de soja integral como fonte de lipídio, sendo que as demais dietas contendo fontes de lipídios apresentaram valores inferiores para esse parâmetro que a dieta controle ($P < 0,001$). A taxa de degradação da fração potencialmente degradável “c” da MS foi superior nas dietas contendo óleo de soja e dieta controle comparadas as dietas contendo grãos como fonte de lipídios ($P < 0,001$). Todas as dietas contendo fontes adicionais de lipídios apresentaram valores inferiores à dieta controle para degradabilidade potencial (DP) da MS ($P < 0,001$) e degradabilidade efetiva (DE) com taxa de passagem de 2, 5 e 8%/h ($P < 0,001$).

Assim como na MS a fração solúvel “a” e a taxa de degradação da fração potencialmente degradável “c” da MO foram superiores na dieta controle ($P < 0,001$). A dieta com grão de soja integral demonstrou maior fração potencialmente degradável da MO “b” ($P < 0,001$). O fornecimento de dieta controle resultou em maior DP da MO após 72 horas de incubação ($P < 0,001$), maior DE com taxa de passagem de 2 ($P < 0,001$), 5 ($P < 0,001$) e 8%/h ($P < 0,001$).

A utilização de grãos como fonte de lipídios reduziu a fração “a” da PB das dietas, apresentando valores inferiores que as dietas controle e com óleo de soja ($P < 0,001$).

Tabela 4

Estimativas dos parâmetros da degradação no rúmen e digestibilidade efetiva da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das dietas contendo diferentes fontes de lipídios

Parâmetros	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
Matéria Seca						
a -MS	31.17a	28.01d*	27.18e*	28.31c*	29.77b*	<0.001
b -MS	54.69b	44.35d*	41.90e*	61.22a*	52.15c*	<0.001
c - MS	5.82a	4.94c*	5.39b*	3.36d*	5.83a	<0.001
DP - MS	71.87a	59.57d*	57.74e*	66.69*b	68.60c*	<0.001
R ² - MS	0,997	0,997	0,996	0,998	0,997	
DE2 - MS	71.87a	59.57d*	57.74e*	66.69c*	68.60b*	<0.001
DE5 - MS	60.59a	50.04d*	48.92e*	52.92c*	57.85b*	<0.001
DE8 - MS	54.20a	44.94d*	44.05e*	46.42c*	51.76b*	<0.001
Matéria Orgânica						
a -M0	29.08a	25.90c*	25.16d*	25.97c*	27.59b*	<0.001
b -M0	63.55b	52.89d*	50.62e*	69.99a*	60.76c*	<0.001
c - M0	0.06a	4.98d*	5.55c*	3.65e*	6.09b*	<0.001
DP - M0	91.94a	77.33d*	74.85e*	90.90b*	87.59c*	<0.001
R ² - M0	0,998	0,997	0,998	0,998	0,998	
DE2 - M0	77.28a	63.64d*	62.38e*	71.18c*	73.33b*	<0.001
DE5 - M0	64.46a	52.29d*	51.80e*	55.50c*	60.95b*	<0.001
DE8 - M0	57.03a	46.19d*	45.90d*	47.90c*	53.85b*	<0.001
Proteína Bruta						
a -PB	25.97a	23.45b*	22.55c*	21.81d*	25.81a	<0.001
b -PB	70.04b	58.60c*	55.19d*	91.40a*	70.04b	<0.001
c - PB	9.28a	6.91d*	8.42c*	2.30e*	8.86b*	<0.001
DP - PB	95.92a	81.64c*	77.61d*	95.61b*	95.73ab	<0.001
R ² - PB	0,994	0,998	0,996	0,996	0,995	
DE2 - PB	83.59a	68.89d*	67.15e*	70.61c*	82.95b*	<0.001
DE5 - PB	71.49a	57.44c*	57.18c*	50.54d*	70.58b*	<0.001
DE8 - PB	63.58a	50.60c*	50.85c*	42.17d*	62.62b*	<0.001
FDN						
b -FDN	67.20a	57.94d*	57.87d*	63.77c*	66.96b*	<0.001
c - FDN	5.54a	5.00e*	5.44c*	5.39d*	5.49b*	<0.001
DP - FDN	67.61a	59.59d*	57.97e*	64.88c*	67.17b*	<0.001
R ² - FDN	0,998	0,999	0,999	0,999	0,999	
DE2 - FDN	51.03a	44.62d*	43.56e*	48.94c*	50.58b*	<0.001
DE5 - FDN	36.98a	32.20d*	31.40e*	35.51c*	36.54b*	<0.001
DE8 - FDN	29.15a	25.52d*	24.67e*	28.10c*	28.75b*	<0.001
FDA						
b -FDA	61.19a	52.39d*	52.14e*	58.99c*	60.87b*	<0.001
c - FDA	4.98a	4.20d*	4.55c*	4.77b*	4.98a	<0.001
DP - FDA	61.79a	52.42d*	51.47e*	60.31c*	61.10b*	<0.001
R ² - FDA	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	
DE2 - FDA	45.95a	38.07d*	37.52e*	44.79c*	45.35b*	<0.001
DE5 - FDA	32.83a	26.49d*	26.14e*	32.03c*	32.30b*	<0.001
DE8 - FDA	25.77a	20.61c*	20.20d*	25.26b*	25.28b*	<0.001

Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05)

DP - taxa de degradação potencial no tempo t (%); a - fração solúvel em água; b - fração insolúvel em água potencialmente degradável; c - taxa de degradação da fração b (%); t - tempo de incubação; DE - degradabilidade efetiva (%); k - taxa estimada de passagem das partículas no rúmen (2, 5 e 8%/hora).

A dieta contendo grão de soja integral demonstrou maior fração “b” da PB, já as dietas contendo óleo de soja e dieta controle apresentaram valores para esse parâmetro superiores aos grãos de girassol e caroço de algodão ($P < 0,001$). A taxa de degradação da fração potencialmente degradável de PB foi reduzida com o uso de grãos como fonte de lipídios ($P < 0,001$).

A degradabilidade potencial da PB foi reduzida com a adição de fontes de lipídios na forma de grãos à dieta ($P < 0,001$). Para a DE a dieta controle demonstrou maiores valores nas taxas de passagem 2 ($P < 0,001$), 5 ($P < 0,001$), e 8%/h ($P < 0,001$).

A fração “b” e a taxa “c” do FDN apresentaram maiores valores na dieta controle ($P < 0,001$). A DP do FDN foi reduzida com a utilização de fontes de lipídios na dieta ($P < 0,001$), assim com a DE nas taxas de passagem 2 ($P < 0,001$), 5 ($P < 0,001$) e 8%/h ($P < 0,001$).

A fração “b” da FDA foi superior na dieta controle ($P < 0,001$). A taxa de degradação “c” do FDA da dieta contendo óleo de soja foi semelhante a dieta controle e ambas foram superiores as dietas contendo grãos ($P < 0,001$). A DP após 72 horas do FDA foi maior na dieta controle ($P < 0,001$). A DE do FDA foi superior na dieta controle em todas as taxas de passagem (2, 5 e 8%/h) ($P < 0,001$).

Balanço de nitrogênio

O uso de grão de soja integral como fonte adicional de lipídio aumentou a ingestão diária de nitrogênio em relação as demais fontes, mas não em relação a dieta controle ($P = 0,011$; Tabela 5). A dieta contendo grão de soja integral resultou em maior excreção de N nas fezes que as dietas contendo óleo de soja e grão de girassol, que também demonstrou menor excreção em relação a dieta controle ($P < 0,001$). A excreção de nitrogênio urinário foi superior na dieta contendo grão de soja integral que as dietas com os demais grãos utilizados ($P = 0,032$). A quantidade de nitrogênio excretado no leite foi superior em vacas consumindo grãos de soja integral que nas vacas consumindo caroço de algodão e óleo de soja ($P = 0,04$).

O balanço de nitrogênio foi positivo para todas as dietas, vacas consumindo grão de girassol apresentaram maior valor que as vacas consumindo dieta controle, caroço de algodão e grãos de soja integral ($P < 0,001$). A excreção de nitrogênio fecal em porcentagem do consumo foi maior na dieta contendo caroço de algodão em comparada a dieta com grão de girassol ($P = 0,029$). Não foram observadas diferenças na porcentagem de excreção de nitrogênio urinário ($P = 0,207$) e porcentagem de excreção de nitrogênio no leite (eficiência do uso de N) ($P = 0,170$).

Tabela 5

Médias e Erro Médio Padrão para o balanço de Nitrogênio em função das dietas experimentais

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
	Consumo (g/dia)					
NT	314,3±7,9ab	286,4±14,1b	306,5±15,0b	382,7±25,0a*	296,0±32,9b	0,011
	Excreção de N (g/dia)					
N-Fecal (g)	98,3±5,2ab	107,1±5,0a	69,2±2,4c*	114,6±3,9a	79,3±5,6bc	<0,001
N-Urinário (g)	96,3±6,2ab	85,6±8,0b	87,2±12,4b	149,4±19,8a	94,2±25,7a b	0,032
N-Leite (g)	67,5±3,5ab	55,2±5,5b	70,2±3,6a	71,2±3,6a	54,4±1,7b	0,004
	Balanço (g/dia)					
BN (g)	52,1±5,5bc	38,2±5,6c	80,0±3,6a*	47,5±3,3bc	68,1±7,0ab	<0,001
	Excreção de N (% do N total)					
N-Fecal (%)	31,4±1,8ab	38,0±2,9a	22,8±1,5b	30,3±1,4ab	28,4±4,6ab	0,029
N-Urinário (%)	30,6±1,3	29,7±1,6	28,0±2,8	38,4±2,6	29,0±6,4	0,207
N-Leite (%)	21,5±1,0	19,1±1,3	23,1±1,4	18,8±1,2	19,2±1,9	0,170
	Balanço (% Nitrogênio Total)					
BN (%)	16,6±1,6bc	13,3±1,9c	26,2±0,9a*	12,5±0,9c	23,4±2,1ab	<0,001

Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$)

NT – Nitrogênio Total Consumido; N-Fecal (g) – Nitrogênio Fecal (g/dia); N-Urinário (g) – Nitrogênio Urinário (g/dia); N-Leite (g) - Nitrogênio do Leite (g/dia); BN (g) – Balanço de Nitrogênio (g/dia); N-Fecal (%) - Nitrogênio Fecal (% do NT); N-Urinário (%) - Nitrogênio Urinário (% do NT); N-Leite (%) - Nitrogênio do Leite (% do NT); BN (%) – Balanço de Nitrogênio (% do NT)

O balanço de nitrogênio total demonstra que a retenção de nitrogênio em porcentagem foi maior na dieta contendo grão de girassol que nas dietas com caroço de algodão e grão de soja ($P < 0,001$).

Balanço Energético

O consumo de EI foi superior na dieta controle que comparada a dieta contendo caroço de algodão ($P=0,012$; Tabela 6). As dietas ofertadas não afetaram os gastos com EI de manutenção ($P=0,613$) e EI de crescimento ($P=0,598$). O gasto com EI de lactação foi superior para vacas consumindo grãos de soja integral que em vacas consumindo óleo de soja a ($P=0,036$). A dieta contendo caroço de algodão reduziu o valor do balanço energético medido Mcal/dia comparada a dieta controle e dieta contendo óleo de soja ($P=0,036$). Essa redução também foi observada no balanço energético mensurado em porcentagem da energia consumida ($P=0,041$).

Tabela 6

Médias e Erro Médio Padrão para o balanço energético em função das dietas experimentais

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
Consumo(Mcal/dia)						
EI	25,93±0,85a	18,02±1,22b*	24,06±1,37ab	24,25±1,60ab	24,78±2,80ab	0,012
Gasto de EI (Mcal/dia)						
ELm	7,80±0,23	7,76±0,28	7,60±0,23	7,94±0,22	7,84±0,28	0,613
ELI	7,67±0,58ab	6,79±0,88ab	8,16±0,51ab	8,90±0,32a	6,48±0,21b	0,036
ELc	0,66±0,04	0,66±0,05	0,69±0,04	0,63±0,04	0,65±0,05	0,598
Balanço (Mcal/dia)						
BE	9,80±0,78a	2,81±0,94b*	7,61±1,75ab	6,77±1,34ab	9,80±2,551a	0,036
Balanço (% EI Total)						
BE (%)	37,72±2,45a	14,84±4,66b*	30,47±5,41ab	26,97±3,72ab	36,35±7,48ab	0,041

Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$)

El – Energia Líquida (Mcal); ELm – Energia Líquida de Manutenção; ELI - Energia Líquida de Lactação; ELc - Energia Líquida de Crescimento; BE – Balanço Energético (Mcal/dia); BE (%) – Balanço Energético (% do EI)

Ultrassonografia de carcaça e Escore de Condição Corporal

As mensurações da espessura de gordura da carcaça através da ultrassonografia demonstraram não haver influência das dietas na espessura de gordura da picanha ($P=0,934$) e na espessura de gordura subcutânea ($P=0,548$; Tabela 7). Vacas consumindo dieta com óleo de soja como fonte adicional de lipídio apresentam maior deposição de gordura na área de olho de

lombo que vacas consumindo dieta controle ($P=0,014$). O escore de condição corporal das vacas não foi afetado pelas dietas ($P=0,887$).

Tabela 7

Médias e Erro Médio Padrão da espessura de gordura (mm) mensurada pela ultrassonografia e Escore de Condição Corporal em função das dietas experimentais

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
EGP _[AMW1]	1,93±0,34	1,98±0,20	1,88±0,36	2,08±0,26	2,16±0,19	0,934
EGS	1,65±0,33	1,63±0,32	1,88±0,54	1,98±0,50	1,83±0,40	0,548
AOL	38,55±1,28b	39,14±0,47ab	40,52±2,33ab	44,35±0,87ab	44,68±1,34a*	0,014
ECC	3,10±0,25	3,10±0,25	2,9±0,25	3,10±0,25	3,10±0,25	0,974

Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$);

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P<0,05$)

EGP –Espessura de Gordura da picanha; EGC – Espessura de Gordura Subcutânea; AOL – Área de Olho de Lombo

Análise de Componentes Principais

Foram consideradas na Análise de Componente Principal as variáveis que apresentaram correlação significativa ($P<0,05$) e com valores de R superior a 0,60 consideradas como correlação alta segundo Bisquerra et al. (2004). O primeiro componente principal é dentre os três o que possui maior número de variáveis com correlação (Tabela 8). Dentre as variáveis contidas nesse componente é possível observar que as que possuem maior influência estão relacionadas ao consumo de nutrientes, principalmente os nutrientes de alta digestibilidade.

A digestibilidade dos nutrientes não fibrosos bem como fatores do balanço de nitrogênio e energia também apresentaram correlação como o componente principal 1. Dentre as variáveis de produção somente o teor de lactose do leite demonstrou correlação nesse componente principal. A excreção de nitrogênio fecal (ENfecal) apresentou correlação negativa para o componente principal 1.

O componente principal 2 foi caracterizado principalmente pelo conteúdo de fibra das dietas bem como a ingestão de FDA. Variáveis de degradabilidade da dieta como fração “a” e DE5, DE8 apresentaram correlação negativa no componente principal 2. Variáveis relacionadas ao uso no nitrogênio caracterizaram o componente principal 3. A excreção de

nitrogênio fecal em gramas (NFecal (g)) foi a que demonstrou maior impacto positivo nesse componente, enquanto que as variáveis de balanço de nitrogênio em g (BN (g)) e balanço de nitrogênio em porcentagem (BN (%)) apresentaram correlações negativas.

Tabela 8

Correlações das variáveis em estudo em cada componente, Autovalores e variância dos componentes principais

Componente 1		Componente 2		Componente 3	
Variável	Correlação	Variável	Correlação	Variável	Correlação
NDT	0,98	FDA	0,93	N-Fecal (g)	0,78
EL	0,98	IDFDA	0,87	N-Fecal (%)	0,68
IDMO	0,97	FDN	0,84	DP - MS	0,64
IDMS	0,93	IDFDN	0,72	b -MS	0,6
IDCHOT	0,92	PB	0,64	DPB	-0,68
BE	0,87	DCHOT	-0,6	BN (g)	-0,78
IDCNF	0,83	DEE	-0,66	BN (%)	-0,79
BE (%)	0,83	DE2 - MS	-0,67		
g PM	0,82	a -MS	-0,73		
NT	0,82	DE5 - MS	-0,76		
IDPB	0,82				
%NDT	0,81				
HEM	0,8				
DMS	0,78				
DMO	0,78				
N-Urinário (g)	0,78				
MO	0,77				
% PC	0,77				
DCHOT	0,76				
N-Urinário (%)	0,73				
CHOT	0,73				
MS	0,72				
CNF	0,71				
DPB	0,66				
DFDN	0,66				
DCNF	0,65				
DFDA	0,62				
IDFDN	0,62				
N-Fecal (%)	-0,66				
Autovalor	22,18		12,11		7,28
Variância	35,77		19,53		11,74
Variância Acumulada	35,77		55,30		67,05

O componente principal 1 apresentou autovalor de 22,18 e variância de 35,77%, já o componente principal 2 apresentou autovalor de 12,11 e variância de 19,53%. O componente

principal 3 demonstrou autovalor de 7,28 e variância de 11,74%. Somados os três principais componentes explicam 67,05% da variância dos dados do experimento.

A projeção das dietas nos quadrantes demonstrou seu posicionamento em relação as variáveis dos componentes (Figura 1). As dietas contendo grãos de soja integral, óleo de soja e dieta controle estão inseridas de maneira positiva no componente principal 1, (a direita da linha vertical), demonstrando que seus valores são superiores as demais dietas com relação as variáveis de consumo e digestibilidade dos nutrientes não fibrosos. As dietas controle e contendo óleo de soja ficaram negativas em relação ao componente principal 2, (abaixo da linha horizontal) o que demonstrou menor ingestão de fibra e maior degradabilidade.

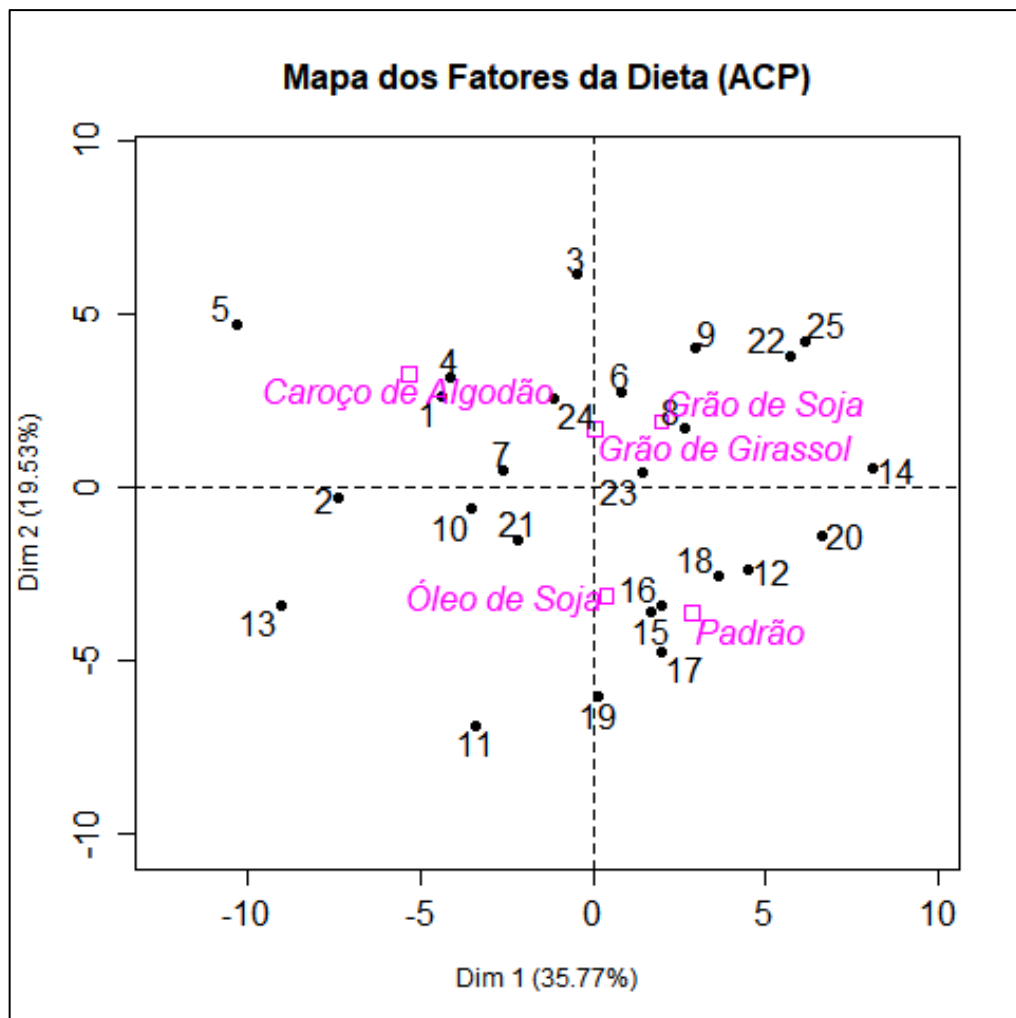


Figura 1 - Projeção das variáveis em estudo de acordo com os componentes principais 1(Dim 1) e 2 (Dim 2)

Embora tenha apresentado valores positivos para o componente principal 1 a dieta com grão de soja integral também foi positiva para o componente principal 2, desmontando boa correlação com os fatores de ingestão também dos nutrientes fibrosos.

A dieta contendo grão de girassol está inserido sobre a linha vertical, mas acima da linha horizontal demonstrando que sofre maior impacto das variáveis do componente principal 2 em relação ao componente principal 1. Já a dieta contendo caroço de algodão se mostrou negativa para o componente principal 1, relacionado a ingestão e digestibilidade dos nutrientes não fibrosos, mas positiva ao componente principal 2, que sofreu maior influência da ingestão de fibra e está negativamente correlacionado a fração solúvel e digestibilidade efetiva das dietas.

4. Discussão

Produção e composição do leite

A inclusão de lipídios à dieta das vacas em lactação não foi capaz de alterar a produção diária de leite, porém, a maior produção foi observada em vacas consumindo grão de soja integral e a menor nas vacas que receberam caroço de algodão na dieta. Embora o consumo de MS das vacas consumindo grão de soja integral não tenham sido o maior observado, o consumo de PB foi maior que as demais dietas, assim como o consumo de CHOT. Esse aumento no consumo desses nutrientes pode estar ligado a maior produção de leite, assim como a maior ingestão total de nitrogênio e a sua menor excreção em relação ao total ingerido. Naves et al. (2016) relataram valores semelhantes na produção de leite de vacas consumindo grão de soja integral e dieta sem adição de lipídios.

A produção média 12,82 kg observada foi inferior a esperada pela formulação da dieta 18 kg, no entanto, dados publicados por Alvim et al. (2019) demonstram que a produção média de primíparas da Raça Girolando 3/4 é de 9,57 kg/dia inferior a observada neste estudo. O NRC (2001) indica que fatores como dieta basal, estágio de lactação, balanço energético, tipo de fonte de lipídio e nível de inclusão dessas fontes na dieta podem influenciar a resposta da

suplementação lipídica sobre a produção de leite. A dieta contendo óleo de soja apresentou menor rendimento do leite em consequência do menor teor de gordura observado no leite de vacas consumindo esta dieta. Os efeitos da adição de lipídios sobre o teor de gordura do leite é bastante variado, podendo variar de acordo com da fonte de lipídio utilizada, da saturação dos lipídios fornecidos, da dieta basal fornecida e o tipo de processamento dessas fontes de lipídios (Rabiee et al., 2012).

A menor quantidade de FDN na dieta contendo óleo de soja ou o fato dos lipídios fornecidos na forma de óleo não estarem protegidos podem ser apontados como as causas da redução no teor de gordura do leite das vacas recebendo óleo de soja. A redução na ingestão do FDN resulta e menor produção de acetato no rúmen, levando a queda no teor de gordura do leite (Bauman e Griinari, 2003). Os AGCC são produzidos na fermentação ruminal e transportados até a glândula mamária pela corrente sanguínea, onde são absorvidos como precursores na síntese de novo, cerca de 17% a 45% da gordura do leite tem origem no acetato e 8% a 25% no butirato (Santos e Fonseca, 2007).

A gordura do leite é o principal componente dos sólidos totais, desta forma, a redução do teor de gordura resultou em menor porcentagem de sólidos totais no leite de vacas consumindo óleo de soja. Murta et al. (2016) reportaram redução no teor de sólidos totais do leite utilizando óleo de soja na dieta para vacas em lactação. Oliveira et al. (2007) em estudo testando altos e baixos níveis de concentrado e lipídio, reportam que a adição de lipídios reduziu tanto os teores de gordura quanto de sólidos totais do leite.

Consumo e Digestibilidade Aparente

Exceto pela dieta contendo caroço de algodão, a adição de fontes de lipídios não alterou o consumo voluntário demonstrando não haver ligação do teor de lipídio da dieta com a ingestão de alimentos. É provável que o teor de fibra da dieta tenha sido fator limitante ao consumo já

que a dieta contendo caroço de algodão apresentou FDN e FDA superiores as demais, bem como, menor teor de carboidratos não fibrosos.

Van Soest (1994) indicou a fibra como um componente limitante da ingestão em função do FDN e FDA serem frações de lenta degradabilidade ruminal, permanecendo assim por mais tempo no interior do trato digestivo, causando enchimento físico e conseqüentemente redução na ingestão.

A maior ingestão de PB foi observada na dieta contendo grão de soja integral. As dietas foram balanceadas isoprotéicas, sendo assim maior consumo de PB observado na dieta contendo grão de soja integral está associado ao maior consumo de MS. De Almeida et al. (2017) observaram maior consumo de PB nas dietas com grão de soja integral e dieta controle comparadas a dieta contendo caroço de algodão, e atribuíram esse aumento a redução da ingestão de MS da dieta contendo caroço de algodão.

A menor ingestão de MS na dieta com caroço de algodão foi responsável também pela redução da ingestão de CHOT e a utilização de fontes de lipídios pela redução do consumo de CNF. Dentre os alimentos fornecidos o concentrado foi o que apresentou maiores teores de CNF, e sua participação foi menor nas dietas com fontes adicionais de lipídios o que explica a redução do consumo desse nutriente. Para Cabiddu et al. (2017) a redução na ingestão de CNF em animais recebendo fontes de lipídio também pode estar relacionada a menor ingestão de alimentos.

A digestibilidade aparente da MS, MO e PB das dietas foi reduzida com a utilização de caroço de algodão como fonte de lipídio. O maior conteúdo de fibras desse grão fez com que houvesse aumento da ingestão de FDA, componente de menor digestibilidade da dieta, resultando na menor digestibilidade aparente. A digestibilidade aparente do EE foi maior na dieta contendo óleo de soja. A maior quantidade ingerida e maior disponibilidade do EE nessa fonte de lipídio resultaram nesse aumento, uma vez que na dieta controle o EE foi oriundo

exclusivamente do concentrado e da silagem e nas dietas contendo grãos os EE estava protegido.

Houve redução da digestibilidade aparente do FDN na dieta com caroço de algodão como fonte adicional de lipídios, assim como na digestibilidade dos CHOT e CNF. O teor de FDN e FDA maior nessa dieta, provavelmente foram limitantes para a digestibilidade dos nutrientes. Rico et al. (2017) também reportaram menor digestibilidade dos nutrientes da dieta contendo caroço de algodão compara a dieta sem inclusão do grão. Freitas et al. (2018) não observaram redução na digestibilidade das dietas com grãos ou óleo de soja, no entanto, o consumo de MS, FDN, FDA e CHOT não sofreu influência da dieta o que reforça a teoria de que a redução da digestibilidade ocorre em função do maior consumo das frações fibrosas da dieta.

A redução das digestibilidade aparentes da maioria dos nutrientes da dieta resultou também em menor porcentagem de NDT na dieta contendo caroço de algodão, demonstrando que, provavelmente em função de sua constituição mais fibrosa, o caroço de algodão limita a quantidade de energia disponível às vacas em lactação.

Degradação *ruminal*

A degradabilidade ruminal da MS e MO foi reduzida com a utilização de fontes de lipídios na dieta. A fração solúvel “a” da MS e MO foi superior na dieta controle em função do maior teor de CNF. A dieta com grão de soja integral demonstrou maior digestibilidade da fração potencialmente degradável da MS e MO, o que demonstra que embora tenha menor fração solúvel seus carboidratos totais são mais digestíveis que das demais. A maior fração solúvel e também a maior taxa de degradação da fração “c” resultaram em maior digestibilidade potencial e efetiva da MS e MO na dieta controle.

A dieta controle apresentou maior fração solúvel “a” da PB e também maior taxa de degradação da fração B. A utilização de grão de soja integral aumentou a fração B da PB. É

possível que a maior quantidade de PB contida nesse grão e seu menor teor de fibra que os demais tenham sido responsáveis por esse resultado. Assim com o na MS e MO a dieta controle apresentou maiores valores de degradabilidade potencial da PB e degradabilidade efetiva em função da maior participação do concentrado nessa dieta e conseqüentemente maior disponibilidade dos nutrientes em função da granulometria do concentrado.

A degradabilidade ruminal dos componentes fibrosos FDN e FDA das dietas não apresentaram fração solúvel. As demais frações e taxas foram superiores na dieta controle, assim como a degradabilidade potencial e as degradabilidade efetivas. Esse resultado explica-se pelo maior conteúdo de CNF dessa dieta, sendo esse o componente de maior digestibilidade nas dietas.

Mudanças nas características químicas e físicas da parede celular e a granulometria das dietas, foram as causas da redução na degradabilidade ruminal das dietas contendo fontes de lipídios. Ítavo et al. (2005) apontaram as características anatômicas, químicas, físicas e principalmente a presença de frações fibrosas de baixa digestibilidade com o a lignina, como os principais fatores que alteram a degradabilidade ruminal dos alimentos.

Embora o principal aspecto abordado nesse estudo seja as fontes de lipídios utilizadas, não foram realizadas análises da degradabilidade ruminal do EE. Segundo Jenkins (1994) o desaparecimento dos lipídios no rúmen se dá, quase que em sua totalidade por passagem, a quantidade de ácidos graxos absorvida pelo epitélio ou transformada e AGCC é mínima, não sendo necessário considerá-la em estudo de degradabilidade ruminal.

Balanço de *Nitrogênio*

Todas as dietas apresentar valores positivos para o balanço de nitrogênio demonstrando que as dietas foram capazes de suprir as exigências das vacas em lactação. Os resultados obtidos

demonstraram maior ingestão de nitrogênio em vacas consumindo grãos de soja integral, o que se deve a maior ingestão de proteína bruta proveniente dessa dieta.

Todas as dietas apresentaram excreção de nitrogênio urinário em porcentagem do consumido semelhantes o que indicou um metabolismo semelhante do nitrogênio consumido. Essa semelhança também foi observada quando se analisou a excreção de nitrogênio no leite em porcentagem do total ingerido, onde não foi observada diferença entre as dietas. O balanço de nitrogênio em porcentagem do consumido demonstrou que as dietas contendo grão de girassol e óleo de soja tiveram maior porcentagem de nitrogênio retido no corpo, ou seja, que não foi excretado por fezes, urina e leite.

Balanço *Energético*

A ingestão de El foi reduzida com o fornecimento de caroço de algodão como fonte de lipídio. A menor ingestão de alimentos, a ingestão de alimento mais fibrosos e de menor digestibilidade foram as responsáveis pelo menor aporte energético para vacas consumindo essa dieta.

A utilização de energia foi semelhante entre as dietas para manutenção e crescimento, no entanto, vacas recebendo grão de soja integral tiveram maior gasto energético com a lactação que vacas consumindo óleo de soja. Esse resultado pode ser explicado pela maior produção de leite das vacas nessas dietas assim como o maior teor de gordura no leite.

O balanço energético em porcentagem do ingerido foi positivo para todas as dietas. O fornecimento de caroço de algodão reduziu a porcentagem do balanço energético em relação a dieta controle, demonstrando que em função de uma redução no consumo a energia excedente após os gastos com manutenção, crescimento e lactação foi inferior.

A suplementação com fontes de lipídios resultou em aporte maior energético. Essa suplementação aumenta a densidade energética da dieta sendo favoráveis para eficiência alimentar de animais em início de lactação, momentos em que ocorre um déficit energético

nutricional (Palmquist et al., 2011; Paula et al., 2012). No entanto, como o balanço energético também foi positivo para as vacas consumindo dieta controle, a baixa produção de leite assim como o balanceamento das dietas esperando maior produção de leite podem ter sido responsáveis pelos resultados de balanço energético.

Ultrassonografia de carcaça e Escore de Condição Corporal

Os resultados da ultrassonografia bem como do ECC demonstraram semelhança entre os efeitos das dietas na condição corporal das vacas. Esse resultado pode ser explicado pelo balanço energético e de nitrogênio positivo ocorrido em todas as dietas.

No início da lactação o balanço energético é mais negativo, ocorrendo maior exigência de energia e maior demanda de mobilização das reservas teciduais (Butler, 2000). Com a maior mobilização da reserva corporal ocorre perda de peso e redução progressiva do ECC (Montiel et al., 2005).

O fato dos balanços de energia e nitrogênio serem positivos fez com que não houvesse mobilização corporal desses compostos e conseqüentemente não ocorresse alterações na condição corporal das vacas durante o período experimental. As dietas se mostraram eficientes em manter o aporte de nutrientes no início da lactação, período onde geralmente ocorre balanço energético negativo e conseqüentemente mobilização da gordura corporal.

Análise de Componentes Principais

A ACP agrupou as variáveis deste estudo em três componentes principais que juntos são capazes de explicar 67,05% da variância dos resultados. O primeiro componente explica cerca de 36% e é composto principalmente pelas variáveis ligadas a ingestão dos componentes de maior digestibilidade da dieta como PB, CHOT e CNF, assim como as variáveis de digestibilidade como NDT. Esse componente demonstra correlação negativa com a excreção

de nitrogênio fecal demonstrando mais uma vez que as dietas inseridas de maneira positiva nesse componente apresentaram melhores resultados para utilização dos nutrientes da dieta. A presença da excreção de N urinário nesse componente reforça a ideia de que se trata de um componente que indica o metabolismo dos nutrientes.

O segundo componente principal foi capaz de explicar aproximadamente 20% da variância dos dados e agrupou as variáveis e conseqüentemente as dietas em função principalmente do conteúdo de FDN e FDA e pela correlação negativa com a degradabilidade ruminal dessas dietas. Nesse componente estão inseridas as dietas onde a degradabilidade dos nutrientes foi inferior.

A ACP foi capaz de demonstrar de maneira sistêmica o consumo e utilização dos nutrientes das dietas. A presença da dieta controle na direção positiva do componente 1 reforça o resultado de melhor ingestão de alimentos e nutrientes, assim como, melhor digestibilidade dos mesmos. Essa dieta está inserida de maneira negativa no componente 2 demonstrando correlação negativa com as variáveis que indicam o consumo das frações fibrosas.

A dieta com óleo de soja está posicionada de maneira positiva no componente principal 1 de maneira mais discreta o que demonstra que as variáveis de consumo e digestibilidade influenciaram pouco nessa dieta. Por estar negativa no componente 2 com maior distância entre o eixo é possível afirmar que a maior influência sofrida pela dieta com óleo de soja está relacionada de maneira negativa com o consumo de FDN e FDA.

A dieta com grão de soja integral está inserida no componente principal 1 positivamente, assim como no componente 2. Essa dieta apresentou valores intermediários de consumo de nutrientes mais digestíveis e também das frações fibrosas, sofrendo influência tanto do consumo quanto da utilização dos nutrientes.

O fornecimento de grão de girassol resultou em maior consumo das frações fibrosas e um aproveitamento dos nutrientes mediano em relação ao componente principal 1, o que fez com

que essa dieta apresentasse correlação positiva com o componente 2 e praticamente nula com o componente 1.

A dieta com caroço de algodão está inserida de maneira negativa no componente 1, resultado de menor ingestão de nutrientes digestíveis e menor aproveitamento dos mesmos, em contrapartida esta dieta apresentou maior correlação com o componente 2 que demonstra maior ingestão de fibra.

Desta forma é possível afirmar que a Análise de Componentes Principais foi eficiente para avaliar as dietas quanto ao consumo e aproveitamento dos nutrientes demonstrando graficamente a influência das variáveis estudadas em cada uma das dietas.

5. Conclusão

A utilização de grãos como fontes de ácidos graxos poli-insaturados demonstrou reduzir a digestibilidade aparente e degradabilidade ruminal dos nutrientes das dietas, no entanto apresentaram balanço energético e de nitrogênio positivos, bem como, mantiveram a condição corporal das vacas em lactação.

A inclusão de grão de soja integral como fonte adicional de ácidos graxos poli-insaturados resultou em maior produção de leite sendo recomendado seu uso para como fonte adicional de lipídios.

Referências

- Alvim, M. J.; Paciullo, D. S. C.; Carvalho, M. M.; Aroeira, L. J. M.; Carvalho, L. A.; Novaes, L. P.; Gomes, A. T.; Miranda, J. E. C.; Ribeiro, A. C. C. L., 2019: *Sistema de produção de leite com recria de novilhas em sistemas silvipastoris*. EMBRAPA-CNPGL, Juiz de Fora.
- Association of Official Analytical Chemists, A., 2000: *Official methods of analysis*. (AOAC, Ed.) 13th edn. Washington.

- Bauman, D. E.; Griinari, J. M., 2003: Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition.*, **23**, 203–227.
- Bisquerra, R.; Sarriera, J. C.; Martínez, F., 2004: *Introdução à estatística: enfoque informático com o pacote estatístico SPSS*. Artmed, Porto Alegre.
- Bodenmüller Filho, A.; Damasceno, J. C.; Terezinha, I.; Previdelli, S.; Santana, R. G.; Eduardo, C.; Oliveira, C. De; Tadeu, G., 2010: Revista Brasileira de Zootecnia Tipologia de sistemas de produção baseada nas características do leite Typology of production systems based on the milk characteristics. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, **39**, 1832–1839.
- Butler, W. R., 2000: Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science.*, **60–61**, 449–457.
- Cabiddu, A.; Addis, M.; Fiori, M.; Spada, S.; Decandia, M.; Molle, G., 2017: Pros and cons of the supplementation with oilseed enriched concentrates on milk fatty acid profile of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research.*, **147**, 63–72.
- De Almeida, G. F.; Del Valle, T. A.; De Paiva, P. G.; De Jesus, E. F.; Barletta, R. V.; Gandra, J. R.; Bettero, V. P.; Takiya, C. S.; Rennó, F. P., 2017: Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. *Animal Production Science.*, **57**, 122–128.
- de Araújo, C. E.; Gandra, J. R.; Barlett, R. V.; Mingoti, R. D.; Bettero, R. V.; de Jesus, E. F.; Del Valle, T. A.; Ghizzi, L. G.; Silva, J. R.; Rennó, F. P., 2018: Dietary calcium salts of fatty acids and soybean oil effects on mid-lactation dairy cows performance. *Archivos de Zootecnia.*, **67**, 119–125.
- Dillon, W. R.; Goldstein, M., 1984: *Multivariate Analysis: Methods and applications*. 1st edn. John Wiley e Sons, New York.
- Freitas, J. E.; Takiya, C. S.; Del Valle, T. A.; Barletta, R. V.; Venturelli, B. C.; Vendramini, T. H. A.; Mingoti, R. D.; Calomeni, G. D.; Gardinal, R.; Gandra, J. R.; Bettero, V. P.; Ferreira de

Jesus, E.; Oliveira, M. D. S.; Rennó, F. P., 2018: Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. *Journal of Dairy Science.*, **101**, 7881–7891.

Gandra, J. R.; Mingoti, R. D.; Barletta, R. V.; Takiya, C. S.; Verdurico, L. C.; Freitas, J. E.; Paiva, P. G.; Jesus, E. F.; Calomeni, G. D.; Rennó, F. P., 2016a: Effects of flaxseed, raw soybeans and calcium salts of fatty acids on apparent total tract digestibility, energy balance and milk fatty acid profile of transition cows. *Animal.*, **10**, 1303–1310.

Gandra, J. R.; Takiya, C. S.; de Oliveira, E. R.; de Paiva, P. G.; de Goes, R. H. de T. e. B.; Gandra, É. R. de S.; Araki, H. M. C., 2016b: Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, **45**, 130–137.

Gutierrez, G. S.; Lana, R. P.; Teixeira, C. R. V.; Veloso, C. M.; Rennó, L. N., 2019: Performance of crossbred lactating cows at grazing in response to nitrogen supplementation and different levels of concentrate feed. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, **71**, 1005–1014.

Hall, M. B., 2000: *Neutral Detergent-soluble Carbohydrates. Nutritional Relevance and Analysis*. Gainesville: University of Florida.

Ítavo, C. C. B. F.; Ítavo, L. C. V.; Silva, F. F.; Veloso, C. M.; Oliveira, R. L., 2005: Aspectos da fermentação ruminal de lipídios. In: Ítavo, L. C. V. & C. C. B. F. Ítavo (eds.), *Nutrição de ruminantes: aspectos relacionados à digestibilidade e ao aproveitamento de nutrientes*. 1st edn. UCDB, Campo Grande, p. 184.

Ítavo, L. C. V.; Valadares Filho, S. D. C.; Da Silva, F. F.; Valadares, R. F. D.; Cecon, P. R.; Ítavo, C. C. B. F.; De Moraes, E. H. B. K.; Paulino, P. V. R., 2002: Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* e rações concentradas utilizando indicadores internos. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, **31**, 1024–1032.

- Jenkins, T. C., 1994: Regulation of Lipid Metabolism in the Rumen. *The Journal of Nutrition.*, **124**, 1372S-1376S.
- Mertens, D.; Allen, M.; Carmany, J.; Clegg, J.; Davidowicz, A.; Drouches, M.; Frank, K.; Gambin, D.; Garkie, M., 2002: Tga-1-Tawss.Pdf.
- Mertens, D. R., 1993: Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: Jung, H. G., D. R. Buxton & R. D. Hatfield (eds.), *Forage cell wall, structure and digestibility*. American Society of Agronomy, Madison, pp. 535–570.
- Montiel, F.; Ahuja, C., 2005: Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: A review. *Animal Reproduction Science.*, **85**, 1–26.
- Muñoz, C.; Sánchez, R.; Peralta, A. M. T.; Espíndola, S.; Yan, T.; Morales, R.; Ungerfeld, E. M., 2019: Effects of feeding unprocessed oilseeds on methane emission, nitrogen utilization efficiency and milk fatty acid profile of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology.*, **249**, 18–30.
- Murta, R. M.; Veloso, C. M.; Pires, A. J. V.; Da Silva, F. F.; De Carvalho, G. G. P.; Filho, A. E.; De Albuquerque Maranhão, C. M.; Da Cruz, C. H., 2016: Intake, apparent digestibility, production, and composition of milk from cows fed diets with different sources of lipids. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, **45**, 56–62.
- Naves, A. B.; Freitas Júnior, J. E.; Barletta, R. V.; Gandra, J. R.; Calomeni, G. D.; Gardinal, R.; Takiya, C. S.; Vendramini, T. H. A.; Mingoti, R. D.; Rennó, F. P., 2016: Effect of raw soya bean particle size on productive performance and digestion of dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition.*, **100**, 778–788.
- Nogueira, R. G. S.; Perna Junior, F.; Pereira, A. S. C.; Rodrigues, P. H. M., 2019: Nutrient digestibility and changes in feeding behavior of cattle fed cottonseed and vitamin E. *Scientia Agricola.*, **76**, 112–122.
- NRC, 2001: *Nutrient requirements of dairy cattle* 7th edn. The National Academies,

Washington.

Oliveira, M. A.; Reis, R. B.; Ladeira, M. M.; Pereira, I. G.; Franco, G. L.; Saturnino, H. M.; Coelho, S. G.; Artunduaga, M. A. T.; Faria, B. N.; Souza Júnior, J. A., 2007: Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, **59**, 759–766.

Osrkov, E. R.; McDonald, I., 1979: The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of forage. *Journal of Agricultural Science.*, **92**, 499–503.

Palmquist, D. L.; Mattos, W. R. S., 2011: Metabolismo de lipídios. In: Berchielli, T. T., A. V. Pires & S. G. Oliveira (eds.), *Nutrição de Ruminantes*. 2nd edn. Funep, Jaboticabal, pp. 299–322.

Paula, E. F. E.; Maia, F. P.; Chen, R. F. F., 2012: Óleos Vegetais Na Nutrição De Ruminantes, **9**, 2075–2103.

R Development Core Team, 2018: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rabiee, A. R.; Breinhild, K.; Scott, W.; Golder, H. M.; Block, E.; Lean, I. J., 2012: Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science.*, **95**, 3225–3247.

Rico, J. E.; de Souza, J.; Allen, M. S.; Lock, A. L., 2017: Nutrient digestibility and milk production responses to increasing levels of palmitic acid supplementation vary in cows receiving diets with or without whole cottonseed. *Journal of Animal Science.*, **95**, 436–446.

Santos, E. F. N.; Santoro, K. R.; Ferreira, R. L. C.; Santos, E. de S., 2010: Formação De Grupos Produtivos Em Vacas Leiteiras Por Meio De Componentes Principais. *Rev. Bras. Biom.*, **28**, 15–22.

Santos, M. V.; Fonseca, L. F. L., 2007: *Estratégias para o Controle de mastite e Melhoria na*

qualidade do leite. (Santos, M. V. & L. F. L. Fonseca, Eds.). Manole, São Paulo.

Simioni, F. J.; Maluche Baretta, C. R. D.; Stefani, L. M.; Lopes, L. S.; Tizziani, T., 2013: Qualidade do leite proveniente de propriedades com diferentes níveis de especialização. *Semina: Ciências Agrárias*., **34**, 1901–1912.

Sniffen, C. J.; O'Connor, J. D.; Van Soest, P. J.; Fox, D. G.; Russel, J. B., 1992: A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. *Journal of animal science*., **70**, 3562–3577.

Ter Braak, C. J. F.; Prentice, I. C., 1988: A Theory of Gradient Analysis. *Advances in Ecological Research*., **18**, 271–317.

Van Soest, P. J.; Robertson, J. B., 1985: *Analysis of forages and fibrous foods* 1st edn. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Van Soest, P. J., 1994: *Nutritional ecology of the ruminant* 2nd edn. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Vazirigohar, M.; Dehghan-Banadaky, M.; Rezayazdi, K.; Nejati-Javaremi, A.; Mirzaei-Alamouti, H.; Patra, A. K., 2018: Short communication: Effects of diets containing supplemental fats on ruminal fermentation and milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science*., **101**, 6133–6141.

Verdon, M.; Rawnsley, R.; Raedts, P.; Freeman, M., 2018: The behaviour and productivity of mid-lactation dairy cows provided daily pasture allowance over 2 or 7 intensively grazed strips. *Animals*., **8**.

ARTIGO 3**Análise de Componentes Principais do desempenho e da avaliação *in vitro* de dietas para vacas leiteiras contendo diferentes fontes de lipídios**

Principal Component Analysis of performance and in vitro evaluation of diets for dairy cows containing different sources of lipids

Redigido conforme normas da revista Animal Feed Science and Technology

Resumo

A hipótese testada foi que a adição de diferentes fontes de lipídios à dieta não altera a qualidade da dieta, o consumo e por consequência a produção de leite. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes fontes adicionais de lipídios na dieta de vacas lactantes sobre o desempenho e qualidade da dieta por meio da digestibilidade e da cinética de degradação *in vitro* e demonstrar através da Análise de Componentes Principais (ACP) quais variáveis apresentam maior influência em cada dieta. Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir), em início de lactação (35 ± 8) pós-parto, com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg distribuídas aleatoriamente em um Quadrado Latino 5 x 5. As dietas foram balanceadas afim de atender as exigências nutricionais de vacas de primeira cria com produção média de 18 kg leite/dia, sendo isoprotéicas e isoenergéticas. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro com diferentes fontes de lipídios: caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja para atingir o valor de extrato etéreo 70 g/kg. A dieta sem adição de grãos apresentou maior digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB). A dieta contendo óleo de soja apresentou maior digestibilidade do extrato etéreo (EE). A produção de gás *in vitro* na dieta com óleo de soja foi aproximadamente 1 mL/100g de amostra superior que a dieta controle e 2 mL/100g de amostra maior que as dietas contendo grãos como

fonte de lipídios. O fornecimento de caroço de algodão como fonte de lipídio causou redução na ingestão diária de matéria seca (IDMS) de aproximadamente 2 kg. A dieta contendo caroço de algodão apresentou menor produção de leite 11,40 kg comparada a dieta contendo grão de soja integral 14,58 kg. Os dois componentes principais obtidos pela ACP dividem a variabilidade total dos dados em um grupo relacionado à digestibilidade da dieta e outro a produção de leite. Concluiu-se que o aumento do aporte energético de dietas para vacas leiteiras através da adição de fontes de lipídios, pode ser efetuado com a adição de grão de soja integral sem que haja prejuízos no consumo dos alimentos e na produção de leite, não sendo recomendado o uso das demais fontes de lipídios estudadas.

Palavras-chave: DIVMS, oleaginosas, produção de gás in vitro, vacas leiteiras

Abstract

The tested hypothesis was that the addition of different sources of lipids to the diet would not change the quality of the diet, consumption and consequently milk production. Thus, the objective was to evaluate the effects of different additional sources of lipids in the diet of lactating cows on the performance and quality of the diet through in vitro digestibility and degradation kinetics and to demonstrate through Principal Component Analysis (PCA) which variables have greater influence on each diet. Five primiparous Girolando cows (3/4 Holstein 1/4 Gir), in early lactation (35 ± 8) postpartum, with an average body weight of 410 ± 7.15 kg were randomly distributed in a 5 x 5 Latin Square. The diets were balanced in order to meet the nutritional requirements of cows with an average production of 18 kg milk/day, being isoproteic and isoenergetic. The treatments consisted of five experimental diets, one standard diet without an additional source of lipid and four with different sources of lipids: cottonseed, sunflower seed, whole soybean and soybean oil to reach the value of ether extract 70 g/kg. The diet without addition of grains showed greater digestibility of dry matter (DM), organic matter (OM) and

crude protein (CP). The diet containing soybean oil showed greater digestibility of the ether extract (EE). The *in vitro* gas production in the soybean oil diet was approximately 1 mL/100g of sample higher than the standard diet and 2 mL/100g of sample larger than the diets containing grains as a source of lipids. The supply of cottonseed as a source of lipid caused a reduction in daily dry matter intake (DMI) of approximately 2 kg. The diet containing cottonseed had a lower milk production of 11.40 kg compared to a diet containing whole soybean 14.58 kg. The two main components obtained by the ACP divide the total variability of the data into one group related to the digestibility of the diet and the other to milk production. It was concluded that the increase in the energy supply of diets for dairy cows through the addition of lipid sources, can be done with the addition of whole soybean without harming food consumption and milk production, and the use of the other sources of lipids studied is not recommended.

Keywords: dairy cows, *in vitro* gas production, IVDMD, oilseeds

1. Introdução

Na fase inicial da lactação a capacidade de consumo de alimentos reduz e, simultaneamente esse é o momento de maior demanda energética em função da quantidade de leite produzida (Grummer, 1988). Sendo assim, é necessária uma suplementação que aumente o aporte energético da dieta sem que haja necessidade de maior consumo. A suplementação lipídica funciona como ferramenta para alcançar esse objetivo, já que melhora o aporte energético da dieta (NRC, 2001; Rabiee et al., 2012).

Embora tenha diversas vantagens, a utilização de fontes adicionais de lipídios para vacas em lactação pode resultar em menor consumo de alimento e menor digestibilidade da dieta (Cabiddu et al., 2017). Os lipídios presentes na maioria dos alimentos são constituídos de maiores proporções de ácidos graxos insaturados e, quando a dieta contém teores de lipídios superiores a 6%, a degradação dos alimentos pode ser prejudicada (Van Soest, 1994). Esses

ácidos graxos são tóxicos aos microrganismos ruminais principalmente bactérias Gram positivas e protozoários, além disso, os lipídios aderem as partículas dos alimentos criando uma barreira física que impede a ação dos microrganismos (Jenkins, 1994).

Para reduzir os efeitos deletérios da adição de lipídios à dieta o uso de grãos de oleaginosas pode ser uma alternativa, uma vez que esses grãos apresentam sua porção lipídica armazenada intracelularmente, proporcionando liberação lenta no rúmen, o que reduz o efeito prejudicial dos altos teores na dieta (Zakrys et al., 2008).

Diversas pesquisas vêm demonstrando variados efeitos da adição de diferentes grãos de oleaginosas e seus óleos à dieta de vacas em lactação (de Araújo et al., 2018; Gandra et al., 2016; Muñoz et al., 2019; Rico et al., 2017). No entanto, a maior parte desses estudos utilizam apenas uma fonte de lipídio, ou trabalham com grãos pouco utilizados no Brasil e abordam, em sua maioria, a produção e a digestibilidade da dieta de forma isolada. De acordo com a CONAB (2019) os grãos de oleaginosas, com uso para a produção animal, mais produzidos no Brasil são soja, algodão e girassol, o que justifica a utilização desses grãos como fontes de lipídios.

Alguns autores relatam que a utilização de grãos de oleaginosas ou seu óleo afetam a digestibilidade da dieta (Bettero et al., 2017; Cabiddu et al., 2017; Ítavo et al., 2015). Técnicas de avaliação de digestibilidade *in vitro* têm se mostrado eficazes, com resultados semelhantes aos encontrados na digestibilidade *in vivo* e no teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos através de análises químicas (Senger et al., 2007; Silveira et al., 2009) e portanto, serão utilizadas neste estudo para determinação da digestibilidade da dieta.

A análise univariada de dados pode ser incompleta tendo em vista a avaliação individual e não simultânea como ocorre na multivariada que leva em consideração as correlações entre os dados. O método de Análise de Componentes Principais (ACP) proporciona uma avaliação das variáveis agrupadas por meio de escores dos componentes, gerando resultados de melhor avaliação das interações entre as variáveis (Dillon e Goldstein, 1984). Alguns autores têm

utilizado a ACP para avaliação de grupos genéticos de vaca leiteiras (Santos et al., 2010), sistemas de produção (Bodenmüller Filho et al., 2010), propriedades produtoras de leite com diferentes graus de tecnificação (Simioni et al., 2013) e efeitos da dieta para vacas leiteiras (Vazirigothar et al., 2018).

A hipótese testada foi que a adição de diversas fontes lipídios à dieta resulte em diferentes resultados na produção de leite e digestibilidade em função de distintos aportes energéticos e de composição da dieta e que a ACP seja capaz de agrupar as variáveis e os tratamentos pelas correlações existentes. Desta forma o objetivo foi avaliar os efeitos de diferentes fontes adicionais de lipídios para vacas em lactação sobre a produção de leite, consumo total, a digestibilidade da dieta e seus componentes e demonstrar através da ACP quais variáveis são de maior influência em cada dieta.

2. Material e Métodos

Animais, delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi realizado na Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco e foi aprovado pelo Comitê de Ética para o uso de animais em experimento (protocolo nº 011/2016). Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês ¼ Gir), em início de lactação (35 ± 8 média de dias pós-parto; erro padrão médio), com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg (média de peso corporal; erro padrão médio), distribuídas aleatoriamente em um quadrado latino 5 x 5. As vacas foram alojadas em baias individuais com acesso livre a água. A alimentação foi fornecida para um consumo *ad libitum* na forma de ração total mista (Tabela 1).

As dietas foram balanceadas afim de atender as exigências nutricionais de vacas de primeira cria com produção média de 18 kg leite/dia, sendo isoprotéicas e isoenergéticas. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte

adicional de lipídio e quatro com diferentes fontes de lipídios, caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja para atingir o valor de extrato etéreo 70 g/kg.

Tabela 1

Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).

	Dietas				
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja
Ingredientes					
Silagem de Milho	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0
Milho Triturado	383,0	264,5	209,4	316,0	406,7
Farelo de Soja	167,0	42,9	97,6	-	101,3
Amireia – 20	20	20	20	20	20
Sal Mineral	30	30	30	30	30
Caroço de Algodão	-	242,6	-	-	-
Grão de Girassol	-	-	243,0	-	-
Grão de Soja integral	-	-	-	234,0	-
Óleo de Soja	-	-	-	-	42,0
Composição química					
MO	936	902	896	923	916
PB	180	180	180	180	180
EE	32	70	70	70	70
aFDN	305	401	362	332	290
FDA	231	292	279	234	210
Lignina	29.28	44.25	35.96	31.31	28.52
CHOT	724	652	646	673	666
CNF	419	251	284	341	376
NDT	759	612	723	731	736
Ácidos Graxos					
C14:0	0.02	0.31	0.02	0.02	0.01
C16:0	3.46	13.48	5.53	7.81	7.49
C16:1	0.03	0.2	0.02	0.1	0.02
C18:0	0.66	1.37	2.26	1.85	1.93
C18:1	7.79	12.67	19.92	16.12	16.28
C18:2	17.88	39.92	40.11	38.74	37.97
C18:3	0.98	0.66	0.75	3.68	0.79
C:20	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05
C20:1	0.04	0.04	0.04	0.05	2.53
C22	0.04	0.04	0.52	0.05	0.04
Outros	1.05	1.25	0.79	1.52	2.89

MO – Matéria Orgânica; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; aFDN – Fibra em Detergente Neutro testada com amilase; FDA - Fibra em Detergente Ácido; CHOT – Carboidratos Totais; CNF – Carboidratos não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

C14:0 – Ácido Mirístico; C16:0 – Ácido Palmítico; C16:1 – Ácido Palmitoleico; C18:0 – Ácido Estearico; C18:1 – Ácido Oleico; C18:2 – Ácido Linoleico; C18:3 – Ácido Linolênico; C:20 – Ácido Araquidônico; C20:1 – Ácido Gadolêico; C22 – Ácido Behênico.

Procedimentos Experimentais

O experimento teve duração de 126 dias, sendo o primeiro período de adaptação e cindo de avaliação. Cada período experimental teve duração de 21 dias, conforme utilizado por (Gutierrez et al., 2019 e Verdon et al., 2018). As amostragens foram realizadas nos últimos três dias de cada período experimental. Antes do início do período experimental as vacas passaram por um período de 21 dias de adaptação ao manejo e instalações recebendo como alimentação dieta contendo 40% de silagem de milho e 60% de concentrado. As vacas receberam alimentação duas vezes ao dia às 6 e 16 horas.

A ordenha foi realizada às 5 e 15 horas. A coleta do leite foi realizada em quatro ordenhas consecutivas nos dois últimos dias de cada período experimental. As amostras foram armazenadas a 4°C com Bronopol-B2 até o momento da análise. A produção de leite foi determinada através da pesagem do leite nos últimos três dias de cada período experimental. A correção do leite para 4% de gordura foi realizada através da equação do (NRC, 2001), $LCG = 0,4 \times \text{Produção} + 15 \times \% \text{GOR}/100 \times \text{Produção}$. Onde: LCG = Leite corrigido para 4% de gordura em kg/d; Produção = produção de leite em kg/d; % GOR = porcentagem de gordura do leite.

As amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas no primeiro e sétimo dia de cada período experimental sendo armazenadas a -20°C. As amostras foram homogeneizadas e foi obtida uma amostra de cada alimento por tratamento no período. Após esse procedimento foram secas a 55°C por 72 horas posteriormente foram trituradas em moinho tipo Wiley (Marconi MA340, Piracicaba, Brasil) com uma peneira de 1mm. Posteriormente foram avaliados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro testada com amilase (aFDN). Amostras dos grãos inteiros foram armazenadas para serem usadas nas análises de digestibilidade *in vitro* e produção cumulativa de gás da mesma maneira que foram fornecidas aos animais sem que houvesse quebra dos grãos.

Digestibilidade in vitro da dieta

Para determinação da digestibilidade *in vitro* (DIV) foi utilizada a metodologia descrita por Tilley & Terry (1963) adaptada para Ankom Daisy system (Ankom Technology Corp., NY, USA) descrita por Holden, 1999. Amostras de 0,5 g de cada alimento foram acomodadas em sacos filtro de polipropileno sintético (100 g/m²) procedendo posterior fechamento térmico. As amostras foram acondicionadas, em triplicada, em jarros com válvula de Bunsen (30 sacos por jarro, sendo 2 sem amostras para correções de contaminação). Cada jarro continha 1,6 litros de solução tampão (solução A = (g/L): 10.0 g KH₂PO₄, 0.5 g MgSO₄·7H₂O, 0.5 g NaCl, 0.1 g CaCl₂·2H₂O e 0.5 g ureia; Solução B= (g/100 mL): 15.0 g Na₂CO₃; 1.0 g Na₂S₉H₂O). A solução final apresentava A:B 5:1 afim de obter um pH de 6,8. Foi introduzido em cada jarro 400 mL de líquido ruminal, coado e transportado em ambiente térmico.

Após esse processo foi aplicado CO₂ em cada jarro por 5 segundos. Os jarros foram incubados por 48 horas com agitação contínua e temperatura constante de 39°C. Após esse período foram adicionados 40 mL de HCl 6N e 8 g de pepsina em cada jarro. Os jarros foram recolocados em processo de incubação por mais 24 horas e ao final das 72 horas foram drenados, os sacos com as mostras lavados com água destilada e posteriormente secos em estufa a 105°C por 16 horas.

O coeficiente de digestibilidade *in vitro* de cada nutriente da dieta foi determinado através da equação $DIV=100-((NI-NF)/NI)$, onde NI=quantidade do nutriente incubado; NF=quantidade de nutriente que que sobrou no saco filtro de polipropileno sintético.

Produção Cumulativa in vitro de gases

A análise da produção de gás foi realizada utilizando o equipamento Ankom Rf Gas Production System (Ankom Technology, NY, USA), dotado de 24 frascos equipados com sensores de pressão (faixa de pressão -69; +3447 kPa; resolução ± 0,27; precisão ±0,1%) ligados

a um computador via wireless. As amostras dos alimentos foram pesadas (0,5000 g) e acondicionadas em sacos filtro de polipropileno sintético medindo 25 cm², os sacos foram lacrados termicamente e foram inseridos nos frascos. Em cada frasco foram adicionados 100 mL de solução tampão a 39°C (Solução Tampão A (g/L): 10,0 g KH₂PO₄, 0,5 g MgSO₄·7H₂O, 0,5 g NaCl, 0,1 g CaCl₂·2H₂O e 0,5 g ureia; Solução Tampão B (g/100 mL): 15,0 g Na₂CO₃, 1,0 g Na₂S₉H₂O na proporção de 5:1 A:B para tingir o pH 6,8) e 25 mL de líquido ruminal filtrado e acondicionado em ambiente térmico, proveniente de 3 bovinos fistulados previamente alimentados durante 7 dias com dieta semelhante a utilizada neste estudo, contendo silagem de milho, concentrado e grãos de oleaginosas. Antes de serem fechados, os frascos foram purgados com CO₂ por 3 segundos. Os frascos foram mantidos em agitação sob temperatura constante de 39°C. A mensuração da produção de gás ocorreu durante 48 horas a cada 5 minutos, e ao final foi realizada a conversão para produção cumulativa de gases (mL/100 g de amostra).

Os parâmetros da produção de gás foram obtidos por meio do modelo logístico bicompartimental proposto por Schofield et al., 1994: $Y = A / \{1 + \exp[2 + 4 * B * (\text{Lag} - t)]\} + D / \{1 + \exp[2 + 4 * E * (\text{Lag} - t)]\}$, onde: Y = volume total de gás no tempo t (extensão da degradação); A = volume de gás (mL) de degradação rápida; D = volume de gás (mL) de degradação lenta; B = taxa de degradação da fração rápida (/hora); E = taxa de degradação da fração lenta (/hora); e Lag = tempo de colonização das bactérias (h); t = tempo 0 a 48 horas.

Análises químicas

As amostras de alimentos foram submetidas a análises laboratoriais para avaliação dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) segundo os métodos 930.15, 942.05, 976.05 e 920.39 AOAC, 2000, determinação do teor de fibra em detergente neutro (aFDN) de acordo com Mertens et al., 2002 usando alfa-amilase (Termamyl 120 L®), teor de fibra em detergente ácido (FDA) pelo método de Van Soest and Robertson, 1985.

Análise estatística

Para determinação do modelo matemático da cinética de produção de gás de cada dieta os dados foram analisados através do PROC NLIN do software SAS University. Foi realizada uma análise de Correlação de Pearson entre as variáveis. Os dados foram estandardizados para que não houvessem diferenças nas dimensões e na variação das variáveis, após esse processo passaram por uma análise multivariada de Análise de Componente Principal (APC). A análise Correlação de Pearson e ACP foram realizadas com auxílio do pacote Factoshiny do software R (R Development Core Team, 2018), utilizando a metodologia de Ter Braak and Prentice, 1988.

Para análise estatística os dados foram processados utilizando o pacote Exp.Des.pt do software R (R Development Core Team, 2018). Foram realizados teste de Shapiro-Wilk para determinação da normalidade dos dados e teste de Bartlett para determinação da homogeneidade. Após atendidos os pressupostos foi realizada uma análise de variância em um Quadrado Latino 5 x 5. As médias foram analisadas pelos testes de Dunnett para comparação dos tratamentos com fonte de lipídios e o tratamento controle e teste de Tukey para comparação de todos. Para ambos foi utilizado 5% de significância de acordo com o modelo matemático $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k(i, j) + e_{ijk}$, onde: Y_{ijk} = valor da variável dependente; μ = média geral; A_i = efeito da vaca; P_j = efeito do período; $T_k(i, j)$ = efeito do tratamento dentro de cada vaca e período; e_{ijk} = erro experimental.

3. Resultados

Digestibilidade in vitro da dieta

Os maiores valores da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e matéria orgânica (DIVMO) foram observadas nas dietas controle e dieta contendo óleo de soja, ($P < 0,001$; Tabela 2). A adição de grãos à dieta causou uma redução de aproximadamente 18% e 19% da DIVPB ($P < 0,001$). Todas as dietas contendo fontes adicionais de lipídios apresentaram maior digestibilidade *in vitro* do extrato etéreo (DIVEE) comparadas a dieta controle ($P < 0,001$), entre elas a dietas contendo óleo de soja apresentou maior valor de DIVEE.

Tabela 2

Médias e Erro médio da digestibilidade *in vitro* da dieta (g/kg) em função dos tratamentos experimentais.

	Dietas				
	Matéria Seca	Matéria Orgânica	Proteína Bruta	Extrato Etéreo	FDN
Ingredientes					
Silagem	712,8	698,9	876,0	363,3	549,8
Concentrados	977,9	974,8	981,0	426,0	902,7
Caroço de Algodão	212,8	196,0	388,6	553,0	50,2
Grão de Girassol	155,1	117,3	147,8	692,5	41,1
Grão de Soja Integral	559,7	541,7	604,1	763,4	68,9
Óleo de Soja	950,2	963,7	-	978,5	-
Dietas					
Controle	855,2±0,1a	838,0±0,1a	957,3±0,1a	406,8±0,1e	640,9±0,1a
Caroço de Algodão	680,4±0,6c*	663,4±0,6c*	786,3±0,7b*	479,1±0,2d*	461,3±0,5e*
Grão de Girassol	669,9±0,4d*	650,6±0,4d*	749,2±0,5c*	733,9±0,3b*	476,4±0,3d*
Grão de Soja Integral	761,2±2,1b*	747,4±2,1b*	789,1±3,1b*	592,1±2,8c*	508,4±2,8c*
Óleo de Soja	853,5±0,1a	836,2±0,1a	955,8±0,1a	704,0±0,4a*	633,5±0,1b*
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$)

A maior digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro com amilase (DIVaFDN) ocorreu na dieta sem adição de fonte de lipídio. A adição de grãos como fonte de lipídios reduziu a DIVaFDN em aproximadamente 18% ($P < 0,001$).

Produção Cumulativa *in vitro* de gases

O volume de gás produzido pela fração de degradação rápida (A) foi maior na dieta sem adição de fonte de lipídio (controle). Dentre as fontes de lipídio utilizadas, o óleo de soja demonstrou o maior volume de gás da fração (A) da dieta enquanto que as menores médias para esse parâmetro foram observadas nas dietas com caroço de algodão e grão de girassol ($P < 0,001$; Tabela 3).

Tabela 3

Parâmetros da Produção Cumulativa *in vitro* de gases em função das dietas experimentais

Parâmetros	Dietas					P ¹
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
A (ml/100 mg MS)	5,56a	4,19d*	4,14d*	4,24c*	5,22b*	<0,001
B (/hora)	0,16b	0,14d*	0,17a*	0,15c*	0,12e*	<0,001
Lag time (/hora)	5,42b	4,74c*	5,81a*	4,81c*	4,28d*	<0,001
D (ml/100 mg MS)	5,26e	5,41d*	5,51c*	5,68b*	6,43a*	<0,001
E (/hora)	0,0317b	0,0308d*	0,0317b	0,0329a*	0,0311c*	<0,001
Y (ml/100 mg MS)	10,66b	9,41d*	9,46d*	9,79c*	11,45a*	<0,001
R ²	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	
P ²	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

P¹ valor de P para a análise de variância das medias dos tratamentos

P² valor de P para o modelo matemático que estima os parâmetros

R² Correlação dos valores propostos pelo modelo matemático com os dados observados

Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

*Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$)

A = volume de gás (mL) de degradação rápida; D = volume de gás (mL) de degradação lenta; B = taxa de degradação da fração rápida (/hora); E = taxa de degradação da fração lenta (/hora); e Lag = tempo de colonização das bactérias (h); t= tempo 0 a 48 horas.

A maior taxa de degradação (B) da fração solúvel foi observada na dieta contendo grão de girassol, sendo seguida dieta controle. As demais dietas apresentaram valores inferiores para esse parâmetro ($P < 0,001$).

O volume de gás produzido pela fração de degradação lenta (D) foi menor na dieta sem adição de lipídios. A maior produção de gás dessa fração foi observada na dieta contendo óleo de soja ($P < 0,001$). A taxa de degradação (E) da fração de degradação lenta sofreu pouca variação, no entanto é possível observar que a degradação dessa fração na dieta contendo grãos

de soja foi mais rápida, enquanto que a degradação mais lenta ocorreu na dieta conte do caroço de algodão ($P<0,001$).

O volume total de gás produzido (Y) variou de acordo com a dieta, sendo maior na dieta contendo óleo de soja e menor nas dietas com adição do grão de soja integral, grão de girassol e caroço de algodão respectivamente ($P<0,001$).

Consumo de matéria seca e produção de leite

A dieta contendo caroço de algodão reduziu o consumo de matéria seca ($P=0,042$; Tabela 4). O consumo de PB foi inferior nas dietas com caroço de algodão, grão de girassol e óleo de soja comparado a dieta com grão de soja integral ($P=0,011$). O consumo de EE foi superior em todas as dietas contendo fontes adicionais de lipídios ($P<0,001$).

O consumo de FDN foi superior na dieta com grão de algodão e o menor valor foi observado na dieta com óleo de soja ($P=0,009$). A maior produção de leite ocorreu em vacas consumindo grão de soja integral como fonte de lipídio enquanto a menor foi observada em vacas consumindo caroço de algodão ($P=0,029$; Tabela 4).

Tabela 4.

Médias e erro médio do consumo de matéria seca e produção de leite em função dos tratamentos experimentais (kg/dia).

	Dietas					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
CMS	13,95±0,25a	11,98±0,6b*	13,55±0,6ab	13,51±0,7ab	12,98±1,2ab	0,042
CPB	1,96±0,02ab	1,79±0,06b	1,92±0,07b	2,39±0,04a	1,85±0,08b	0,011
CEE	0,46±0,19c	0,72±0,27b*	0,86±0,26ab*	0,77±0,28ab*	0,93±0,39a*	<0,001
CFDN	5,61±0,12ab	5,75±0,18ab	6,26±0,17a	5,96±0,18ab	5,29±0,22b	0,009
PL	13,23±0,4ab	11,40±1,2b	13,40±0,5ab	14,58±0,1a	11,54±0,3ab	0,029
PLG	10,27±0,2ab	8,98±1,1ab	10,70±0,8ab	11,87±0,4a	8,01±0,5b	0,037
Eficiência	0,95±0,01	0,95±0,10	1,04±0,06	1,09±0,06	0,92±0,09	0,206

Médias seguidas por letras distintas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

CMS = consumo de matéria seca total (kg/dia); CPB – Consumo de Proteína Bruta; CEE – Consumo de Extrato Etéreo; CFDN – Consumo de FDN; PL – Produção de Leite (kg/dia); PLG = Produção de leite corrigida para 4% de gordura (kg/dia) Eficiência = Produção (Kg/dia) ÷ CMS

As dietas influenciaram a produção do leite corrigido para 4% de gordura, de forma que a maior produção foi observada em vacas que consumiram grãos de soja integral e a menor em vacas que consumiram óleo de soja ($P=0,037$). A utilização de fontes de lipídios não alterou a eficiência de produção de leite em função do CMS ($P=0,206$).

Análise de Componentes Principais

Todas as variáveis referentes aos nutrientes das dietas, consumo, digestibilidade *in vitro*, produção cumulativa de gases e produção de leite foram inseridas no teste de Análise de Componentes Principais. As variáveis que apresentaram correlação significativa ($P<0,005$) estão dispostas na Tabela 5 de acordo com o componente principal a qual pertencem.

O primeiro Componente Principal (CP1) foi capaz de explicar 36,42% da variabilidade dos dados apresentados e correlacionou de maneira positiva as variáveis ligadas a digestibilidade da MS, MO e PB da dieta, bem como, os parâmetros de degradação rápida (A) e lenta (D). As variáveis de PL, PLG, CFDN, Lag e B demonstraram correlação negativa nesse componente.

Tabela 5

Correlações das variáveis em estudo em cada componente, Autovalores e variância dos componentes principais

Componente 1		Componente 2		Componente 3	
Variável	Correlação	Variável	Correlação	Variável	Correlação
Y	0,93	A	0,47	CMS	0,79
DIVPB	0,91	PL	0,44	CPB	0,78
DIVMS	0,84	PLG	0,42	CEE	0,54
DIVMO	0,84	DIVMO	0,42	CFDN	0,52
A	0,81	DIVMS	0,41	E	0,51
D	0,63	D	-0,62	PL	0,48
PL	-0,43	DIVFDN	-0,75	DIVEE	0,43
PLG	-0,53	DIVEE	-0,78	D	0,4
CFDN	-0,61	CEE	-0,78		
Lag	-0,63				
B	-0,71				
Autovalor	6,19		3,69		3,20
Variância	36,42		21,71		18,79
Variância Acumulada	36,42		58,13		76,93

CMS – Consumo de Matéria Seca; CPB – Consumo de Proteína Bruta; CEE – Consumo de Extrato Etéreo; CFDN – Consumo de FDN; DIVMS – Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca; DIVMO – Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica; DIVPB – Digestibilidade *in vitro* da Proteína Bruta; DIVEE – Digestibilidade *in vitro* do Extrato Etéreo, DIVFDN – Digestibilidade *in vitro* do FDN; A - volume de gás (mL) de degradação rápida; D - volume de gás (mL) de degradação lenta; B - taxa de degradação da fração rápida (/hora); E - taxa de degradação da fração lenta (/hora); e Lag - tempo de colonização das bactérias (h); PL – Produção de Leite kg/dia; PLG - Produção de leite corrigida para 4% de gordura

O CP2 apresentou uma variância de 21,71% de acordo com a Figura 1, e somado ao primeiro componente explicam juntos 58,13% da variabilidade dos dados. Nesse componente estão contidas com correlação positiva as variáveis fração A, PL, PLG, DIVMO e DIVMS já as variáveis D, DIVFDN, DIVEE e CEE apresentaram correlação negativa. É possível observar nesse componente que embora existam correlações positivas, essas são consideradas baixas por serem inferiores a 0,60 e, sendo assim, as variáveis negativas apresentam maior influência.

O terceiro componente principal possui variância mais baixa, de apenas 18,79, mas somado aos anteriores, explicam juntos, aproximadamente 77% da variância total. Embora esse componente apresente correlação positiva das variáveis CEE, CFDN, E, PL, DIVEE e D as variáveis de alta correlação são apenas CMS e CPB.

Nesse sentido é possível observar a alta correlação das variáveis associadas a digestibilidade das dietas em um primeiro componente e as variáveis de produção, taxa de degradação e Lag time das dietas em um segundo componente (Figura 1).

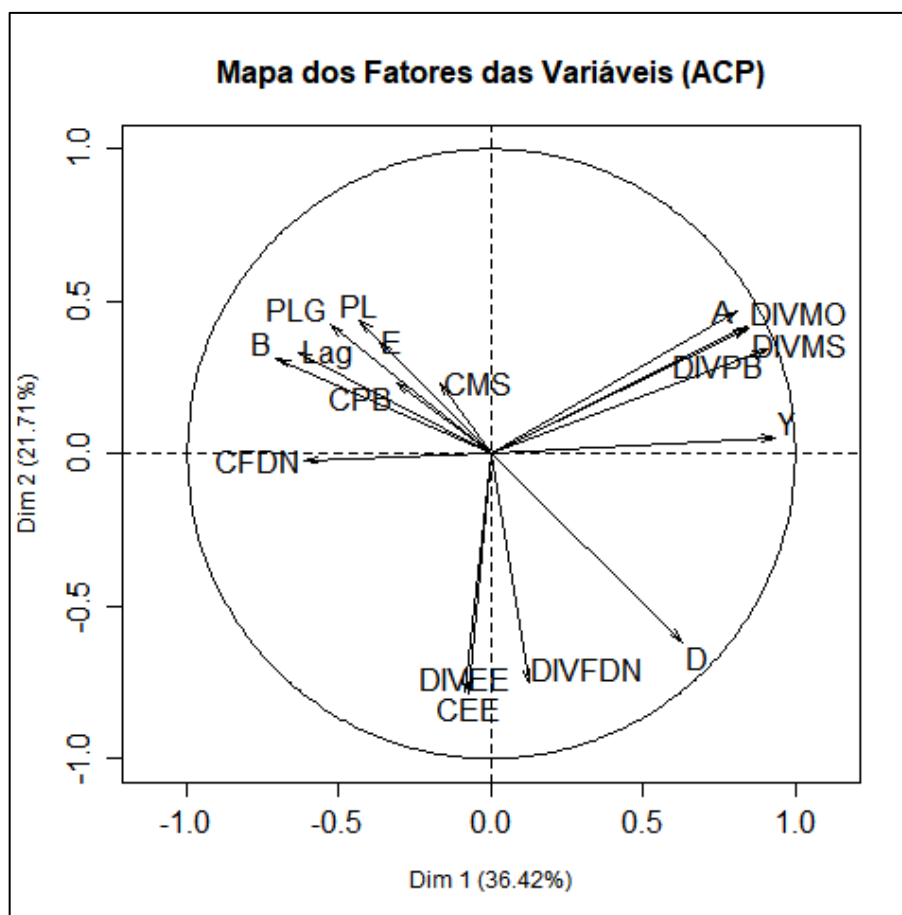


Figura 1 - Projeção das variáveis em estudo de acordo com os componentes principais 1 e 2

Os valores negativos para o CP1 (Dim 1) e CP2 (Dim 2) apresentam as dietas com menores digestibilidade e embora a dieta contendo grão de girassol tenha apresentado a segunda maior produção, pelo fato dessa variável possuir menor correlação com o CP2 que as variáveis de digestibilidade com o CP1, a baixa digestibilidade dessa dieta a colocaram desse quadrante (Figura 2).

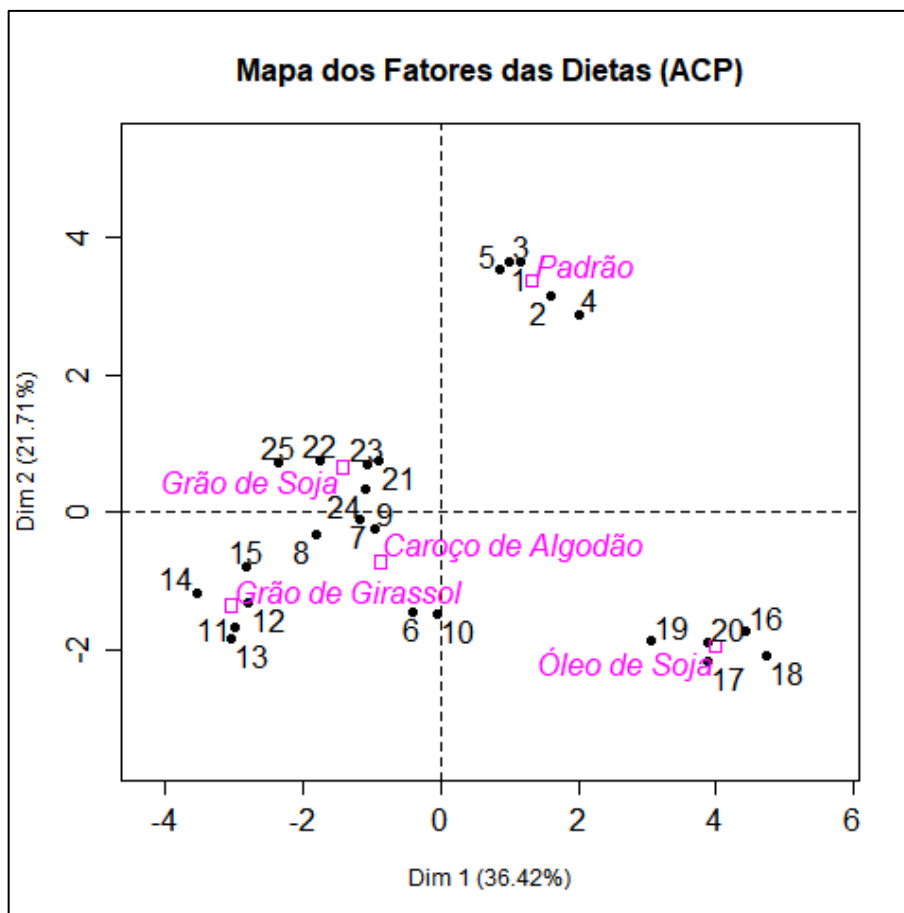


Figura 2 -Representação gráfica das dietas a partir da interseção dos componentes 1 e 2

O quadrante que contém a dieta com grão de soja integral, demonstra sua maior produção de leite e leite corrigido para 4% e menores valores para as variáveis de digestibilidade da dieta. O quadrante positivo para CP1 (Dim1) e negativo para CP2 (Dim 2) demonstra que a dieta contendo óleo de soja possui boa digestibilidade da dieta, no entanto sua produção de leite é inferior. No quadrante positivo para ambos componentes é possível observar a dieta controle demonstrando sua associação com maior degradabilidade e produção de leite.

4. Discussão

Digestibilidade in vitro da dieta

As dietas contendo grãos apresentaram menor digestibilidade em praticamente todos os nutrientes avaliados. A redução da digestibilidade *in vitro* da FDN nas dietas com caroço de

algodão, grão de girassol e grão de soja integral. Esse parâmetro se torna interessante tendo em vista que nele estão contidos os compostos menos digestíveis do alimento.

Para Van Soest (1994) o fator de maior importância para limitar a digestibilidade do alimento é seu conteúdo de FDA, pois a lignina presente no FDA limita a digestão da parede celular no rúmen.

Desta forma, foi observada a redução da digestibilidade *in vitro* da MS nas dietas cujo teores de FDA foram maiores. Esses resultados corroboram com os apresentados por ÍTAVO et al. (2015) em estudo avaliando diferentes grãos de oleaginosas onde encontraram redução da DIVMS em alimentos grãos com maior teor de FDA e reportaram influência negativa na digestibilidade da quantidade de celulose, hemicelulose e lignina, compostos constituinte do FDN e FDA. Dentro dos componentes orgânicos da dieta a maior fração é o FDN (Tabela 1), neste sentido a redução da digestibilidade *in vitro* desse composto resulta em grande impacto no coeficiente de digestibilidade da MS. Além disso, houve também redução da digestibilidade *in vitro* da PB quando houve introdução de grãos à dieta.

Cabiddu et al. (2017) em trabalho ofertando aproximadamente 10% da MS de grão de girassol e linhaça para ovelhas lactantes, relataram desvantagens na suplementação lipídica para ruminantes como redução da digestibilidade da matéria seca total. Para Ítavo et al. (2005) degradação ruminal de carboidratos estruturais pode ser reduzida em até 50% com a adição de lipídios à dieta.

De acordo com Jenkins (1994) os lipídios podem causar um revestimento nas partículas do alimento inibindo a digestão da celulose, essa cobertura causa efeito prejudicial por inibirem o contato das bactérias ou suas enzimas com as partículas de fibra. No entanto foi observado que a suplementação com óleo de soja que é a fonte de lipídio mais disponível causou pouca redução da DIVFDN quando comparada às dietas contendo grãos, o que leva a crer que essa redução se deu muito mais pela alteração da qualidade da fibra da dieta do que por efeitos

deletérios causados pelas fontes de lipídios. Trabalhos utilizando caroço de algodão para alimentação de vacas leiteiras observaram redução da digestibilidade aparente da FDN (de Souza et al., 2018; Murta et al., 2016), embora a digestibilidade tenha sido realizada *in vitro* o comportamento é semelhante.

O fornecimento de óleo de soja como fonte de lipídio proporcionou maior digestibilidade *in vitro* do EE provavelmente pela maior disponibilidade, enquanto que o lipídio dos grãos está protegido da ação dos microrganismos (Zakrys et al., 2008). A dieta que apresentou DIVMS mais baixa foi a que usou caroço de algodão como fonte de lipídio. De acordo com SILVA et al. (2004) o caroço de algodão possui cerca de 88% de FDN em sua casca, e aproximadamente 10% de lignina resultando numa DIVMS de aproximadamente 33%, esse pode ser um dos fatores da menor DIVMS da dieta contendo caroço de algodão.

Cinética da produção de gás

A inclusão de grãos de oleaginosas na dieta resultou em menor produção de gás, enquanto que a utilização de óleo de soja como fonte de lipídio aumentou a produção total de gás da dieta. Pode-se inferir que esse resultado seja em função do teor de CNF das dietas que reduziu com a inclusão dos grãos. O volume de gás produzido pela fração de degradação rápida (a) foi superior para dieta sem adição de lipídios, fato esse explicado pelo seu maior teor de CNF (Tabela 1). Mohamed et al. (2009) afirmaram que a produção inicial de gás está associada, quase que na sua totalidade, a fermentação dos carboidratos não fibrosos da dieta o que confirma os resultados observados nesse estudo.

Para Kozloski (2019) altos níveis de lipídio na dieta podem resultar em alterações da fermentação dos alimentos, seja pela cobertura hidrofobia que os lipídios podem realizar nas partículas ou pela toxicidade dos ácidos graxos insaturados sobre os microrganismos. Porém, neste experimento esse efeito não foi verificado uma vez que a dieta contendo fonte de lipídio prontamente disponível (óleo de soja) foi a que apresentou maior produção total de gás e menor

tempo de colonização pelos microrganismos. É muito provável que pelo fato do óleo de soja não ser uma fonte de lipídio que contém fibra, como os grãos, sua inclusão na dieta seja a responsável pela redução do aFDN e FDA (Tabela 1), resultando numa menor fração dos componentes de menor digestibilidade. Gómez-Cortés et al. (2008) forneceram 6% de óleo de soja, como fonte adicional de lipídio, em dietas para ovelhas e reportaram pequeno aumento na produção total de gás comparado a dietas sem óleo, e afirmaram que a adição de lipídio parece não ter sido suficiente para causar efeitos deletérios na digestibilidade da dieta.

A produção de gás da fração D (degradação lenta) foi maior na dieta em que a fonte de lipídio foi óleo de soja. Essa dieta apresentou menor teor de FDN, embora não tenha apresentado maiores teores de CHOT nem CNF. Assim, a maior produção de gás total e da fração D parece estar ligada ao fato de ter apresentado menor tempo de colonização pelos microrganismos.

Consumo de matéria seca e produção de leite

Somente a dieta contendo caroço de algodão foi capaz de alterar o consumo de MS neste estudo. De Almeida et al. (2017) utilizaram caroço de algodão e grão de soja integral na alimentação de vacas leiteiras e também observaram que o consumo das vacas que receberam grão de soja integral foi similar ao das vacas que receberam dieta controle, e o consumo das vacas recebendo caroço de algodão como fonte de lipídio foi numericamente menor.

Rabiee et al. (2012) afirmaram que o efeito dos suplementos de gordura sobre o consumo de matéria seca é bastante variável e depende do tipo de lipídio a ser fornecido. O grau de saturação da fonte de lipídio parece ser fator preponderante para que haja efeito da fonte de lipídio na ingestão de matéria seca (Harvatine e Allen, 2006). Como todas as dietas com fonte de lipídios foram isoenergéticas o consumo de MS não parece ter sido afetado pelo teor de lipídio e sim pelo tipo de fibra. A dieta contendo caroço de algodão apresentou maior FDA

podendo ter causado maior preenchimento e menor taxa de passagem (Palmquist e Jenkins, 1980).

A produção de leite foi menor nos animais consumindo caroço de algodão como fonte de lipídio, esse resultado pode estar ligado ao consumo de MS, que embora não tenha sido estatisticamente diferente, numericamente foi inferior em aproximadamente 1 kg que a dieta contendo óleo de soja e 2 kg que as demais dietas. Além disso, a digestibilidade *in vitro* dos componentes da dieta contendo caroço de algodão foram inferiores às demais. Tudo isso pode ter resultado em menor aporte nutricional para a produção de leite no período em que as vacas consumiram caroço de algodão. De Souza et al. (2018) realizaram estudo onde as vacas receberam 8,6% da MS de caroço de algodão e reportaram redução na produção de aproximadamente 2 litros de leite/dia. A principal hipótese para essa redução está baseada na menor eficácia da fibra da dieta contendo caroço de algodão na atividade de ruminação.

A produção de leite corrigido para gordura demonstra o baixo teor de gordura do leite em todas as dietas caracterizando uma depressão da gordura do leite. O alto teor de concentrado da dieta pode ser considerado como fator preponderante para esse resultado. Quando os níveis de concentrado na dieta para vacas leiteiras são superiores a 35% começa a ocorrer um declínio no teor de gordura do leite (Hawkins et al., 1963). Altos níveis de concentrado na dieta resultam em redução do pH ruminal em função do aumento dos ácidos orgânicos provenientes da fermentação dos carboidratos fermentescíveis no rúmen. A redução do pH diminui a lipólise e biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos, com isso aumenta a fluxo de ácidos graxos insaturados trans-C18:1 para a glândula mamária (Palmquist et al., 1993)

Glasser et al. (2010) em uma meta análise, observaram a resposta obtida com a infusão de trans 10, Cis 12-18: 2, onde, 23 grupos de vacas de 13 experimentos publicados apresentaram redução no teor de da gordura do leite, sem variações na produção total do leite. A queda no pH ruminal (dietas baixa fibra) altera as rotas de biohidrogenação ruminal, produzindo o ácido

graxo específico, CLA trans-10 cis-12, cuja concentração aumenta significativamente no leite das vacas com depressão na gordura do leite induzida pela dieta (Bauman e Griinari, 2003). Para Bauman et al. (2011) os ácidos graxos surgem no leite a partir de duas formas, síntese de novo ou captação de gotículas de ácidos graxos pré-formados na circulação e a presença de CLA trans-10 cis-12 no leite induzida pela dieta envolve tanto a redução da síntese de novo como a captação dos ácidos graxos pré-formados. Segundo Baumgard et al. (2002) o CLA trans-10, cis-12 reduz a expressão gênica da enzima lipase lipoprotéica (responsável pela hidrólise e liberação dos ácidos graxos para serem utilizados pelas células), da enzima delta 9-dessaturase (envolvida na síntese de ácidos graxos monoinsaturados) e principalmente da enzima acetil-COA carboxilase (que catalisa a síntese do malonil-COA, responsável pelo início da biossíntese de ácidos graxos) em aproximadamente 66, 75 e 72%, respectivamente.

Análise de Componentes Principais

Com base nos resultados e nas análises de correlação pode-se afirmar que a produção de leite e produção de leite corrigido para 4% de gordura estão correlacionados com as taxas de degradação (B) e (E), não sendo influenciados pelo consumo e demais características das dietas. Essa correlação demonstra que a velocidade com que a degradação acontece determina a produção de leite. Taxas diferentes de degradação resultam em diferentes ácidos graxos de cadeia curta no rúmen e podem alterar a proporção entre eles. Para Oba e Allen, (1999) a digestibilidade do FDN está linearmente ligada a produção de leite e de gordura do leite, em função da alteração na produção de acetato e propionato causadas pelas variações na digestibilidade da fibra.

O principal componente que explica a variabilidade dos dados está ligado a parâmetros de qualidade da dieta avaliados pela digestibilidade e o segundo componente aos dados de produção e tempos de colonização e degradação das frações da dieta. Nesse sentido, pode-se inferir que a dieta controle apresentou maior digestibilidade de nutrientes e boa produção. A dieta contendo óleo de soja demonstra ter correlação com características de alta digestibilidade, porém uma produção de leite baixa. A dieta contendo grão de soja integral apresenta a melhor produtividade entre as dietas estudadas, e maior digestibilidade de nutrientes entre as dietas contendo grãos. Dietas contendo caroço de algodão e grão de girassol foram agrupadas na ACP por apresentarem baixa digestibilidade de nutrientes e baixa produção.

A ACP conseguiu demonstrar, através do agrupamento das variáveis em componentes, o comportamento observado nas análises *in vitro*, de consumo e produção de leite se mostrando uma técnica viável para avaliação de dietas para vacas em lactação com diferentes fontes de lipídios.

5. Conclusão

A inclusão de grãos como fonte de ácidos graxos poli-insaturados à dieta de vacas leiteiras demonstrou reduzir a digestibilidade dos nutrientes da dieta. Dentre as fontes utilizadas somente o óleo de soja não demonstrou esse comportamento apresentando coeficientes de digestibilidade semelhantes aos da dieta controle.

A dieta contendo grão de soja integral demonstrou melhor produção de leite sendo recomendado seu uso como fonte adicional de lipídio na dieta de vacas leiteiras em lactação.

A Análise de Componentes Principais foi eficiente ao demonstrar a influência das variáveis sobre as dietas demonstrando ser uma boa ferramenta para avaliação das mesmas.

Referências

- Association of Official Analytical Chemists, A., 2000. Official methods of analysis, 13th ed. Washington.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2003. Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>
- Bauman, D.E., Harvatine, K.J., Lock, A.L., 2011. Nutrigenomics, Rumen-Derived Bioactive Fatty Acids, and the Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annual Review of Nutrition* 31, 299–319. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104648>
- Baumgard, L.H., Matitashvili, E., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Bauman, D.E., 2002. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85, 2155–2163. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74294-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74294-X)
- Bettero, V.P., Del Valle, T.A., Barletta, R.V., de Araújo, C.E., Ferreira de Jesus, E., de Almeida, G.F., Takiya, C.S., Zanferari, F., de Paiva, P.G., de Freitas Júnior, J.E., Rennó, F.P., 2017. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 224, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.12.007>
- Bodenmüller Filho, A., Damasceno, J.C., Terezinha, I., Previdelli, S., Santana, R.G., Eduardo, C., Oliveira, C. De, Tadeu, G., 2010. Revista Brasileira de Zootecnia Tipologia de sistemas de produção baseada nas características do leite Typology of production systems based on the milk characteristics. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1832–1839.
- Cabiddu, A., Addis, M., Fiori, M., Spada, S., Decandia, M., Molle, G., 2017. Pros and cons of the supplementation with oilseed enriched concentrates on milk fatty acid profile of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research* 147, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.11.019>
- CONAB, 2019. Acompanhamento da Safra Brasileira. Companhia Nacional de Abastecimento 6, 1–113.
- De Almeida, G.F., Del Valle, T.A., De Paiva, P.G., De Jesus, E.F., Barletta, R.V., Gandra, J.R., Bettero, V.P., Takiya, C.S., Rennó, F.P., 2017. Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. *Animal Production Science* 57, 122–128.

<https://doi.org/10.1071/AN15266>

- de Araújo, C.E., Gandra, J.R., Barlett, R. V., Mingoti, R.D., Bettero, R. V., de Jesus, E.F., Del Valle, T.A., Ghizzi, L.G., Silva, J.R., Rennó, F.P., 2018. Dietary calcium salts of fatty acids and soybean oil effects on mid-lactation dairy cows performance. *Archivos de Zootecnia* 67, 119–125.
- de Souza, J., Preseault, C.L., Lock, A.L., 2018. Altering the ratio of dietary palmitic, stearic, and oleic acids in diets with or without whole cottonseed affects nutrient digestibility, energy partitioning, and production responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 101, 172–185. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13460>
- Dillon, W.R., Goldstein, M., 1984. *Multivariate Analysis: Methods and applications.*, 1st ed. John Wiley e Sons, New York.
- Gandra, J.R., Mingoti, R.D., Barletta, R. V., Takiya, C.S., Verdurico, L.C., Freitas, J.E., Paiva, P.G., Jesus, E.F., Calomeni, G.D., Rennó, F.P., 2016. Effects of flaxseed, raw soybeans and calcium salts of fatty acids on apparent total tract digestibility, energy balance and milk fatty acid profile of transition cows. *Animal* 10, 1303–1310. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000264>
- Glasser, F., Ferlay, A., Doreau, M., Loor, J.J., Chilliard, Y., 2010. T10,c12-18:2-Induced milk fat depression is less pronounced in cows fed high-concentrate diets. *Lipids*. <https://doi.org/10.1007/s11745-010-3460-x>
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., De La Fuente, M.A., Hervás, G., 2008. Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science* 91, 1560–1569. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0722>
- Grummer, R.R., 1988. Influence of Prilled Fat and Calcium Salt of Palm Oil Fatty Acids on Ruminal Fermentation and Nutrient Digestibility. *Journal of Dairy Science* 71, 117–123. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79532-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79532-6)
- Gutierrez, G.S., Lana, R.P., Teixeira, C.R.V., Veloso, C.M., Rennó, L.N., 2019. Performance of crossbred lactating cows at grazing in response to nitrogen supplementation and different levels of concentrate feed. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 71, 1005–1014. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10265>
- Harvatine, K.J., Allen, M.S., 2006. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding

- and chewing behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 1104–1112. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72178-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72178-6)
- Hawkins, G.E., Paar, G.E., Little, J.A., 1963. Physiological Responses of Lactating Dairy Cattle to Pelleted Corn and Oats. *Journal of Dairy Science* 46, 1073–1080. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(63\)89211-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(63)89211-5)
- Holden, L.A., 1999. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science* 82, 1791–1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75409-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75409-3)
- Ítavo, C.C.B.F., Ítavo, L.C.V., Silva, F.F., Veloso, C.M., Oliveira, R.L., 2005. Aspectos da fermentação ruminal de lipídios, in: Ítavo, L.C.V., Ítavo, C.C.B.F. (Eds.), *Nutrição de Ruminantes: Aspectos Relacionados à Digestibilidade e Ao Aproveitamento de Nutrientes*. UCDB, Campo Grande, p. 184.
- Ítavo, L.C.V., Soares, C.M., Ítavo, C.C.B.F., Dias, A.M., Petit, H.V., Leal, E.S., De Souza, A.D.V., 2015. Calorimetry, chemical composition and in vitro digestibility of oilseeds. *Food Chemistry* 185, 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.007>
- Jenkins, T.C., 1994. Regulation of Lipid Metabolism in the Rumen. *The Journal of Nutrition* 124, 1372S-1376S. https://doi.org/10.1093/jn/124.suppl_8.1372s
- Kozloski, G.V., 2019. *Bioquímica dos Ruminantes*, 3rd ed. Eitora UFSM, Santa Maria.
- Mertens, D., Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., 2002. Tga-1-Tawss.Pdf.
- Mohamed, S., Hassan, A., Nozella, E.F., Miriam, D., Schmidt, S., Abdalla, A.L., 2009. Ruminant Fermentation and Tannins Bioactivity of Some Browses Using a Semi-Automated Gas Production Technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12, 1–10.
- Muñoz, C., Sánchez, R., Peralta, A.M.T., Espíndola, S., Yan, T., Morales, R., Ungerfeld, E.M., 2019. Effects of feeding unprocessed oilseeds on methane emission, nitrogen utilization efficiency and milk fatty acid profile of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 249, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.015>
- Murta, R.M., Veloso, C.M., Pires, A.J.V., Da Silva, F.F., De Carvalho, G.G.P., Filho, A.E., De Albuquerque Maranhão, C.M., Da Cruz, C.H., 2016. Intake, apparent digestibility, production, and composition of milk from cows fed diets with different sources of lipids. *Revista Brasileira de Zootecnia* 45, 56–62. <https://doi.org/10.1590/S1806->

92902016000200003

- NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th ed. The National Academies, Washington.
- Oba, M., Allen, M.S., 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: Effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82, 589–596. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75271-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75271-9)
- Palmquist, D.L., Denise Beaulieu, A., Barbano, D.M., 1993. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. *Journal of Dairy Science* 76, 1753–1771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77508-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77508-6)
- Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 1980. Fat in lactation rations – review. *Journal of Dairy Science* 63, 1–14. [https://doi.org/doi:10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82881-5](https://doi.org/doi:10.3168/jds.S0022-0302(80)82881-5)
- R Development Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Rabiee, A.R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H.M., Block, E., Lean, I.J., 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science* 95, 3225–3247. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4895>
- Rico, J.E., de Souza, J., Allen, M.S., Lock, A.L., 2017. Nutrient digestibility and milk production responses to increasing levels of palmitic acid supplementation vary in cows receiving diets with or without whole cottonseed. *Journal of Animal Science* 95, 436–446. <https://doi.org/10.2527/JAS.2016.1089>
- Santos, E.F.N., Santoro, K.R., Ferreira, R.L.C., Santos, E. de S., 2010. Formação De Grupos Produtivos Em Vacas Leiteiras Por Meio De Componentes Principais. *Rev. Bras. Biom.* 28, 15–22.
- Schofield, P., Pitt, R.E., Pell, A.N., 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of animal science* 72, 2980–2991. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>
- Senger, C.C.D., Mühlbach, P.R.F., Sanchez, L.M.B., Kozloski, G.V., Kist, G.P., De Lima, L.D., Netto, D.P., 2007. Comparação entre os métodos químico, in situ e in vitro para estimativa do valor nutritivo de silagens de milho. *Ciencia Rural* 37, 835–840.

<https://doi.org/10.1590/s0103-84782007000300036>

- Silva, D.C. da, Kazama, R., Faustino, J.O., Zambom, M.A., Santos, G.T. dos, Branco, A.F., 2004. Digestibilidade in vitro e degradabilidade in situ da casca do grão de soja, resíduo de soja e casca de algodão. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 26, 501–506. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v26i4.1733>
- Silveira, M.F., Kozloski, G. V., Mesquita, F.R., Farenzena, R., Senger, C.C.D., Brondani, I.L., 2009. Avaliação de métodos laboratoriais para estimar a digestibilidade e o valor energético de dietas para ruminantes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 61, 429–437. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000200021>
- Simioni, F.J., Maluche Baretta, C.R.D., Stefani, L.M., Lopes, L.S., Tizziani, T., 2013. Qualidade do leite proveniente de propriedades com diferentes níveis de especialização. *Semina: Ciências Agrárias* 34, 1901–1912. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1901>
- Ter Braak, C.J.F., Prentice, I.C., 1988. A Theory of Gradient Analysis. *Advances in Ecological Research* 18, 271–317. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60183-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60183-X)
- Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., 1985. *Analysis of forages and fibrous foods*, 1st ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Vazirigohar, M., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K., Nejati-Javaremi, A., Mirzaei-Alamouti, H., Patra, A.K., 2018. Short communication: Effects of diets containing supplemental fats on ruminal fermentation and milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 101, 6133–6141. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14189>
- Verdon, M., Rawnsley, R., Raedts, P., Freeman, M., 2018. The behaviour and productivity of mid-lactation dairy cows provided daily pasture allowance over 2 or 7 intensively grazed strips. *Animals* 8. <https://doi.org/10.3390/ani8070115>
- Zakrys, P.I., Hogan, S.A., O’Sullivan, M.G., Allen, P., Kerry, J.P., 2008. Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science* 79, 648–655. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.030>

ARTIGO 4

Temperatura superficial da pele da glândula mamária, medida por termografia infravermelha, em vacas primíparas Girolando alimentadas com dietas contendo diferentes fontes lipídicas

Skin surface temperature of the mammary gland, measured by infrared thermography, in primiparous Girolando cows fed diets containing different lipids sources

Submetido a revista Journal of Dairy Research

Resumo

A hipótese testada foi que diferentes fontes de ácidos graxos poli-insaturados provenientes de sementes de oleaginosas (girassol, soja e caroço de algodão), o processo de ordenha e a posição em relação ao corpo influenciem a temperatura externa da glândula mamária. Desta forma, o objetivo foi avaliar os efeitos de diferentes fontes adicionais de lipídios, do processo de ordenha e da posição das porções da glândula mamária sobre a temperatura obtida através de imagens infravermelhas de vacas em lactação. Foram utilizadas cinco vacas primíparas, em início de lactação (35 ± 8) com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg distribuídas aleatoriamente num Quadrado Latino 5 x 5. Os tratamentos consistiram de cinco dietas experimentais, sendo uma dieta controle sem fonte adicional de lipídio e quatro com diferentes fontes de lipídios: caroço de algodão, grão de girassol, grão de soja integral e óleo de soja. As amostras de leite foram coletadas nas duas ordenhas dos dois últimos dias de cada período experimental. A utilização de caroço de algodão reduziu em 15% ($P=0,029$) a produção diária de leite. As dietas não influenciaram a temperatura média dos tetos ($P=0,835$) nem do úbere ($P=0,512$). O processo de ordenha reduziu a temperatura dos tetos e do úbere em $0,79$ °C. Os tetos traseiros apresentaram temperaturas superficiais $0,65$ °C mais altas do que as tetas dianteiras. Os quartos traseiros demonstraram temperatura média $1,17$ °C superiores aos dianteiros. Mudanças na temperatura das porções da glândula mamária ocorreram em função do processo de ordenha e da posição do quarto, no entanto, a dieta e o CCS não influenciaram nessas temperaturas.

Palavras-chave: ácidos graxos, biohidrogenação, insaturados, oleaginosas, síntese de novo

Summary

The tested hypothesis was that different sources of polyunsaturated fatty acids from oilseeds (sunflower, soybeans and cottonseed), the milking process and the position in relation

to the body influence the external temperature of the mammary gland. In this way the aim was to evaluate the effects of different additional sources of lipids, the milking process and the position of the mammary gland portions on the temperature obtained through infrared images of lactating cows. Five primiparous cows, in early lactation (35 ± 8) with an average body weight of 410 ± 7.15 kg, were randomly distributed in a 5 x 5 Latin Square. The treatments consisted of five experimental diets, one standard diet without an additional source of lipid and four with different sources of lipids: cottonseed, sunflower seed, whole soybean and soybean oil. The milk samples were collected on the two milks on the last two days of each experimental period. The use of cottonseed reduced daily milk production by 15% ($P = 0.029$). The diets did not influence the average temperature of the teats ($P = 0.835$) or the udder ($P = 0.512$). The milking process reduced the temperature of the teats and udder by 0.79 °C. The rear teats showed surface temperatures 0.65 °C higher than the front teats. The hindquarters showed an average temperature of 1.17 °C higher than the forequarters. Changes in the temperature of the portions of the mammary gland occurred due to the milking process and the position of the quarter, however, the diet and SCC did not influence these temperatures.

Keywords: dairy cows, milk yield, milking, oilseed, SCC

1.Introdução

A suplementação alimentar, visando aumentar a produtividade da pecuária, leva a diferentes respostas fisiológicas em animais em função de fatores como estágio de lactação e genótipo. A suplementação de vacas leiteiras com fontes lipídicas proporciona melhor eficiência no uso de energia, devido à redução do incremento calórico e aumento da eficiência produtiva do leite pela incorporação direta da gordura da dieta ao leite. O aumento da produção de leite pode resultar em aumento da temperatura da glândula mamária, porque o maior volume de leite causa compressão dos vasos sanguíneos e também vacas de maior produção tendem a ter maior fluxo sanguíneo nessa região (Cunningham, 2014).

Essa suplementação aumenta a densidade energética da dieta, pois o teor de extratos secos totais é favorável à eficiência alimentar dos animais em estado de consumo limitado, como estresse calórico, terço tardio da gestação ou início da lactação, momentos em que ocorre déficit de energia nutricional. Vacas sob estresse térmico permanecem por mais tempo deitadas para controlar a temperatura do corpo e, o contato dos tetos com a sujeira do solo, aumenta a suscetibilidade a doenças intramamárias, além disso, altas temperaturas da glândula mamária são favoráveis à proliferação de microrganismos patogênicos (Hammami et al. 2015; Das et al. 2016).

Nesse sentido, o uso de grãos de oleaginosas em vacas leiteiras tem um papel importante no controle da temperatura da glândula mamária. Além de promover mudanças na produção e leite, que podem alterar a temperatura da glândula mamária, elas também reduzem o estresse térmico, a necessidade de dissipar o calor através do contato com o solo e, conseqüentemente, o risco de infecção que pode aumentar a temperatura da glândula mamária.

Para uma produção pecuária bem-sucedida, os parâmetros fisiológicos devem ser monitorados para detectar pequenas alterações que afetam a saúde e o bem-estar dos animais. A qualidade dos produtos de origem animal depende da capacidade do pecuarista de reagir às mudanças nos parâmetros fisiológicos no gado. Entre os dados fisiológicos, a temperatura é fácil de medir e se correlaciona com várias funções do corpo, como nutrição, reprodução, estresse e sanidade. Conseqüentemente, a radiação térmica emitida pelo corpo varia como resultado de alterações no fluxo sanguíneo e no metabolismo (Sellier et al. 2014).

A variação da temperatura corporal pode estar relacionada à produtividade das vacas; as vacas leiteiras em lactação são menos eficientes na dissipação do calor, pois requerem maior consumo de matéria seca, aumentando o metabolismo dos nutrientes. Existem vários métodos para medir a temperatura corporal de vacas em lactação. No entanto, Leão et al. (2015) afirmaram que métodos não destrutivos e não invasivos de medição de temperatura podem gerar dados confiáveis sem a necessidade de contato direto, evitando assim o estresse. Portanto, a termografia infravermelha torna-se uma ferramenta potencial na produção pecuária para diagnóstico, prevenção e associação com características de interesse clínico e econômico. Vários estudos demonstraram a eficiência do uso dessa ferramenta em estudos de produção e bem-estar em gado leiteiro (Digiacomio et al. 2014; Roberto et al. 2014).

Desta forma, a hipótese testada foi que a adição de diferentes fontes lipídicas poderia alterar a temperatura da glândula mamária. O objetivo foi avaliar a influência da dieta, posição do quarto mamário e processo de ordenha na temperatura de tetas e úbere de vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes lipídicas.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Brasil, de agosto a outubro de 2016. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais sob o protocolo nº 011/2016.

Foram utilizadas cinco vacas primíparas Girolando (3/4 Holandês 1/4 Gir) com peso corporal médio de $410 \pm 7,15$ kg e com média de 35 ± 8 dias pós-parto no início do experimento.

As vacas foram mantidas em baias individuais, de estrutura metálica, com 16m², ao ar livre, com sombreamento artificial com cobertura metálica, sem controle artificial de temperatura e umidade e com acesso livre à água.

As vacas foram tratadas com antiparasitário e submetidas s teste de que atestaram negativo para a presença de mastite 30 dias antes do início do experimento.

Delineamento experimental

Os tratamentos consistiram de dietas contendo diferentes oleaginosas (grão de girassol, grão de soja integral e caroço de algodão), uma dieta contendo óleo de soja e dieta de controle (sem fonte lipídica adicional) (Tabela 1).

Tabela 1

Ingredientes e composição química das dietas experimentais (g/kg de MS).

	Dietas				
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja
	Ingredientes				
Silagem de Milho	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0
Milho Triturado	383,0	264,5	209,4	316,0	406,7
Farelo de Soja	167,0	42,9	97,6	-	101,3
Amireia – 20	20	20	20	20	20
Sal Mineral	30	30	30	30	30
Caroço de Algodão	-	242,6	-	-	-
Grão de Girassol	-	-	243,0	-	-
Grão de Soja integral	-	-	-	234,0	-
Óleo de Soja	-	-	-	-	42,0
	Composição química				
MO	936	902	896	923	916
PB	180	180	180	180	180
EE	32	70	70	70	70
aFDN	305	401	362	332	290
FDA	231	292	279	234	210
Lignina	29,28	44,25	35,96	31,31	28,52
CHOT	724	652	646	673	666
CNF	419	251	284	341	376
NDT	759	612	723	731	736

MO – Matéria Orgânica; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; aFDN – Fibra em Detergente Neutro testada com amilase; FDA - Fibra em Detergente Ácido; CHOT – Carboidratos Totais; CNF – Carboidratos não Fibrosos; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

As vacas foram distribuídas em delineamento experimental em quadrado latino 5 × 5, com cinco animais e cinco tratamentos (dietas) por cinco períodos experimentais com duração de 21 dias, e um período pré-experiemntal de adaptação ao manejo e instalações de 21 dias totalizando 126 dias.

O fornecimento de alimento ocorreu duas vezes ao dia às 6 e 16 horas. As vacas foram ordenhadas duas vezes por dia às 5:00 e 15:00 horas, usando uma máquina de ordenha mecânica tipo balde com um vácuo ajustado a 40 kPa. O tempo gasto para cada ordenha foi de aproximadamente 15 minutos para cada vaca. As medições da produção de leite foram realizadas nos últimos três dias de cada período. Os valores obtidos na pesagem do leite da manhã e da tarde foram somados e considerados como produção diária. Uma alíquota de 25 mL de leite de cada ordenha nos últimos dois dias de cada período foi coletada e armazenada a 4 ° C em um frasco com Bronopol-B2 até o momento da análise.

As amostras de leite foram analisadas no Laboratório Central do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa. Foram determinados os teores de proteína, gordura, lactose e sólidos pelo método infravermelho (Internacional IDF Standart 141C; 2000). A contagem de células somáticas (CCS) foi determinada pelo método de citometria de fluxo (Internacional IDF Standart 148-2; 2006).

As imagens termográficas foram obtidas no último dia de cada período experimental, na ordenha matinal, realizada em sala de ordenha de alvenaria, com piso de concreto e cobertura de telhas de barro. Para obtenção das imagens foi utilizada uma câmera infravermelha Flir SC 620. Esta câmera converte a radiação emitida pela pele do animal em um comprimento de onda de 8 a 12 mm em um sinal elétrico que é processado em um padrão de variação de temperatura da pele, com precisão de $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

As fotografias infravermelhas foram tiradas a 1 metro da glândula mamária, antes e depois da ordenha, em ambos os lados da vaca para obter uma imagem dos quatro quartos mamários. A câmera foi calibrada em todos os dias de amostragem para temperatura ambiente e umidade relativa. As imagens foram analisadas com o software FLIR QuickReport 1.2 para demarcar a maior área possível do úbere e tetos para obter a temperatura média. A temperatura média ambiente, dos períodos experimentais, observada no momento da ordenha foi de 20,2°C de mínima e 21,0°C de máxima.

Análises estatísticas

Os dados são apresentados como média \pm SEM. A produção de leite, a contagem de células somáticas (CCS), as temperaturas médias no úbere e nas tetas foram analisadas utilizando o pacote ExpDes.pt do software R. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para determinar a normalidade dos dados e o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade. Após atender às premissas, foi realizada uma análise de variância de um quadrado latino 5×5 .

O teste de comparação múltipla de Dunnett foi aplicado para comparar médias no nível de significância de 5%, de acordo com o modelo matemático $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k(i, j) + e_{ijk}$, onde: Y_{ijk} = valor da variável dependente; μ média geral; A_i = efeito do animal; P_j = efeito do período; $T_k(i, j)$ = efeito do tratamento dentro de cada animal e período; e_{ijk} = erro experimental.

As temperaturas da superfície da pele dos quartos dianteiro, quartos traseiros, tetas frontais, tetas traseiras, úbere antes da ordenha, úbere após ordenha, tetas antes da ordenha e tetas após ordenha foram analisadas usando o pacote ExpDes.pt do software R. Foi realizada uma ANOVA para o delineamento fatorial 2×5 , em delineamento de blocos casualizados, no qual os blocos foram os períodos e as vacas foram as repetições.

O mesmo foi realizado para avaliar a posição do teto e quarto mamário. Para a comparação das médias, o teste de Tukey foi utilizado com significância de 5%, usando o modelo matemático $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + V_k + T_j \times V_k + e_{ijk}$, onde Y_{ijk} = valor da variável dependente; μ média geral; B_i = bloco; T_j = efeito da dieta; V_k = efeito do local (quartos dianteiro e traseiro) ou ordenha (pré e pós); $T_j \times V_k$ = interação entre dieta e local ou ordenha; e_{ijk} = erro experimental.

3. Resultados

A utilização de grão de soja integral aumentou a produção de leite em relação ao uso de caroço de algodão como fonte de lipídios ($P=0,029$; Tabela 2). Os valores de CCS não sofreram influência das dietas ($P=0,529$).

Tabela 2. Erro médio e padrão da média (EPM) da produção de leite, contagem de células somáticas do leite (CCS) e temperatura de úbere e tetos de vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes lipídicas

	Dieta					P
	Controle	Caroço de Algodão	Grão de Girassol	Grão de Soja Integral	Óleo de Soja	
PL (kg/dia)	13.3±0,37ab	11.4±1,21b	13.4±0,45ab	14.6±0,10a	11.5±0,27ab	0.029
CCS	129.8±55,68	1029.3±995,22	207.8±401,24	279.4±256,07	33.4±7,96	0.529
Úbere (°C)	33,25±0,41	33,87±0,47	33,77±0,25	33,98±0,59	33,89±0,63	0,835
Tetos (°C)	32,90±0,32	32,27±1,00	32,58±0,61	32,78±0,32	32,25±0,46	0,512

^{a, b} O valor em uma linha com letras diferentes difere significativamente entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
PL – Produção de leite (kg/dia); CCS – Contagem de Células Somáticas (x1000/ml)

As dietas não afetaram a temperatura média do úbere ($P = 0,835$) e dos tetos ($P = 0,512$). A temperatura dos tetos e do úbere antes da ordenha não foi influenciada pela dieta ($P = 0,579$ e $P = 0,777$) respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Erro médio e padrão da média (EPM) da temperatura da superfície da pele dos tetos, úbere e quarto mamário em função das dietas, processo de ordenha e posição do quarto mamário de vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes lipídicas

Dieta	Ordenha			
	Tetos		Úbere	
	Antes	Depois	Antes	Depois
Controle	32,98±0,58	32,78±0,47	33,91±0,56	33,13±0,48
Caroço de Algodão	32,75±0,90	31,75±1,28	34,03±0,34	33,72±0,61
Grão de Girassol	33,56±0,35	31,74±1,02	34,37±0,33	33,16±0,46
Grão de Soja Integral	33,08±0,23	32,44±0,59	34,23±0,66	33,74±0,61
Óleo de Soja	32,39±0,54	32,06±0,50	34,52±0,73	33,26±0,56
Média	32,95±0,24a	32,16±0,35b	34,21±0,23a	33,40±0,23b
P				
Dietas	0,579		0,777	
Ordenha	0,016		0,002	
Interação	0,506		0,653	
Dieta	Posição			
	Tetos		Quarto Mamário	
	Dianteiros	Traseiros	Dianteiros	Traseiros
Controle	32,64±0,42	33,16±0,45	32,64±0,42	33,16±0,45
Caroço de Algodão	31,68±1,07	32,86±0,97	31,68±1,07	32,86±0,97
Grão de Girassol	32,32±0,64	32,84±0,61	32,32±0,64	32,84±0,61
Grão de Soja Integral	32,57±0,37	32,99±0,30	32,57±0,37	32,99±0,30
Óleo de Soja	31,96±0,65	32,53±0,42	31,96±0,65	32,53±0,42
Média	32,23±0,29b	32,88±0,25a	33,27±0,20b	34,34±0,24a
P				
Dietas	0,219		0,836	
Posição	0,005		<0,001	
Interação	0,800		0,748	

^{a, b} O valor em uma linha com letras diferentes difere significativamente entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A temperatura dos tetos foi 0,8°C maior ($P = 0,016$) antes da ordenha e o mesmo aumento foi observado para a temperatura da superfície da pele do úbere ($P = 0,002$). Demonstra a influência do processo de ordenha na temperatura dos quartos mamários (Fig. 1).

As dietas não afetaram a temperatura do úbere quando avaliadas em diferentes locais, quartos dianteiro e traseiro ($P = 0,816$). O mesmo foi relatado para a temperatura medida nos tetos ($P = 0,219$). A posição dos tetos e dos quartos mamários influenciou sua temperatura. As temperaturas dos tetos traseiros ($P = 0,005$) e dos quartos traseiros ($P < 0,001$) foram 0,64°C e 1,07°C maiores, respectivamente, quando comparadas aos tetos dianteiras e quartos dianteiros.

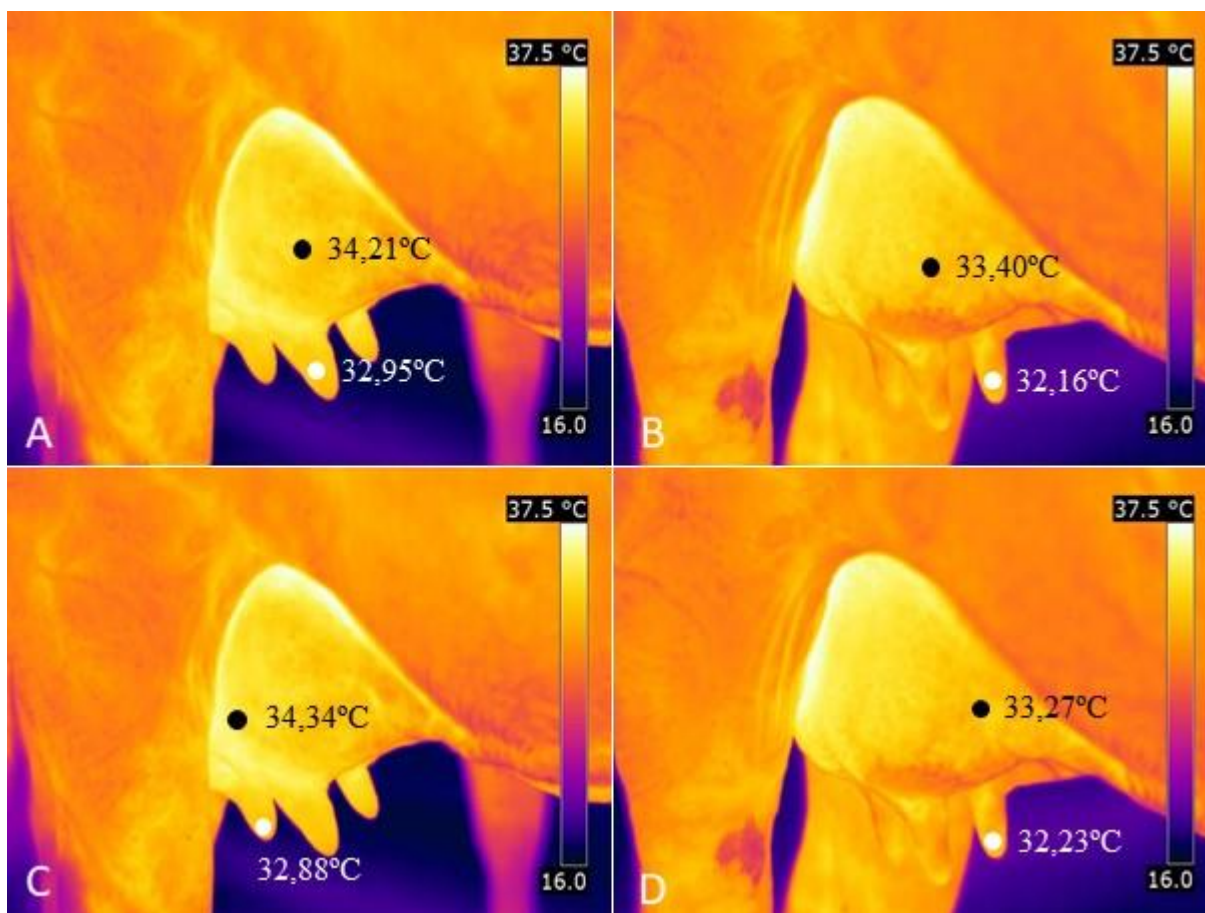


Figura 1:

Imagem infravermelha da glândula mamária e temperatura média dos tetos e antes da ordenha (A), após a ordenha (B), quarto mamário traseiro (C) quarto mamário dianteiro (D)

4. Discussão

As vacas alimentadas com grão de soja integral como fonte lipídica apresentaram maior produção de leite. A produção média de leite é semelhante à relatada por Canaza-Cayo et al. (2017) de 11,00 kg/dia para vacas Girolando na primeira lactação. Essa produção de leite associada ao manejo e saneamento adequados mantiveram a CCS dentro dos padrões aceitos. A dieta influenciou a CCS, a contagem permaneceu baixa ao longo do experimento.

A maior contagem de CCS no leite de vacas alimentadas com grão de girassol como fonte de lipídios ficou abaixo de 200.000. De acordo com Pantoja et al. (2009), quartos mamários visivelmente normais que produzem leite contendo mais de 200.000 CCS são considerados portadores de mastite subclínica. A CCS não interferiu nas temperaturas do úbere e dos tetos. Esse resultado corrobora o apresentado por Nakagawa et al. (2016), que avaliaram a temperatura da superfície do úbere de vacas leiteiras e não encontraram alterações na temperatura em função da CCS.

A temperatura dos tetos diminuiu de 32,95 para 32,16°C após a ordenha. O uso de menor pressão de vácuo (40 kPa) pode ter sido uma das causas de não ocorrer aumento na temperatura dos tetos após a ordenha. Hanusová et al. (2016) relataram um aumento na temperatura dos tetos após a ordenha, de aproximadamente 2,0°C, mesmo à pressão de 40 kPa. Esse resultado pode estar relacionado à diferença de raça e idade das vacas avaliadas (vacas primíparas Girolando vs. multíparas da raça Holandesa).

A temperatura do úbere foi alta antes da ordenha; esse resultado pode ser justificado pela compressão dos vasos sanguíneos como resultado do acúmulo de leite na cisterna das glândulas mamárias e pelo aumento do fluxo sanguíneo nesse período (Cunningham, 2014). Outra causa possível é a locomoção das vacas dos currais para a sala de ordenha, gerando calor através do movimento e do atrito entre as patas traseiras e a glândula mamária. Esse resultado difere dos encontrados por Daltro et al. (2017), que afirmaram não haver alterações na temperatura do úbere como resultado do processo de ordenha.

O menor tempo de ordenha e a redução do fluxo sanguíneo nos tetos em relação às vacas de alto rendimento são fatores que podem ter contribuído para a redução da temperatura após a ordenha. A redução da temperatura do úbere e dos tetos após a ordenha pode ter ocorrido devido ao esvaziamento da glândula mamária, baixa pressão de sucção da ordenhadeira e a um intervalo mais longo entre o movimento e a exposição à radiação solar no momento da mensuração da temperatura.

A temperatura mais alta nos quartos traseiros da glândula mamária observada neste experimento corrobora com Daltro et al. (2017). Os autores relataram que a posição dos quartos mamários se correlaciona com a temperatura da superfície da pele e é considerado o segundo fator mais relevante para sua alteração. Os tetos traseiros e os quartos mamários apresentaram temperatura média mais alta quando comparados aos dianteiros, essa variação de temperatura está associada a uma maior exposição dos quartos dianteiros mamários ao ambiente, permitindo maior mudança de temperatura. Outros fatores podem contribuir para uma temperatura mais alta nos quartos traseiros, como maior volume de armazenamento e produção de leite, além de maior contato com as patas traseiras.

A produção de leite não influenciou a temperatura da superfície da pele da glândula mamária. É possível afirmar que a temperatura mais alta observada nos quartos traseiros da glândula mamária está associada a menor exposição ao meio ambiente, maior contato com irrigação venosa nas patas traseiras e atrito entre elas durante a locomoção.

5. Conclusão

A inclusão da fonte lipídica na dieta não alterou a temperatura da glândula mamária, mostrando que essas fontes podem ser utilizadas na nutrição de vacas leiteiras sem causar desconforto térmico na região mamária. As alterações observadas neste estudo estão relacionadas ao processo de ordenha e posicionamento do quarto mamário em relação ao corpo da vaca e não às fontes de lipídios utilizadas.

Referências

- Canaza-Cayo AW, Lopes PS, Cobuci J, Martins MF and Silva MVGB** (2017) Genetic parameters of milk production and reproduction traits of Girolando cattle in Brazil. *Italian Journal of Animal Science* **16**, 1-9.
- Cunningham JG** (2014) *Treaty of Veterinary Physiology*. Page 624. Guanabara Koogan.
- Daltro DS, Fischer V, Alfonso EPM, Stumpf M, Kolling GJ, Silva MVGB and McManus C** (2017). Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* **45**, 374-383.
- Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati and Kumar R** (2016) Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: a review. *Veterinary World* **9**, 260-268.
- Digiacomio K, Marett LC, Wales WJ, Hayes BJ, Dunshea FR and Leury BJ** (2014) Thermoregulatory differences in lactating dairy cattle classed as eficiente or inefficient based on residual feed intake, *Animal Production Science* **54**, 1877-1881.
- Hammami H, Vandenplas J, Vanrobays ML, Rekik B, Bastin C and Gengler N** (2015) Genetic analysis of heat stress effects on yield traits, udder health and fat acid of Walloon Holstein cows. *Journal of Dairy Science* **98**, 4956-4968.
- Hanusová J, Gálok R, Bodo S, Kunc P, Knizková I and Staronová L** (2016) Analysis of quality milking by thermographic method. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* **64**, 1149-1153.
- Lahlou MN, Kanneganti R, Massingill LJ, Broderick GA, Park Y, Pariza MW, Ferguson JD and Wu Z** (2014) Grazing increases the concentration of CLA in dairy cow milk. *Animal* **8**, 1191-1200.
- Leão JM, Lima JAM, Pôssas FP and Pereira LGR** (2015) Use of infrared thermography in precision livestock. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia* **79**, 97-109.

- Nakagawa Y, Nassary NA, Fukuyama K and Kobayashi I** (2016) Measurement of Udder Surface Temperature in Cows Using Infrared Thermometer. Page 429 in: *Genetic and Evolutionary Computing. Advances in Intelligent Systems and Computing. Springer.*
- NRC** (2001) *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th rev edition. Washington, D.C: National Research Council, 408p.
- Pantoja JCF, Hullang C and Ruegg P** (2009) Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science* **92**, 139-148.
- Roberto JVB, Souza BB, Furtado DA, Delfino LJB and Marques BAA** (2014) Thermal gradients and physiological responses of goats in the Brazilian semiarid region using infrared thermography. *Journal of Animal Behaviour Biometeorology*. **2**, 11-19.
- Sellier N, Guettier E and Staub C** (2014) A review of methods to measure animal body temperature in precision farming. *Journal Agricultural Science and Technology* **2**, 74-99.
- Zaninelli M, Redaelli V, Luzi F, Bronzo V, Mitchell M, Dell'Orto V, Bontempo V, Cataneo D and Savini G** (2018) First Evaluation of Infrared Thermography as a Tool for the Monitoring of Udder Health Status in Farms of Dairy Cows. *Sensors* **18**, 1-12.

4. Considerações Finais

Pesquisas vêm demonstrando os efeitos benéficos do consumo de alguns ácidos graxos presentes no leite, especialmente poli-insaturados, e com isso, modificando as exigências do consumidor. Essas alterações no consumo têm gerado a demanda pela produção de leite de melhor qualidade nutricional, o que resulta na necessidade de pesquisas acerca das possíveis alterações que a nutrição causa na qualidade do leite.

Já há alguns anos pesquisadores de diversas partes do mundo vem estudando a utilização de fontes de ácidos graxos poli-insaturados na nutrição de vacas de leite, entre essas fontes as oleaginosas, no entanto, a maior parte das pesquisas foram realizadas com animais ou grãos diferentes dos encontrados na realidade produtiva brasileira. Em função disso, este estudo foi forjado de maneira a entender a influência de grãos (caroço de algodão, grão de girassol e grão de soja) presentes em Mato Grosso do Sul sobre a produção e qualidade do leite de vacas Girolando, comumente encontradas nas propriedades leiteiras do nosso estado.

A produção de leite foi afetada negativamente pela utilização de caroço de algodão, mas quando a avaliação foi feita através do rendimento do leite foi possível observar que a dieta contendo óleo de soja teve o pior desempenho por apresentar o menor teor de gordura do leite. O perfil de ácidos graxos, foi pouco afetado pelas fontes de ácidos graxos das dietas. Foi possível verificar que a dieta com caroço de algodão aumentou de maneira discreta o teor de ácidos graxos de cadeia longa e a dieta com grão de soja integral aumentou a quantidade em kg/dia de ácidos graxos poli-insaturados produzidos. As fontes de ácidos graxos na forma de grãos parecem ter reduzido a biohidrogenação ruminal, mas sem que seu conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados tenha sido aproveitado no intestino. Já a fonte na forma de óleo, em função da alta disponibilidade dos ácidos graxos, parece ter reduzido deposição de gordura no leite.

Ao contrário do que se esperava o alto teor de extrato etéreo das dietas com fontes de ácido graxos não afetou o consumo e degradabilidade ruminal das dietas, uma vez que a dieta contendo óleo de soja apresentou valores semelhantes a dieta controle para essas variáveis. A utilização de caroço de algodão reduziu a ingestão de alimentos e a digestibilidade aparente de seus nutrientes. Esse resultado está associado ao maior teor de FDA desse grão.

As avaliações *in vitro* das dietas demonstraram redução da degradabilidade das dietas com a inclusão de grãos, a dificuldade das bactérias em degradar o conteúdo interno dos grãos pode ter sido a causa dessa redução.

As variáveis relacionadas as dietas como composição, degradabilidade e digestibilidade foram correlacionadas com as variáveis de produção e qualidade do leite, os resultados demonstraram que, tanto nas avaliações *in vivo* quanto *in vitro*, houve baixa correlação dos nutrientes das dietas, dos ácidos graxos fornecidos na dieta bem como as digestibilidades com as variáveis de produção. Isso indica que, pela similaridade dos resultados das dietas contendo fontes de ácidos graxos com a dieta controle, que os resultados de produção estão mais associados a dieta basal que as fontes de ácidos graxos.

De maneira geral, não é indicada a utilização das fontes de ácidos graxos poli-insaturados testadas em função de não terem promovido melhoras significativas na produção e qualidade do leite, no entanto, o grão de soja integral apresentou aumento numérico da produção em kg de leite e em kg/dia de ácidos graxos poli-insaturados podendo ser uma alternativa de incremento na produção para o pecuarista.

Ainda são necessários mais estudos para que o uso dessas fontes de ácidos graxos poli-insaturados seja consolidado. Embora a literatura seja vasta com relação a utilização de boa parte dessas fontes, a quantidade ideal a ser inserida na dieta, a resposta de diferentes raças leiteira, dos diferentes estágios da lactação e a interação entre essas fontes e a proporção volumoso:concentrado na dieta ainda merecem atenção da comunidade científica.