

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PRODUÇÃO, QUALIDADE, ESTABILIDADE OXIDATIVA
DO LEITE E PARÂMETROS NUTRICIONAIS DE VACAS
SUPLEMENTADAS COM GRÃOS DE SOJA PELETIZADOS
E MONENSINA

Autora: Luisa Pozzi Marins Costa
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

MARINGÁ
Estado do Paraná
Abril – 2013

PRODUÇÃO, QUALIDADE, ESTABILIDADE OXIDATIVA
DO LEITE E PARÂMETROS NUTRICIONAIS DE VACAS
SUPLEMENTADAS COM GRÃOS DE SOJA PELETIZADOS
E MONENSINA

Autora: Luisa Pozzi Marins Costa
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

Dissertação apresentada, como
parte das exigências para obtenção
do título de MESTRE EM
ZOOTECNIA, no Programa de
Pós-Graduação da Universidade
Estadual de Maringá – Área de
Concentração Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná

"A grandeza não consiste em receber honras, mas merecê-las."

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pela confiança e incentivo a trabalhar com a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ulysses Cecato, pela coorientação e atenção despendidas.

À minha família, pela paciência e amor incondicional.

Aos Doutores Fernanda Granzotto, Luciano Soares de Lima e Paula Adriana Grande, pela disponibilidade em ajudar sempre.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Estadual de Maringá e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por terem viabilizado a realização do experimento.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de leite da FEI, Vicente Faleiros, Célio Passolong, Waldecir Aparecido dos Santos e demais que colaboraram na execução do experimento, pelo carinho e dedicação.

Aos bolsistas, integrantes do grupo de pesquisa NUPEL e estagiários que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico.

Às funcionárias do Laboratório de Análise de Alimentos, Cleuza Volpato e Creuza Azevedo.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Luisa Pozzi Marins Costa, filha de Aracimir Marins Costa Filho e Denise Pozzi, nasceu em Pirassununga, São Paulo, no dia 19 de junho de 1986.

Em dezembro de 2008, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

Em março de 2011, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Bovinocultura de leite.

No dia 11 de abril de 2013, submeteu-se à banca para defesa da dissertação de mestrado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
I – INTRODUÇÃO	
1. Peletização.....	01
2. Monensina Sódica.....	02
3. Adição de Gordura na Dieta.....	04
4. Suplementação lipídica com grão de soja	05
5. Produção e Qualidade do Leite.....	06
5.1. Oxidação Lipídica no Leite.....	08
5.2. Antioxidantes.....	10
6. Parâmetros Nutricionais.....	13
7. Parâmetros Sanguíneos.....	15
REFERÊNCIAS.....	17
OBJETIVOS GERAIS.....	25
II - Influência da peletização do concentrado contendo grão de soja e monesina sódica sobre os parâmetros digestivos de vacas da raça Holandês	
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	29
Resultados e Discussão.....	35
Conclusões.....	40
Referências.....	41
III - Influência da peletização do concentrado contendo grão de soja e monesina sódica sobre a qualidade do leite de vacas da raça Holandês	
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	52
Resultados e Discussão.....	57
Conclusões.....	64
Referências.....	65

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Páginas

Tabela 1. Histórico de temperatura média máxima, temperatura média mínima, precipitação total e umidade média referentes ao período experimental.....	29
Tabela 2. Composição química (% MS) da pastagem Cynodon, cultivares Coast-Cross e Estrela Africana.....	30
Tabela 3. Composição química dos alimentos utilizados nas rações e composição percentual e química (% da MS), dos concentrados a base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) peletizados com monensina (GSPM).....	31
Tabela 4. Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes em vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM).....	35
Tabela 5. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em $\mu\text{M/mL}$, nitrogênio amoniacal e pH do líquido ruminal de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina e (GSM) peletizados com monensina (GSPM).....	37
Tabela 6. Metabólitos sanguíneos de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados a base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina e (GSM) peletizados com monensina (GSPM).....	39

ARTIGO II

Páginas

Tabela 1. Histórico de temperatura média máxima, temperatura média mínima, precipitação total e umidade média referentes ao período experimental.....	52
Tabela 2. Composição química (% MS) da pastagem Cynodon, cultivares Coast-Cross e Estrela Africana.....	53
Tabela 3. Composição química dos alimentos utilizados nas rações e composição percentual e química (% da MS) dos concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) peletizados com monensina (GSPM).....	54
Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM).....	58
Tabela 5. Concentrações de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) no leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM).....	60
Tabela 6. Concentrações e razões de ácidos graxos agrupados no leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM).....	62
Tabela 7. Antioxidantes e parâmetros de oxidação do leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM).....	63

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Mecanismo de ação para antioxidantes primários.....	10
Figura 2. Estrutura química dos polifenóis.....	11
Figura 3. Estrutura geral da isoflavona e estradiol.....	12
Figura 4. Formação de dieno conjugados.....	13

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da peletização concentrado à base de milho e soja moído e a adição de monensina sódica sobre os parâmetros nutricionais e metabólicos e sobre a produção, composição, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas da raça Holandês. Foram utilizadas doze vacas multíparas com peso médio de $549,95 \pm 83,34$ kg distribuídas em quadrado latino triplo com quatro períodos experimentais de 21 dias cada. As dietas foram: concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM). As dietas não influenciaram o consumo de MS, contudo a digestibilidade aparente da PB e EE foram significativamente maiores para dietas peletizadas e para a interação entre peletização e monensina. A digestibilidade da FDN se apresentou reduzida na presença da peletização. Os parâmetros sanguíneos não sofreram alterações significativas bem como os parâmetros ruminais, exceto pela relação C2/C3, inferior para as dietas GSP e GSPM e para a interação entre monensina e peletização. A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura não sofreu alteração com as diferentes dietas, bem como a concentração de proteína e lactose ($P < 0,05$). Houve redução significativa no teor de gordura e sólidos totais para as dietas peletizadas, contudo estes elevaram a concentração de ureia, assim como o uso de monensina e a interação entre ambos. Houve efeito da peletização sobre a composição de ácidos graxos com aumento do C10:0; C18:3 n3 e C20:0 e redução do C14:0; C14:1; C20:3 n6 e C20:5 n3. A interação resultou na diminuição significativa dos C14:0; C16:0 e C20:3 n6. As concentrações e as razões entre os ácidos graxos não foram alteradas. Não houve efeito para o teor de polifenóis, flavonoides e para o parâmetro de força de redução do leite ($P > 0,05$), todavia, os dieno conjugados, que medem a atividade oxidativa do leite, foram afetados positivamente pela peletização.

Palavras-chave: antioxidantes, CLA, digestibilidade, oleaginosa, produção de leite, tratamento térmico

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the pelleting effect of concentrated based on corn and soybean ground and monensin sodium on nutritional and metabolic parameters and on production, composition, fatty acid profile and oxidative stability of milk from Holstein cows. A total of twelve Holstein cows, multiparous, with an average weight \pm standard deviation of 549.2 ± 84.8 kg, were distributed in a triple Latin square design with four experimental periods of 21 days each. The diets were: concentrated based on grinded soybeans and corn (GS); pelleted (GSP); grinded with monensina (GSM) and pelleted with monensina (GSPM). Diets did not affect DM intake, however, the apparent digestibility of CP and EE were significantly higher for pelleted diets and for the interaction between monensin and pelletizing. The NDF digestibility was significantly reduced in the pelleted diets. Different diets did not change statistically blood parameters. Ruminal parameters were unaffected by the diets, except for the ratio C2:C3 lower for treatments GSP and GSPM and for the interaction between monensin and pelletizing. There was no difference ($P > 0.05$) for milk production corrected for 3.5% of fat, protein and lactose, however, a significant reduction in fat and total solids for pelleted diets were observed. Urea concentration was significantly high for pelleted diet, aswell as for monensin and the interaction between them. Pelleted diets increased C10:0, C18:3 and C20:0 n3 and decrease C14:0; C14:1; C20:3 n6 and C20:5 n3 content. Furthermore, the interaction between monensin and pelletizing resulted in significant decrease of C14:0, C16:0 and C20:3 n6. Concentrations and ratios of fatty acids remained unchanged. The content of polyphenol, flavonoids and power reducing of milk was not significant ($P > 0.05$). The variable analyzed for diene conjugates, which measures the oxidative activity of Milk, was positively affected by pelleted diets.

Key words: antioxidants, CLA, digestibility, heat treatment, milk production, oleaginous

INTRODUÇÃO

1. Peletização

A peletização é considerada uma importante tecnologia de processamento de alimentos para a produção animal, visando o incremento no desempenho zootécnico por originar produtos mais seguros e de alta qualidade. Este tratamento físico consiste em aglutinar partículas de rações fareladas após submetê-las ao calor, umidade e pressão, resultando na formação de pequenas unidades tubulares conhecidos por *pellets* (Couto, 2008). Um dos propósitos deste tratamento é de preservar os nutrientes contidos nos grãos e limitar a degradação pelos microrganismos presentes no rúmen com consequente diminuição da biohidrogenação ruminal (Wernersbach Filho et al., 2006).

Cada *pellet* deve representar efetivamente a fórmula da ração e ter boa estabilidade e durabilidade. Para que isso ocorra, inicialmente deve haver uma gelatinização superficial do amido resultante da passagem do produto farelado por um processo hidrotérmico ao qual são adicionados 4% a 6% de água a uma temperatura média de 92°C. A gelatinização rompe as ligações químicas, desagrega a amilopectina e a amilose e expõe a molécula de hidrogênio à água. Por fim, esta massa viscosa é prensada e moldada seguida de resfriamento e secagem (Couto, 2008).

Dentre as funções que a peletização exerce, destacam-se: diminuição da seletividade animal; minimização da segregação de ingredientes com diferentes densidades; contenção do desperdício dos componentes; aumento do consumo pela aceitabilidade; atenuação da contaminação cruzada e microbiológica pelo aquecimento térmico e redução na quantidade de pó (Chang & Wang, 1998; Couto, 2008). Tal incremento energético é resultante de uma maior absorção da glicose, as enzimas digestivas se tornam mais eficientes pela gelatinização decorrida do processamento. Ocorre uma melhora na digestibilidade dos aminoácidos dietéticos, porque durante a

peletização as proteínas que se encontravam ligadas quimicamente ao amido presente no endosperma do grão sofrem desnaturação pelo calor (Whitlock et al., 2002).

Wernersbach et al., (2006) verificaram a produção e a composição do leite de vacas da raça Holandês que receberam diferentes formas de concentrado (farelado, peletizado, extrusado e com alto teor de energia) à base de milho moído e farelo de soja e observaram aumento significativo na produção de leite para os animais que consumiram concentrado tratado termicamente, quando comparados à dieta farelada e afirmaram que o tratamento térmico pode compensar o custo da alimentação para esta categoria animal.

De acordo com Chouinard et al. (1997) animais alimentados com grãos de soja moídos demonstraram maior consumo de MS quando comparados aos animais alimentados com grãos de soja extrusados, o que evidencia melhor eficiência alimentar com este tipo de tratamento. Não obstante, observaram que o tratamento térmico da extrusão aumenta a concentração de ácidos graxos poli-insaturados no leite com melhora na sua composição.

2. Monensina Sódica

Os ionóforos são moléculas solúveis em lipídios que transportam íons através da bicamada lipídica das membranas celulares a favor do seu gradiente de concentração (Nelson & Cox, 2002). Alguns tipos de ionóforos como a monensina são específicos para certas bactérias e protozoários que habitam o trato gastrointestinal e atuam como antibiótico, rompendo o gradiente de concentração transmembranar e o equilíbrio intracelular iônico e liberam a passagem dos íons enquanto impedem o contato com o interior hidrofóbico da membrana (McGuffey et al., 2001).

O uso da monensina em animais data da década de 1970 e originalmente era utilizada como aditivo anticoccidiano para aves (Goodrich et al., 1984). Este poliéter carboxílico inibe seletivamente as bactérias Gram positivas, produtoras de hidrogênio, precursor do metano. O resultado desta mudança da população bacteriana gera impacto positivo no metabolismo energético através do aumento da produção de propionato e redução concomitante de metano (Benchaar et al., 2006). Além disso, há uma diminuição na degradação ruminal de peptídeos e aminoácidos com consequente aumento de proteínas dietéticas para o intestino delgado (McGuffey et al., 2001).

Broderick (2004) obteve progresso no metabolismo energético através do uso de monensina sódica, com redução do metano por causa do aumento da concentração

ruminal de propionato. Consequentemente, houve redução na produção de metabólitos intermediários utilizados para a produção de metano, decréscimo nas concentrações de acetato e butirato e também na razão acetato/propionato em vacas canuladas que receberam dietas à base de alfafa, milho moído e farelo de soja adicionados de 248 mg/dia de monensina. Ruiz et al. (2001) concluíram que o uso de monensina alterou a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) com incremento na concentração de propionato e redução da concentração de acetato e butirato.

Os microrganismos ruminais são sensíveis aos ácidos graxos insaturados, que são então convertidos em ácidos graxos saturados, menos nocivos (Henderson, 1973). Este processo denominado biohidrogenação ruminal é ocasionado pelas bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter* (Bauman et al., 1999; Pariza et al., 2001). A monensina reduz esta população e diminui a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos de cadeia longa (Jenkins et al., 2003; Odongo et al., 2007). Eifert et al. (2005) verificou que a proporção de ácidos graxos insaturados presentes na gordura do leite foi superior quando a dieta dos animais continha monensina. Complementarmente, observaram que a utilização do aditivo intensificou os teores de ácidos graxos insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados do leite de vacas da raça Holandês que receberam dietas à base de silagem de milho e concentrado adicionadas ou não com óleo de soja e monensina (Eifert et al., 2006).

Eifert et al. (2005) obtiveram teores elevados de proteína e diminuição na concentração da gordura do leite ao fornecerem monensina e óleo de soja na dieta de vacas leiteiras na fase inicial de lactação. Da mesma forma, Phipps et al. (2000) observaram valores inferiores no teor de gordura do leite de vacas que receberam 300 e 450 mg/dia de monensina. Ainda, Ruiz et al. (2001) constataram aumento na produção de leite em vacas alimentadas com forragem juntamente com uma mistura à base de milho e 350 mg/dia de monensina.

Duffield et al. (2003) avaliaram os parâmetros sanguíneos de vacas em período de transição que haviam recebido cápsula de libertação controlada de monensina e concluíram que animais tratados com este ionóforo melhoraram significativamente os indicadores do balanço energético em ambos períodos. Em outro estudo de meta-análise realizado por Duffield et al. (2008) observaram que o uso de monensina resultou em aumento nas concentração de glicose e ureia, todavia, este ionóforo não teve efeito significativo nos níveis de cálcio e colesterol plasmáticos e ureia no leite.

3. Adição de gordura na dieta

A formulação correta da dieta dos animais de produção é essencial e deve ser elaborada a partir de uma combinação equilibrada de proteína, energia, fibra, vitaminas e minerais com o objetivo de suprir as necessidades de cada categoria animal, sem gerar transtornos metabólicos, oriundos da inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis que levam ao rápido abaixamento do pH ruminal (Costa et al., 2005).

Em função das exigências nutricionais para a manutenção da lactação de vacas de alta produção, é contínua a procura por dietas de elevado valor energético. Em vista disso, preconiza-se a suplementação lipídica na alimentação de ruminantes por possuir maior valor calórico do que qualquer outro nutriente e representar a fonte de reserva energética mais importante para os animais (NRC, 2001).

O conceito de manipulação da dieta para alterar a gordura presente no leite não é recente. Em 1845, identificou-se a depressão da gordura no leite de vacas alimentadas com dieta manipulada por Boussingault à base de beterraba (Van Soest, 1994), e representou a primeira teoria para explicar a ocorrência da depressão da gordura do leite (Bauman & Griinari, 2001). Segundo De Holanda et al. (2011), dietas com lipídios podem reduzir o teor de gordura, alterar o perfil dos ácidos graxos e intensificar a produção de leite. Em revisão, Oliveira et al. (2004) descreveram que a suplementação lipídica com fontes ricas em ácidos graxos poli-insaturados, tem se mostrado eficaz no aumento da concentração de CLA e de outros ácidos graxos insaturados na gordura do leite. Adicionalmente, Lomander et al. (2012) avaliaram o efeito da suplementação com glicerol ou propilenoglicol para vacas leiteiras no início da lactação e observaram que ambos os tratamentos interferiram positivamente na produção de leite.

Com relação ao metabolismo ruminal, Byers & Schelling (1989) apontaram que fontes de gordura adicionadas à ração, quando provenientes de grãos de oleaginosas, minimizam os efeitos lipídicos sobre a fermentação ruminal em decorrência do menor contato dos microrganismos com os lipídios, uma vez que estes estão presos à matriz proteica do grão. Ainda, esta suplementação possibilita reduzir a produção de metano, por inibir as bactérias ruminais Gram-positivas precursoras deste gás; reduz as concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal ($N-NH_3$); disponibiliza maior densidade energética aos animais com aumento na eficiência da produção de leite (Vargas et al., 2002). Entretanto, o excesso de lipídios na alimentação animal gera impacto na fermentação ruminal e efeitos metabólicos (NRC, 2001).

Segundo o NRC (2001), em rações com 5 a 6% de extrato etéreo, a adição de óleo de sementes reduz o consumo animal. Este excesso de ácidos graxos insaturados é tóxico aos microrganismos, por inibir sua ação e crescimento resultando em alterações na fermentação da fibra com aumento na taxa de passagem do conteúdo pelo trato gastrointestinal (Vargas et al., 2002). Outro fato, deve-se ao efeito da gordura sobre as fibras, que impede a aderência das bactérias e a ação das enzimas fibrolíticas ao substrato e prejudica a degradação da fibra e a atividade ruminal (Kozloski, 2002). Deve-se obedecer então, a quantidade máxima de 7% de extrato etéreo recomendado para a dieta total de vacas leiteiras (EMBRAPA, 2001) a fim de evitar interferência nos processos fermentativos e na qualidade do leite.

4. Suplementação lipídica com grão de soja

A soja [*Glycine max (L.) Merrill*] pertence à família Fabaceae e é uma das principais fontes de proteína e óleo vegetal do mundo. Foi, na década de 1970, consolidada como a principal cultura do agronegócio no Brasil, pelo programa oficial de incentivo à triticultura nacional (Embrapa, 2004). Em 1954, ocorreu o primeiro grande plantio desta espécie no estado do Paraná (Seixas et al., 2006).

No Brasil, estimou-se uma produção de 66,38 milhões de toneladas na safra 2011/2012, em uma área total de 38,6 mil hectares plantados. Somente a região sul foi responsável pela produção de 18,55 milhões de toneladas (CONAB, 2012), e se destaca como o segundo maior estado produtor deste grão, precedido pelo Mato Grosso. Os maiores produtores do mundo são segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2010), os Estados Unidos, Brasil e Argentina, responsáveis por 85% das exportações mundiais com controle do mercado internacional desta commodity.

O grão de soja e seus subprodutos desempenham papel fundamental na nutrição humana, por causa do maior rendimento de óleo. Tais produtos à base de soja possuem elevado percentual de ácidos graxos insaturados, com destaque para o óleo de soja com 75% de insaturação (Santos et al., 2001). Ressalta-se também a abundância em isoflavona, um antioxidante, que caracteriza este grão como um importante fitoquímico para a saúde humana (Genovese & Lajolo, 2001). Segundo o NRC (2001) o grão de soja é mais energético que o grão de milho por possuir cerca de 2,11 Mcal/kg de MS de energia líquida para vacas em lactação, além de conter um elevado teor de proteína bruta (42,8%), de gordura (18,8%) e de NDT (95%).

Segundo Dhiman et al. (2005) o grão de soja possui altos teores de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ácido linoleico. Afirmam também que grãos inteiros são menos eficientes na promoção de CLA na gordura do leite quando comparados à óleos livres, visto que os ácidos graxos insaturados do óleo são mais disponíveis para a biohidrogenação que no grão inteiro. De acordo com Jenkins & Lundy (2001), o encapsulamento dos ácidos graxos dentro da semente de grãos oleaginosos, é benéfico por reduzir o efeito negativo sobre a digestão de lipídios.

Dhiman et al. (1999) observaram que houve um aumento no conteúdo de CLA em 237% quando 2% de óleo de soja foram adicionados na ração dos animais. Houve também uma redução no teor de gordura do leite, que facilita a aceitação do consumidor a procura alimentos nutracêuticos e com menor proporção lipídica. Chouinard et al. (2001) testaram diferentes tratamentos ricos em lipídios e concluíram que os sais de cálcio do óleo de soja e de linhaça foram mais eficientes para aumentar o teor de CLA na gordura do leite, quando comparados à dieta controle ou à base de sais de cálcio de óleo de canola. Além disso, quando aplicado o tratamento térmico, a soja extrusada obteve resultados superiores em relação à concentração deste ácido graxo no leite quando comparada ao grão de soja micronizado, tostado ou moído.

Destaca-se, assim, o uso deste grão de oleaginosa, por ser considerado uma fonte de gordura parcialmente protegida dos microrganismos ruminais e, desta forma, atender as necessidades energéticas das vacas em lactação, sendo mais facilmente disponibilizada para a digestão pós ruminal.

5. Produção e qualidade do leite

Dentre os diversos componentes presentes no leite, a gordura é mais facilmente manipulado pela dieta e possui em sua composição AG com 12 ou mais carbonos conhecidos como ácido graxos de cadeia longa (AGCL), com 6 a 10 carbonos denominados de cadeia média (AGCM) e de 4 ou menos carbonos designados de cadeia curta (AGCC). Os AGCL provém da absorção da gordura intestinal ou de reservas de gordura acumuladas e mobilizadas (Eifert et al., 2006).

A síntese dos ácidos graxos de cadeia curta e média ocorre predominantemente na glândula mamária (Demeyer & Doreau, 1999), pela *síntese de novo*, a partir do ácido acético e butírico (Grummer, 1991), produtos da fermentação ruminal e contribui com 15% do carbono fixado como gordura (Chilliard et al., 2000). Uma outra parte dos ácidos graxos de cadeia média (50%), principalmente com 14 e 16 carbonos, têm

origem dietética (Grummer, 1991). Os ácidos graxos de cadeia longa têm origem exógena, provenientes da mobilização de reservas corporais ou dietética como os ácidos linoleico e α -linolênico presentes (Martin et al., 2006).

O leite contém 3 a 5% de lipídios totais, representados em quase sua totalidade por triacilgliceróis, dos quais 70% são ácidos graxos saturados, 25% monoinsaturados e apenas 5% poli-insaturados (Grummer, 1991). Uma alimentação saudável para humanos se baseia na ingestão de ácidos graxos poli-insaturados, pertencentes à família ômega 3 como o ácido linolênico (C18:3 n3) e ácido linoleico conjugado (CLA ou cis 9 trans 11 C18:2). Este último merece destaque pois, além de ser um potente anticarcinogênico natural, possui efeitos antidiabéticos, de modulação do sistema imune e de redução no desenvolvimento da aterosclerose humana por diminuir a concentração plasmática de LDL e do colesterol total (Bauman et al., 2000; Granlund et al., 2003).

O CLA ocorre em baixa concentração (1%) no total de ácidos graxos da gordura do leite (De Holanda et al., 2011) e representa um conjunto de isômeros geométricos do ácido linoleico com duas duplas ligações separadas por uma ligação simples sendo o isômero mais abundante o cis 9 trans 11 C18:2 (Modesto et al., 2002). Sua formação ocorre no ambiente ruminal e na glândula mamária (De Holanda et al., 2011).

A maior fonte de CLA (70 a 80%) resulta da síntese endógena via enzima Δ 9-desaturase (Bauman & Griinari, 2003). Na glândula mamária, o isômero trans 11 C18:1 (ácido transvacênico), proveniente da biohidrogenação ruminal é dessaturado pela enzima Δ 9-desaturase em cis 9 trans 11 CLA e outros isômeros. As desaturases agem na glândula mamária e convertem o ácido esteárico (C18:0) a ácido oleico (C18:1) (Tymchuk et al., 1998) e o ácido palmítico (C16:0) em palmitoleico (C16:1) (Palmquist & Mattos, 2006). Esta conversão é benéfica, uma vez que concentrações elevadas de ácidos graxos saturados (AGS) no leite são indesejáveis.

No ambiente ruminal, a formação do CLA, resulta da incompleta biohidrogenação do ácido linoleico através da quebra de ligações ésteres pela enzima ácido linoleico isomerase. Esta lipase microbiana, proveniente da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens* (Parodi, 1999), isomeriza a dupla ligação cis-12 dos ácidos graxos insaturados livres e resulta no isômero cis 9 trans 11 C18:2. Este é reduzido a trans 11 C18:1 e posteriormente hidrogenado a C18:0. Tal reação é lenta e limitante com acúmulo ruminal de trans 11 C18:1, e, devido a isso, este ácido graxo se torna mais disponível para absorção (Bauman et al., 1999). Uma forma de evitar a biohidrogenação é proteger os ácidos graxos no rúmen através do fornecimento de grãos inteiros de oleaginosas,

gordura protegida, através de técnicas de processamento térmico ou da utilização ionóforos modificadores da microbiota ruminal (Silva et al., 2007).

Fontes lipídicas provenientes da soja quando incluídas em dietas com mesmo nível de extrato etéreo (7%) resultam em concentrações mais altas de CLA na gordura do leite (Dhiman & Zaman, 2001). Tanaka (2005) afirma que a suplementação com óleos vegetais ou grãos de oleaginosas resultam em maiores teores de CLA na gordura do leite. Diante disso, o uso de grãos oleaginosos é tido como eficaz na incorporação de ácidos graxos poli-insaturados na carne ou no leite (Neves et al., 2007; Neves et al., 2009). Segundo Delbecchi et al. (2001) a adição de oleaginosas na dieta de vacas leiteiras aumenta a concentração de AGCL (como o C18:0 e C18:1) e reduz os AGCC.

A utilização de monensina sódica combinada com óleo de soja, aumenta a concentração de isômeros trans 11 C18:1 na gordura do leite (Eifert et al., 2006) sem alteração do CLA. Com relação à composição de leite, Dubuc et al. (2010) observaram que o fornecimento de monensina na dieta de vacas leiteiras por 12 semanas consecutivas resultou no aumento da produção de leite de 0,9 kg/vaca/dia. Tal efeito pode ser atribuído ao aumento no suprimento de precursores glicogênicos resultantes de alterações no padrão de fermentação no rúmen (Phipps et al., 2000). Houve diminuição no teor de gordura do leite das vacas que receberam monensina durante a lactação justificada pelo fato que este aditivo reduz a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos de cadeia longa que resulta na síntese de certos isômeros inibidores da síntese de gordura na glândula mamária (Baumgard et al., 2000; Bauman & Griinari, 2003).

5.1.Oxidação lipídica no leite

A fração lipídica dos alimentos está relacionada a diversas propriedades organolépticas do leite como odor, aroma, textura, coloração, além de aspectos como vida de prateleira, estabilidade das proteínas e conteúdo calórico. No leite, as partículas lipídicas estão ligadas às proteínas (caseínas e proteínas do soro do leite) que conferem estabilidade através de espessas camadas estabilizantes em um tipo natural de emulsão óleo em água (Kiokias et al., 2006).

Ao mesmo tempo que o aumento da concentração de ácidos graxos insaturados é desejável no leite, também altera sua suscetibilidade de oxidação. Charmlry & Nicholson (1994) determinaram a oxidação do leite de vacas suplementadas com farelo de soja, soja micronizada ou farelo de soja + vitamina E (derivada do óleo de palma e altamente saturada), contendo 2,5% de gordura e verificaram que dietas restritas à soja

desenvolveram sabores oxidados no leite decorrente da transferência de ácidos graxos poli-insaturados da dieta, associado ao aumento na proporção dos ácidos graxos trans C18:1 e C18:2 e diminuição na razão entre antioxidantes e ácidos graxos insaturados.

A oxidação lipídica é constituída de três fases principais: iniciação, propagação e terminação, que se caracterizam por uma série de reações químicas que envolvem ácidos graxos insaturados e oxigênio (Yin & Porter, 2005). A abundância de ácidos graxos insaturados em certos lipídios pode levar à oxidação que resulta em aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois e hidrocarbonetos (Quast & Aquino, 2004).

A fase de iniciação resulta da interação de um iniciador com o oxigênio, que quando ativado, reage com o ácido graxo insaturado e retira um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente à dupla ligação cis do ácido graxo insaturado, resultando na formação de radicais livres. Esta reação em cadeia termina quando as reservas de oxigênio e ácido graxo insaturado se esgotam (Sevanian & Hochstein, 1985).

Fatores como fontes elevadas de energia, radiação ultravioleta, usada na sanitização de alimentos, e, degradação térmica como a cocção, constituem iniciadores da oxidação lipídica e são capazes de romper a barreira eletroquímica entre o oxigênio e as moléculas de ácido graxo insaturado (Kanner, 1994; Coltro & Buratin, 2004). Em seguida, ocorre a fase de propagação caracterizada por reações com formação de diversos peróxidos. Estes, quando mensurados, indicam a intensidade da oxidação lipídica dos alimentos (Wang et al., 1995). A fase final de propagação é concluída pelo esgotamento dos substratos e formação dos compostos voláteis como os álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos responsáveis pelo sabor indesejável nos alimentos (Tomaino et al., 2005).

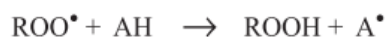
As consequências nutricionais da oxidação lipídica resultam na destruição parcial dos ácidos linoleico, linolênico e lipídios insaturados como as vitaminas A, carotenóides e tocoferóis; irritação da mucosa intestinal por peróxidos que provocam diarreia e redução da capacidade de absorção; formação de lipídios oxidados antagonistas de nutrientes como a tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, vitaminas A e B, tocoferóis, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados (Kirk, 1984; Kanner, 1994). Através da reação com radicais livres como o hidroperoxil, peroxil, hidroxil, alcóxil e oxigênio singlete (Yildirim et al., 2001), os antioxidantes tendem a estabilizar os ácidos graxos quelando os íons metálicos e cessando a fase de propagação da oxidação lipídica.

5.2. Antioxidantes

Antioxidantes são compostos que adiam ou inibem a oxidação lipídica e impedem o início das reações em cadeia da oxidação. As características desejáveis de um antioxidante incluem eficiência em baixas concentrações; ausência de efeitos indesejáveis nas características sensoriais dos alimentos; compatibilidade com estes; fácil administração; baixo custo; estabilidade nas condições de armazenamento e atoxidade (Bailey, & Fereidoon, 2005). Em 1797, o químico Claude Berthollet, registrou o retardamento das reações oxidativas através de certos compostos que posteriormente foram reconhecidos e patenteados como antioxidantes.

Os antioxidantes inativam os radicais livres, espécies químicas altamente reativas e oriundas da oxidação. Esta inativação ocorre, pois o antioxidante cede átomos de hidrogênio e interrompe a reação em cadeia. Outra forma de preservar as características organolépticas do produto final é a atuação dos antioxidantes na complexação de íons metálicos e na redução de hidroperóxidos até produtos incapazes de sintetizar radicais livres. A inibição completa da oxidação é impossível, mas o retardo desta por determinado tempo se dá pela formação de um radical inerte, incapaz de iniciar ou propagar as reações oxidativas (Araújo, 2008).

Os antioxidantes podem ser organizados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os primários englobam a classe dos compostos fenólicos, representados pelos polifenóis, que podem ser moléculas simples ou moléculas altamente polimerizadas (Balasundram et al., 2006). Dividem-se em dois grupos: dos flavonoides e derivados dos ácidos fenólicos e cumarinas. Seu mecanismo de ação é representado abaixo, segundo modelo proposto por Frankel (1980):



onde: ROO^\bullet e R^\bullet - radicais livres; AH - antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A^\bullet - radical inerte

Figura 1. Mecanismo de ação para antioxidantes primários.

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas, responsáveis pela maior parte das características organolépticas dos alimentos por estarem geralmente

envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos. São classificados em grupos (Figura 2), conforme o número de anéis fenólicos que contêm os elementos estruturais que vinculam estes anéis entre si: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas (Manach et al., 2004).

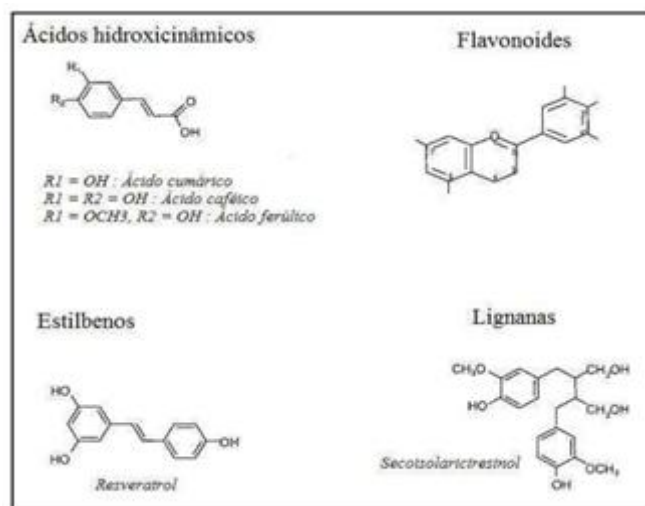


Figura 2. Estrutura química dos polifenóis
Fonte: Manach et al. (2004).

A principal razão para o interesse no estudo dos polifenóis ocorre pelo reconhecimento das propriedades antioxidantes e seu provável papel na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo, como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Arts et al., 2005).

As isoflavonas são flavonoides encontrados abundantemente em leguminosas, principalmente no grão de soja. Embora não sejam esteroides, são classificadas como fitoestrógenos por possuírem uma configuração análoga à molécula de estradiol (Figura 3) que confere propriedades pseudohormonais (Manach et al., 2004). Outras configurações que provam similaridade são a presença do anel fenólico, peso molecular equivalente e distância entre as hidroxilas. Por conseguinte, são relacionadas aos efeitos benéficos para a saúde humana como a redução do risco de câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose e amenização dos sintomas da menopausa (Genovese et al., 2001). As principais isoflavonas encontradas nesta leguminosa são a daidzeína, genisteína e gliciteína

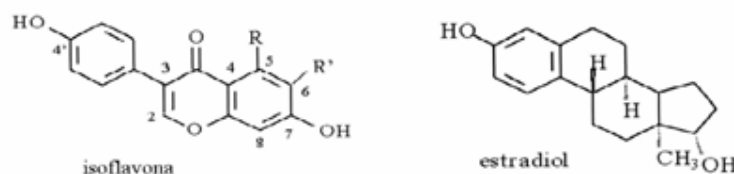


Figura 3. Estrutura geral da isoflavona e estradiol
Fonte: Manach et al. (2004).

Os antioxidantes regulam as funções metabólicas no organismo dos seres vivos inibindo e reduzindo as lesões causadas pelos radicais livres nas células. Além disso, sua presença nos produtos derivados de ruminantes é de suma importância, uma vez que este está diretamente relacionado com a qualidade e estabilidade do leite.

O desenvolvimento da oxidação lipídica no leite está correlacionado com a concentração de ácidos graxos poli-insaturados (Timmons et al., 2001). Ela é afetada pela presença de antioxidantes que podem estar ligados a fatores nutricionais do animal. Desta maneira, o leite incorpora uma série de mecanismos que previnem a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados e reestabelece suas características sensoriais. Esta incorporação também é possível com as gramíneas, conforme afirmam Havemose et al. (2004), que obtiveram altas concentrações de α -tocoferol e β -caroteno no leite de vacas leiteiras alimentadas com trevo branco.

A presença de antioxidantes naturais no leite *in natura* impede a oxidação dos lipídios (Lindmark-Manson & Akesson, 2000). Estes incluem enzimas como a catalase e a glutatona peroxidase que catalisa o peróxido de hidrogênio (Surai, 2006), proteínas como a lactoferrina, vitamina E, por fim os carotenoides que atuam como antioxidantes lipossolúveis na membrana dos glóbulos de gordura do leite, um dos principais sítios de auto-oxidação (Lindmark-Mansson & Akesson, 2000).

A transferência de antioxidantes polifenólicos para o leite de vacas é possível quando estas recebem alimentação rica nestes compostos. Vacas leiteiras quando suplementadas com 20% de casca de linhaça na matéria seca apresentaram aumento nas concentrações de enterolactona no leite, uma lignana mamífera proveniente de lignana vegetal da casca de linhaça (Petit et al., 2009).

Como já mencionado anteriormente, a adição de determinadas gorduras na dieta pode manipular a composição de ácidos graxos do leite de diversas maneiras. Goering et al. (1976) mostraram que a alimentação com óleo protegido de cártamo aumentou a

concentração de ácido linoleico na gordura do leite e isto foi associado ao desenvolvimento de fortes sabores oxidados a este alimento.

Existem diferentes métodos para a avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras, entretanto, nenhum se correlaciona com as modificações sensoriais que ocorrem no decorrer das reações oxidativas. O grau de oxidação pode ser estimado através da análise produtos primários como os dienos conjugados, resultantes da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados e ao deslocamento das duplas ligações (Berset & Cuvelier 1996).

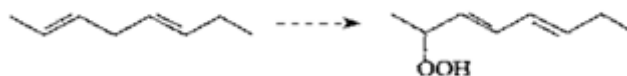


Figura 4. Formação de dieno conjugados
Fonte: Hamilton (1983).

Os dienos conjugados absorvem um comprimento de onda a 232 nm. As α -dicetonas e as cetonas insaturadas, produtos secundários da sua oxidação, são absorvidas a 272 nm. Tal contraste permite distinguir estados de evolução oxidativa fundamentado na relação $A_{272} \text{ nm}/A_{232} \text{ nm}$, ou seja, quanto maior o valor da absorbância a 232 nm, mais elevado será o conteúdo em peróxidos indicando o início do processo de oxidação (Hamilton et al., 1983).

Outro método utilizado para a avaliação da atividade antioxidante é baseado na redução do Ferro, através do poder redutor. Tal técnica avalia a capacidade de compostos fenólicos reduzirem o ferricianeto de potássio a ferrocianeto de potássio, (doa elétron) que interrompe a reação de oxidação. A maior absorbância da mistura de reação é consequência do grande poder redutor da amostra e da alta capacidade antioxidante desta (Yen & Chen, 1995).

6. Parâmetros nutricionais

O consumo, a fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, e os parâmetros sanguíneos são elementos importantes para a avaliação de dietas para ruminantes. A digestibilidade *in vivo* pode ser influenciada por processamentos físicos e químicos e pelos efeitos associativos entre os alimentos, além de sofrer influência da espécie animal, do nível de consumo, taxa de passagem (Cochran et al., 1986).

Variações na digestibilidade são observadas quando existem elevados teores de fibra na dieta que estabelecem o enchimento ruminal, limitam a ingestão de matéria seca (Oba & Allen, 2003) e prolongam o tempo da taxa de passagem (Van Soest, 1994). Da mesma forma, a adição de lipídios na dieta pode limitar a digestão por produzir efeitos sobre a fermentação ruminal e o metabolismo (NRC, 2001).

Em trabalho realizado por Vargas et al. (2002) houve redução no consumo de MS ao fornecerem dietas à base de grão de soja comparando as dietas à base de farelo de soja. Petit (2002) ao fornecer linhaça em grão, Megalac® (sais de cálcio de ácido graxo) ou soja micronizada a vacas lactantes notou menores coeficientes de digestibilidade de FDN, FDA e o EE de dietas contendo linhaça. Todavia, Grummer (1995) afirma que uma fonte lipídica é considerada ideal quando não exerce interferência sobre a ingestão da matéria seca e fermentação ruminal. Se a fonte lipídica utilizada na ração for protegida, os efeitos sobre a fermentação ruminal são atenuados em razão da menor disponibilidade dos lipídios no ambiente ruminal (Byers & Schelling, 1989).

A extensão e o tipo de fermentação determinam a natureza e a quantidade dos vários metabólitos que são absorvidos no trato digestório (NRC, 2001). O padrão de fermentação indica o potencial nutricional do alimento, sendo que o pH, N-NH₃ e os AGCC produzidos e absorvidos estão relacionados aos produtos finais da fermentação e são indicadores das condições do ambiente ruminal (Van Soest, 1994).

Para que haja atividade microbiana normal no rúmen, o pH deve estar entre $6,7 \pm 0,5$. O pH pode ser influenciado pela natureza da ingesta, e tem na saliva a ação tamponante. O pH também pode ser influenciado pela capacidade da mucosa gástrica em absorver os ácidos produzidos na fermentação ruminal (Van Soest, 1994). De acordo com Hoover, (1986) ocorre redução no número de microrganismos fibrolíticos quando o pH atinge 5,5 a 5,0, levando a inibição da digestão da fibra.

Com relação aos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) presentes no rúmen, a faixa normal é de 54 a 74% para ácido acético, 16 a 27% para propiônico, 6 a 15% para butírico e 90 a 150 mM para a AGCC total (Lana, 2007). Esta variação está relacionada com a forma física da dieta e o tipo de carboidrato presente nesta; com o consumo e frequência de alimentação e com o uso de aditivos na ração (Kozloski, 2002). O fornecimento de óleos ou grãos de oleaginosas reduz o teor de ácido acético e aumenta o teor de ácido propiônico, alteração geralmente relacionada com baixa digestão da fibra (Ferlay et al., 1992; Tesfa, 1993).

Outro parâmetro nutricional igualmente importante é o teor de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) ruminal, que indica as taxas de produção e utilização de amônia. O abastecimento $N-NH_3$ é feito por meio da reciclagem via saliva, difusão através da parede ruminal, nitrogênio não proteico da dieta e degradação da proteína verdadeira dietética (Van Soest, 1994). A presença de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é fator predominante no desenvolvimento da microbiota do rúmen que influencia o pH e consequentemente a fermentação ruminal.

7. Parâmetros Sanguíneos

O perfil metabólico é utilizado como forma de monitoramento de deficiências e transtornos relacionadas à nutrição animal (Duffield & Leblanc, 2009). O fornecimento lipídico na dieta pode alterar este perfil e, desta forma, o conhecimento dos valores hematológicos de referência tornando indispensável nas criações de gado leiteiro atuais (Onetti & Grummer, 2004).

No perfil metabólico, o metabolismo energético é representado pela glicose, colesterol e beta-hidroxibutirato, já o metabolismo proteico pela concentração de ureia, hemoglobina, globulinas e albumina e os minerais são representados pelo teor de cálcio, potássio, fósforo inorgânico e sódio (Dirksen & Breitner, 1993)

Os lípideos biologicamente mais relevantes são os fosfolípideos, os triglicérides, os ácidos graxos e o colesterol. O colesterol é precursor de hormônios esteroides, ácidos biliares e vitamina D e atua como constituinte das membranas celulares, responsável pela fluidez destas e na ativação de enzimas aí situadas (Santos, 2001).

Diferentes combinações de lipídios e proteínas produzem partículas denominadas lipoproteínas que permitem o transporte dos lípideos hidrofóbicos no meio aquoso plasmático. Podem ser divididas em dois grupos: maiores, menos densas e ricas em triglicérides, representadas pelas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) de origem hepática e outro grupo representado pelas lipoproteínas ricas em colesterol de densidade baixa (LDL) e de densidade alta (HDL) (Sposito et al., 2007).

Os ácidos graxos em excesso na dieta são convertidos em triacilgliceróis no fígado e transportados por meio das VLDL e LDL. Os triglicérides das VLDL são hidrolisados pela lipase lipoproteica e liberam os AG para o músculo e tecido adiposo. Uma parte das VLDL origina as LDL, compostas principalmente de colesterol, que permanecem por longo tempo no plasma e são transportadas para tecidos periféricos e

removidas pelo fígado através de certos receptores. A expressão desses receptores é a principal responsável pelo nível de colesterol no sangue (Nelson & Cox, 2002).

A síntese desordenada de colesterol causa graves doenças como a aterosclerose, relacionada aos altos níveis de LDL. O aumento do colesterol sanguíneo resultante da dieta é exemplificado por Van Soest (1994) ao afirmar que o fornecimento de óleo insaturado protegido eleva a concentração de triglicerídios no sangue e aumenta o colesterol sanguíneo e por Freitas Júnior et al. (2010) que observaram maiores concentrações de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL) para as vacas alimentadas com as rações que continham diferentes fontes de gordura, como o óleo de soja refinado, grão de soja *in natura* e sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). Barletta et al. (2012) ao avaliarem diferentes níveis de inclusão de grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras em início de lactação constataram resultados significativamente maiores para as variáveis colesterol total e HDL.

A união da suplementação lipídica aliada ao tratamento térmico da peletização e a adição de monensina sódica na dieta de vacas leiteiras, gera efeitos positivos nos parâmetros nutricionais através da proteção da proteína contra a degradação ruminal e melhora na digestibilidade dos nutrientes com reflexo no consumo de MS. O fornecimento de ionóforos altera a fermentação ruminal, com incremento no metabolismo energético através do aumento no teor de ácido propiônico e redução de ácido acético. A peletização aliada à monensina sódica são benéficas por reduzirem a taxa biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos e conseqüentemente melhorar o perfil lipídico do leite, com redução no teor de ácidos graxos saturados e aumento de ácidos graxos poli-insaturados, considerados benéficos para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídios em alimentos. Em: **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 4.ed. Viçosa: Editora UFV, p.16-122, 2008, 596p.
- ARTS, I.C.W .; HOLLMAN, P.C.H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.317S-325S, 2005.
- ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. Potential to Alter the Content and Composition of Milk Fat through Nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204–2212, 1997.
- BAILEY, A. E.; FERREIDON, S. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**, 6^a ed. John Wiley & Sons: New York, v.6, 2005.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v.99, p.191-203, 2006.
- BARLETTA, R.V.; RENNO, F.P.; GANDRA, J.R.; et al. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de zootecnia**, v.61, p. 483-492, 2012.
- BAUMAN, D. E.; BAUMGARD, L. H.; CORL, B.A.; et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, 1999.
- BAUMAN, D.E.; BARBANO, D.M.; DWYER, D.A. et al. Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2422-2425, 2000.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15–29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203–227, 2003.
- BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology**, v.278, p.R179-R184, 2000.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; et al. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.4352-4364, 2006.

- BERSET, C.; CUVELIER, M.E.; Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. **Sciences des Aliments**, v.16, p.219-245, 1996.
- BRODERICK, G.A. Effect of low level monensin supplementation on the production of dairy cows fed alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.359-368, 2004.
- BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition**. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. New Jersey: A reston Book. 1989. p.298-312.
- CHANG, Y.K.; WANG, S.S. Advances in extrusion technology. International Symposium on Animal and Aquaculture Feedstuffs by Extrusion Technology in Aguas de Lindóia, Brazil. In : **Advances in Extrusion Technology: Aquaculture/Animal Feeds and Foods**. São Paulo, Águas de Lindóia: Technomic, 1998, 422p.
- CHARMLEY, E.; NICHOLSON, J.W.G. Influence of dietary fat source on oxidative stability and fatty acid composition of milk from cows receiving a low or high level of dietary vitamin E. **Canadian Journal Animal Science**, v.74, p.657-664, 1994.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M.; et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *INRA Annales De Zootechnie*, v.49, p181-205, 2000.
- CHOUINARD, P.Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997.
- CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; BUTLER, W.R.; et al. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.680-690, 2001.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D.; et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- COLTRO, L.; BURATIN, A. E P. **Garrafas de PET para óleo comestível - avaliação da barreira à luz**. Centro de Tecnologia de Embalagem, ITAL, SP. 2004
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Boletim de acompanhamento de safras: grãos: safra 2011-2012: décimo levantamento. Brasília: Conab, Abril/ 2012. 29p. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253>&t=> Acesso em: 8 setembro de 2012.
- COSTA, M.G.; CAMPOS, J.M.S.; FILHO, S.C.V.; et al. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2437-2445, 2005.
- COUTO, H.P. **Fabricação de rações e suplementos para animais: gerenciamento e tecnologias**. Viçosa (MG): Editora Aprenda Fácil, 2008, 263p.
- DE HOLANDA, M.A.C.; DE HOLANDA, M.C.R.; MENDONÇA JÚNIOR, A.F.; Suplementação dietética de lipídios na concentração de ácido linoléico conjugado na gordura do leite. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, p.221-229, 2011.
- DELBECCHI, L.; AHNADI, C.E.; KENNELLY, J.J.; et al. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1375-1381, 2001.

- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.
- DHIMAN, T. R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; et al. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2146-2156, 1999.
- DHIMAN, T.R.; ZAMAN, M.S. Manipulação das dietas de vacas em lactação com o objetivo de agregar valor ao leite. In: **Simpósio de nutrição e produção de gado de leite**, Belo Horizonte. Anais do 2º simpósio de nutrição e produção de gado de leite, p.21-38, 2001.
- DHIMAN, T.R.; NAM, S.; URE, A.L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.45, p.463-482, 2005.
- DIRKSEN, G.; BREITNER, W. New quick-test for semi quantitative determinations of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. **Journal Veterinary Medical Animal Physiology Pathology Clinical Medical**, v.40, p.779-784, 1993.
- DUBUC, J.; DU TREMBLAY, D.; BARIL, J.; et al. A field study on the effects of dietary monensin on milk production and milk composition in dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, p.375-379, 2010.
- DUFFIELD, T.F.; LEBLANC, S.; BAGG, R.; et al. Effect of monensin controlled released capsule on metabolic parameters in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1171-1176, 2003.
- DUFFIELD, T.F.; RABIEE, A.R.; LEAN, I.J. A Meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1347-1360, 2008.
- DUFFIELD, T.F.; LEBLANC, S.J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **Southwest Nutrition and Management Conference**, p.106-114, 2009.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D.; et al. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.211-218, 2006.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I.; et al. Efeito da combinação de óleo de soja e monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca e a digestão em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.297-308, 2005.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Tecnologia de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2004**. Londrina, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>> Acesso em: 10 de setembro de 2012.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Embrapa Gado de Leite**. Juiz de Fora, 2011 Disponível em <<http://www.cnpagl.embrapa.br/sistemaproducao/book/export/html/256>> Acesso em 12 de setembro de 2012.
- FERLAY, A.; LEGAY, D.; BAUCHART, C.; et al. Effect of a supply of raw or extruded rapeseeds on digestion in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.70, p.915-923, 1992.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Major food and agricultural commodities and producers.** Disponível em: <<http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=en&item=236&year=2005>> Acesso em: 8 setembro de 2012.
- FRANKEL, E.N. Lipid Oxidation. **Progress in Lipid Research**, v.19, p.1-22, 1980.
- FREITAS JÚNIOR, J.E.; RENNÓ, F.P.; SILVA, L.F.P.; et al. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, p.950-956, 2010.
- GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavonas da soja: fatores que influem nos tipos e teores em alimentos. **Food Ingredients**, v.11, p.62-64, 2001.
- GOERING, H.K.; GORDON, C.H.; WRENN, T.R.; et al. Effect of Feeding Protected Safflower Oil on Yield, Composition, Flavor, and Oxidative Stability of Milk. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.416-425, 1976.
- GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R.; et al. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1484-1498, 1984.
- GRANLUND L.; JUVET L.; PEDERSEN J.; et al. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid prevents triacylglycerol accumulation in adipocytes by acting as a PPAR γ modulator. **Journal of Lipid Research**, v.44, p.1441-1452, 2003.
- GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating cows by delta-9-desaturase. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3244-3257, 1991.
- GRUMMER, R.R. Ruminant inertness vs. digestibility of fat supplements: can there be harmony? In: Cornell Nutrition Conference For Feed Manufacturers. **Proceedings**. Ithaca: Ithaca Cornell University, p.13-24, 1995.
- HAMILTON, R. J.; ROSSELL, J. B.; HUDSON, B. J. F.; et al. In: **Rancidity in Foods**. Applied Science Publishers LTD.; London, 1983, p.1.
- HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; et al. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. **International Dairy Journal**, v.14, p.563-570, 2004.
- HENDERSON C. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. **The Journal of Agriculture Science**, v.81, p.107-112, 1973.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.
- JENKINS, T.; LUNDY, F. Feeding various fat sources to lactating dairy cows and their effects on milk quality. **2001 Dairy Cattle Nutrition Workshop**. Grantville, PA, 2001.
- JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.324-330, 2003.
- KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, v.36, p.169-189, 1994.

- KIOKIAS, S.N.; DIMAKOU, C.P.; TSAPROUNI, I.V.; et al. Effect of Compositional Factors against the Thermal Oxidative Deterioration of Novel Food Emulsions. **Food Biophysics**, v.3, p.115-123, 2006.
- KIRK, J.R. Biological availability of nutrients in processed foods. **Journal of Chemical Education**, v.61, p.364-367, 1984.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1ª ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140p.
- LANA, R. de P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades)**. 2ed., Viçosa: Editora UFV. 2007. 344p.
- LINDMARK-MANSSON, H.; AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.103-110, 2000.
- LOMANDER, H.; FRÖSSLING, J.; INGVARTSEN, K.L.; et al. Supplemental feeding with glycerol or Propyleneglycol of dairy cows in early lactation- Effects on metabolic status, body condition and milk yield. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2397–2408, 2012.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.
- MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, p.761-770, 2006.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON; J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.E194-E203, 2001.
- MODESTO, E.C.; SANTOS, G.T.; VILELA, D.; et al. Efeitos nutricionais e metabólicos de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados para os ruminantes e os benefícios para o homem. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.5, p.119-134, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th. Rev. ed. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**, 2001. 381p.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehninger: **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier. 2002. 975p.
- NEVES, C.A.; SANTOS, G.T.; MATSUCHITA, M.; et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.32-44, 2007.
- NEVES, C.A.; SANTOS, W.B.R.; SANTOS, G.T.; et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed extruded canola seeds treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.154, p.83-92, 2009.
- OBA, M.; ALLEN, M.S. Effects of corn grain gain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.174-183, 2003.
- ODONGO, N.E.; OR-RASHID, M.M.; BAGG, R.; et al. Long-term effects of feeding monensin on milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5126-5133, 2007.

- OLIVEIRA, S.G.; SIMAS, J.M.C.; SANTOS, F.A.P.; et al. Suplementação com diferentes fontes de gordura em dietas com alta e baixa inclusão de concentrado para vacas em lactação. **Ars veterinaria**, v.20, p.160-168, 2004.
- ONETTI, S.G.; GRUMMER, R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v.115, p.65-82, 2004.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI T. T; PIRES A. V.; OLIVEIRA S. G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. 1ª ed. Jaboticabal: Funep, v.1, p.287-310, 2006.
- PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.283-298, 2001.
- PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1339-1349, 1999.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1482-1490, 2002.
- PETIT, H.V.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D.; et al. The interaction of monensin and flaxseed hulls on ruminal and milk concentration of the mammalian lignan enterolactone in late-lactating dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.76, p.475-482, 2009.
- PHIPPS, R.H.; WILKINSON, J.I.D.; JONKER, L.J.; et al. Effect of monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2789-2794, 2000.
- QUAST L. B.; AQUINO A. D. Oxidação dos lipídios em café arábica (*Coffea arábica*) e café robusta (*Coffea canephora* P.). **Boletim do CEPPA**, v.22, p.325-336, 2004.
- RUIZ, R.; ALBRECHT, G.L.; TEDESCHI, L.O.; et al. Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1717-1727, 2001.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; et al. Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1931-1938, 2001.
- SANTOS, R. D. (Coord.). III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.77, p.1-48, 2001.
- SEIXAS, C.D.S.; GODOY, C.V.; FERREIRA, L.P.; et al. Manejo das doenças da soja nas regiões sul e sudeste. **Revista de Fitopatologia Brasileira**. 2006.
- SEVANIAN, A., HOCHSTEIN, P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. **Annual Reviews of Nutrition**, v.5, p.365-390, 1985.
- SILVA, D.C.; SANTOS, G.T.; BRANCO, A.F.; et al. Production performance and milk composition Dairy Cow fed Whole or Ground Flaxseed with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.2928-2936, 2007.
- SPOSITO, A.C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F.A.H.; et al. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemia e prevenção da aterosclerose. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.88, p.2-19, 2007.

- SURAI, P.F. Selenium in nutrition and health. 1^a ed. United Kingdom: **Nottingham University Press**, 974p, 2006.
- TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal**, v.76, p.291-303, 2005.
- TESFA, A.T. Effects of rape-seed oil supplementation on digestion, microbial proyein synthesis and duodenal microbial amino acid composition in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.41, p.313-328, 1993.
- TIMMONS, J.S.; WEISS, W.P.; PALMQUIST, D.L.; et al. Relationships Among Dietary Roasted Soybeans, Milk Components, and Spontaneous Oxidized Flavor of Milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.2440-2449, 2001.
- TOMAINO, A.; CIMINO, F.,; ZIMBALATTI, V.; et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, London, v.89, p.549-554, 2005.
- TYMCHUK, S.M.; KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Effect of feeding formaldehyde – and heat- treated oil seedon Milk yield and Milk composition. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78, p.693-700, 1998.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd edition. **Cornell University Press**. United States of America. 1994. 476p
- VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; et al. Adição de Lipídios na Ração de Vacas Leiteiras: Parâmetros Fermentativos Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.522-529, 2002.
- WANG, F-S.; JIANG, Y-N.; LIN, C.W. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. **Meat Science**, v.40, p.93-101, 1995.
- WANG, J.H.; ZHU, B.W.; SONG, M.K.; et al. Effect of monensin, fish oil or their combination on in vitro fermentation and conjugated linoleic acid (CLA) production by ruminal bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.341-349, 2005.
- WATANABE, S.; YAMAGUCHI, M.; SOBUE, T.; et al. Pharmacokinetics of soy-bean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). **Journal of Nutrition**, v.128, p.1710–1715, 1998.
- WERNERSBACH FILHO, H.L.; CAMPOS, J.M.S.; ASSIS, A.J.; et al. Consumo, digestibilidade aparente e desempenho de vacas leiteiras alimentadas com concentrado processado de diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1228-1235, 2006.
- WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; et al. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.
- YEN, G.H.; CHEN, H.Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.27-32, 1995.
- YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J. Agric. Food Chemistry*. Chicago, v.49, p.4083-4089, 2001.
- YIN, H.; PORTER, N. A. Antioxidants & Redox Signaling. **Instituto de Química da Universidade de São Paulo**, v.7, p.170-184, 2005.

OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se avaliar o efeito da peletização do concentrado contendo grãos de soja moídos ou peletizados, com e sem adição de monensina para vacas da raça Holandês mantidas em pastagem do gênero *Cynodon* sp. sobre os parâmetros nutricionais e metabólicos, sobre a produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos e capacidade oxidativa do leite.

CAPÍTULO II – ARTIGO I

RESUMO

Influência da peletização do concentrado contendo grão de soja e monesina sódica sobre os parâmetros digestivos de vacas da raça Holandês

Objetivou-se avaliar o efeito da peletização dos grãos de soja e a adição de monesina sódica sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e sobre os parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas da raça Holandês. Foram utilizadas doze vacas multíparas com peso médio de $549,95 \pm 83,34$ kg distribuídas em um delineamento em quadrado latino triplo com quatro períodos experimentais de 21 dias cada. As dietas foram: concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monesina (GSM) peletizados com monesina (GSPM). O consumo de matéria seca (MS) foi determinado, bem como a digestibilidade aparente total da MS, proteína bruta PB, matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN). Os concentrados não influenciaram o consumo de MS, todavia a digestibilidade aparente da PB e EE foram maiores ($P < 0,05$) para dietas peletizadas e para a interação entre monesina e peletização. A digestibilidade da FDN se apresentou reduzida na presença da peletização. Os parâmetros sanguíneos: colesterol total, triglicérides, LDL, HDL, HDLD, ureia, cálcio e fósforo não sofreram alterações significativas. Os parâmetros ruminais não foram afetados pelas dietas, exceto pela relação acetato/propionato que se apresentou inferior para os tratamentos GSP e GSPM e para a interação entre monesina e peletização.

Palavras-chave: colesterol, digestibilidade, ionóforos, processamento de grãos, relação acetato/propionato

ABSTRACT

Influence of concentrated based on pelleted soybeans and sodium monensin on digestive parameters of Holstein cows

The purpose of this work was to evaluate the effect of pelleted soybeans and monensin sodium addition on intake and nutrient digestibility, ruminal and blood parameters of lactating cows. A total of twelve Holstein multiparous cows, with an average weight of 549.95 ± 83.34 kg, were distributed in a triple Latin Square design with four experimental periods of 21 days each. The treatments were: soybeans ground (GS); soybean pelleted (GSP); soybeans ground with monensin (GSM) and soybean pelleted with monensin (GSPM). The total intake of dry matter (DM), total apparent digestibility of DM, crude protein (CP), organic matter (OM), ether extract (EE) and neutral detergent fiber (NDF) were measured. Treatments did not affect ($P > 0.05$) DM intake, however, the apparent digestibility of CP and EE were higher ($P < 0.05$) for pelleted diets and for the interaction between monensin and pelletizing. The NDF digestibility was significantly reduced on pelleted treatments. Different treatments did not change statistically blood parameters as total cholesterol, triglycerides LDL, HDL, HDLD, urea, calcium and phosphorus. Ruminal parameters were unaffected by diets, except for the ratio C2/C3 that was lower for treatments GSP and GSPM and for the interaction between monensin and pelletizing.

Key words: acetic:propionic ratio, cholesterol, digestibility, grain processing, ionophores

Introdução

Animais de alta produção necessitam de dietas com elevada densidade energética. A suplementação lipídica para ruminantes objetiva aumentar a densidade calórica das rações e suprir as necessidades do animal ao longo da fase lactacional (Sutton, 1989).

O grão de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a espécie mais cultivada do Brasil, (Embrapa, 2000). Por ser rico em óleo vegetal é utilizado em dietas de vacas leiteiras a fim de incrementar a densidade energética da ração (Palmquist & Jenkins, 1980). Este grão possui 10% mais energia líquida por kg/MS que seu farelo (NRC, 2001), tornando uma fonte energética vantajosa. Além de ser rica em ômega-3 (Petit, 2002), possui grande quantidade de proteína degradável no rúmen (Valadares Filho et al., 2006).

Dietas com grãos de soja amenizam o efeito lipídico sobre a fermentação ruminal, porque o óleo é liberado numa velocidade menor sem interferir na digestibilidade dos nutrientes (Coppock & Wilks, 1991).

A peletização, um processo físico, aumenta a disponibilidade energética, a digestibilidade dos nutrientes e reduz a solubilidade da proteína no rúmen, com maior suprimento de aminoácidos no intestino (Whitlock et al., 2002). A monensina modifica a microbiota ruminal e altera a produção de ácidos graxos de cadeia curta (Lana & Russel, 2001) com incremento na concentração de ácido propiônico e redução de ácido acético e butírico (Broderick, 2004).

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da peletização do grão de soja e da suplementação com monensina sódica para vacas em lactação através dos parâmetros: consumo, digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais e parâmetros sanguíneos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, no município de Iguatemi, Paraná, Brasil. Dados climáticos durante o período experimental (01/10/2011 a 23/12/2011) estão apresentados na Tabela 1, e foram obtidos no posto meteorológico instalado na Fazenda experimental de Iguatemi.

Tabela 1. Histórico de temperatura média máxima, temperatura média mínima, precipitação total e umidade média referentes ao período experimental

Variáveis	Período			
	1	2	3	4
Temperatura média máxima (° C)	28,4	28,3	29,1	30,7
Temperatura média mínima (° C)	18,0	17,3	18,2	19,3
Precipitação Total (mm)	110,8	91,0	101,6	28,6
Umidade Relativa do Ar Média (%)	74,1	69,3	69,6	63,4

Fonte: Fazenda Experimental de Iguatemi – FEI (2011).

Foram utilizadas doze vacas da raça Holandês, multíparas, com $202 \pm 34,9$ dias de lactação, com média de produção de $15,36 \pm 2,36$ kg de leite por dia. Os animais foram pesados ao final de cada período experimental e apresentaram peso médio final igual a $549,95 \pm 83,34$ kg. Elas foram distribuídas em triplo quadrado latino 4 X 4, com quatro períodos experimentais de 21 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e sete dias para a coleta de amostras e dados. Quatro vacas não lactantes portavam cânula ruminal e, desta forma, os parâmetros ruminais foram avaliados.

Os animais permaneciam a pasto em uma área total de 1,16 hectares, previamente roçada e adubada com superfosfato simples, ureia e cloreto de potássio. Esta área era composta por pastagens do gênero *Cynodon* (Coast-Cross e Estrela Africana) subdividida em quatro piquetes com tamanho médio de 0,27 hectares com livre acesso a água. A rotação dos animais entre os piquetes era determinada pela medição da altura da gramínea com uma régua posicionada verticalmente em relação ao solo. Esta medição foi realizada a cada 3 dias em 20 pontos amostrais aleatórios a fim de se obter uma altura média. As vacas foram manejadas para o interior do piquete quando a gramínea atingia 40 cm e retiradas quando esta apresentava a altura de 20 cm.

A fim de avaliar a qualidade do material fibroso ingerido pelo animal, realizou-se manualmente o pastejo simulado nos dias um, três e seis da semana de coleta de cada

período experimental, na tentativa de se obter uma porção da planta semelhante àquela selecionada pelos animais (Euclides et al., 2009). Esta técnica é utilizada como objetivo de indicar o material ingerido pelo animal, e constitui uma alternativa de substituição à coleta de extrusa esofágica (De Vries, 1995). O resultado foram amostras compostas por piquete e por período. Posteriormente foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C – 72 h), moídas em moinho com peneira de crivos de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas (MM), conforme descrito em Silva & Queiroz (2002) e fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al. (1991). A composição química da pastagem no período experimental pode ser visualizada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química (% MS) da pastagem *Cynodon*, cultivares Coast-Cross e Estrela Africana

g/kg MS	Período 1	Período 2	Período 3	Período 4	Média ± DP ⁸
MS ¹	276,8	265,2	340,8	332,3	30,46 ± 3,83
MO ²	916,7	921,6	933,9	935,8	92,78 ± 0,93
PB ³	110,0	1,0,0	90,0	90,0	10,0 ± 2,83
EE ⁴	11,6	14,6	10,0	12,0	1,18 ± 0,19
FDN ⁵	738,3	681,3	753,8	738,4	73,84 ± 3,19
FDA ⁶	393,5	359,3	400,2	383,4	38,85 ± 1,79
MM ⁷	83,3	78,4	66,1	64,2	7,22 ± 0,93

¹MS= Matéria seca; ²MO = matéria orgânica; ³PB= proteína bruta; ⁴EE= extrato etéreo; ⁵FDN= fibra em detergente neutro; ⁶FDA= fibra em detergente ácido; ⁷MM = matéria mineral; ⁸ DP= desvio padrão

Os animais foram alojados durante uma hora em baias individuais para o fornecimento da suplementação concentrada seguida das ordenhas matinal (07h) e vespertina (16h). Estimou-se uma razão volumoso:concentrado de 65:35, para que as dietas fossem isoproteicas e isoenergéticas, de modo a atender as exigências nutricionais de vacas em lactação, conforme NRC (2001). Os animais recebiam aproximadamente 1% do peso corporal de matéria seca de concentrado, composto de grão de soja e milho moídos. As dietas diferiam quanto ao método de processamento (moído ou moído peletizado) e quanto à adição ou não de monensina da seguinte forma: farelado composto por grão de soja moído + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GS); peletizado composto por grão de soja moído + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GSP); farelado composto por grão de soja moído + monensina + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GSM); peletizado composto por grão de soja moído + monensina + milho moído+ suplemento mineral e

vitamínico (GSPM). A composição química (%) dos alimentos utilizados nos concentrados é descrita na Tabela 3, bem como a composição percentual e química dos concentrados no período experimental.

Tabela 3. Composição química dos alimentos utilizados nas rações e composição percentual e química (% da MS), dos concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) peletizados com monensina (GSPM)

Alimentos	Composição química (g/kg MS)				
	MS ¹	PB ²	EE ³	FDN ⁴	Cinzas ⁵
Grão de soja moído	946,1	324,9	224,9	47,9	47,9
Milho moído	935,5	80,6	34,4	12,2	12,2
Ingredientes	Dietas				
	GS	GSP	GSM	GSPM	
Grão de soja moído	371,7	371,7	371,7	371,7	371,7
Grão de milho moído	571,6	571,6	571,6	571,6	571,6
Suplemento mineral e vitamínico ⁶	56,6	56,6	56,6	56,6	56,6
Monensina	-	-	0,16	0,16	
Composição Química (g/kg MS)					
MS ¹		953,2	952,4	952,7	957,5
MO ⁷		924,7	928,3	928,8	928,1
PB ²		190,1	196,7	190,8	194,1
EE ³		95,7	98,9	104,8	104,1
FDN ⁴		154,6	123,2	137,4	115,8
Cinzas ⁵		75,3	71,7	71,2	71,9

¹MS= Matéria seca; ²MO= matéria orgânica; ³PB= proteína bruta; ⁴EE= extrato etéreo; ⁵FDN = fibra em detergente neutro; ⁶Ca:190 g/kg; P:60 g/kg; S:20 g/kg; K:35g/kg; Mg:20 g/kg; Mn:1.600 mg/kg; Fe:700 mg/kg; Cu:700 mg/kg; Co:15 mg/kg; I:40 mg/kg; Se:19 mg/kg; Zn:2500 mg/kg; F:600 mg/kg; Na:70 g/kg; Vit.A:200.000 U.I./kg; Vit.D:50.000 U.I./kg; Vit.E:1.500 U.I./kg; ⁷MO= matéria orgânica

Os grãos de soja utilizados na composição dos quatro concentrados foram do tipo convencional da variedade Embrapa BRS-283, moídos em peneira com crivo de oito milímetros. Utilizou-se o produto comercial Avensin® com 60% do princípio ativo na quantidade de 160 mg/kg (MS), juntamente com o suplemento mineral e vitamínico totalizando 480 mg de monensina por animal/dia. Ambos foram misturados durante 15 minutos com o auxílio do misturador em “Y” pertencente à fábrica de ração da FEI. A peletização foi realizada no concentrado confeccionado após moagem.

A coleta de sangue dos animais foi efetuada antes da ordenha matinal no décimo oitavo dia de cada período pela veia mamária em tubos à vácuo (Vacutainer®) contendo heparina. Imediatamente as amostras foram submetidas à centrifugação a 3.200 giros por 20 minutos. Separou-se o plasma e acondicionou-o a -20°C em frasco Eppendorf®, segundo metodologia descrita em Cavalieri et al. (2009). Os parâmetros sanguíneos

analisados foram colesterol total pelo método “CHOD-PAP” ou teste fotométrico enzimático; triglicerídeos pelo teste enzimático colorimétrico através do glicerol.3.fosfato.oxidase (GPO); HDL (lipoproteína de alta densidade) pelo métodos de precipitação de consumo de tempo; LDL (lipoproteína de baixa densidade) pela equação de Friedewald; VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) pela equação de Friedewald; cálcio pelo teste fotométrico através do Arsenazo III; ureia pela “Urease GLDH”: Teste UV Enzimático e fósforo no Laboratório de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá através de kits comerciais.

Para a avaliação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), pH e de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, realizou-se no décimo oitavo dia do período experimental coletas de líquido ruminal imediatamente antes da suplementação matinal (0h) além de 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento desta.

Por meio de uma bomba de sucção, o líquido ruminal foi coletado em diferentes partes do rúmen e submetido imediatamente à avaliação do pH através de um medidor de pH de bancada micro processado (Tecnal[®] – Tec-3MP). Às amostras destinadas a determinação do N-NH_3 foram adicionados dois mL de ácido sulfúrico 1:1 em 50 mL de líquido e posteriormente estas foram congeladas em potes de polietileno. As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 3.500 rpm, por 10 minutos. As dosagens de N-NH_3 no líquido ruminal filtrado foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio (KOH) 2N, ácido bórico como indicador e HCl para titulação, conforme técnica descrita por Preston (1995).

Para determinação dos ácidos graxos de cadeia curta, coletou-se 50 mL de fluido ruminal congelando-os em frascos de polietileno. As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e centrifugadas a 5.000 rpm durante 40 minutos. O sobrenadante foi acondicionado em tubos Eppendorf[®], congelados e enviados em duplicata ao laboratório de bromatologia da Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz – ESALQ para determinação das concentrações de AGCC em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC) com temperatura do forno de 120°C, equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector) à temperatura de 106°C, e detector tipo FID a 190°C. O ácido 2-metilbutírico foi o padrão interno utilizado (100 µL do padrão interno + 800 µL da amostra + 200 µL de ácido fórmico). O padrão externo utilizado para calibração do integrador foi mistura de ácidos graxos voláteis com concentração conhecida (Campos et al., 2004).

Do décimo quinto ao vigésimo dia de cada período experimental foram coletadas amostras de fezes, diretamente da ampola retal, na seguinte distribuição: 15º dia (8 h), 16º dia (10 h), 17º dia (12 h), 18º dia (14 h), 19º dia (16 h), 20º dia (18 h). Após secagem em estufa com ventilação forçada (55°C – 72 h), as amostras foram processadas em moinho do tipo Willey a 1 mm e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período e armazenadas em frascos de polietileno.

A fim de estimar a produção fecal diária, utilizou-se o LIPE[®], um indicador externo de digestibilidade baseado na molécula de lignina isolada, purificada e enriquecida desenvolvida por pesquisadores do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFMG. Os animais receberam este indicador na forma de cápsula (500 mg) via cânula ruminal para as 4 vacas canuladas e via sonda oral para as 8 vacas, uma vez ao dia após suplementação matinal, durante sete dias (dois dias para adaptação e cinco dias para o período de coleta). A concentração foi determinada com base em uma curva padrão LIPE[®] no laboratório de nutrição animal da UFMG através de um espectrofotômetro com detector de luz no espectro do infravermelho (FTIV), modelo VARIAN 80 (Saliba et al., 2005).

O indicador interno utilizado para estimar a produção fecal diária foi a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Ela foi estimada nas amostras do fornecido e nas composições fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* descrita em Cochran et al. (1986), por 240 h e modificada por Casali et al. (2008).

Para estimar o consumo de matéria seca foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$ET_{FDNi} = EF_{total} * \% FDNi_{Fezes}$$

Em que: ET_{FDNi} = excreção total de FDNi (kg/dia); EF_{total} = excreção total de fezes estimada pelo LIPE (kg/dia); $FDNi_{Fezes}$ = % de FDNi das fezes

$$IFDNi_{conc} = Ingestão_{conc(kg/d)} * \% FDNi_{conc}$$

Em que: $IFDNi_{conc}$ = ingestão de FDNi oriundo do concentrado; $FDNi_{conc}$ = % de FDNi do concentrado

$$IFDNi_{past} = ET_{FDNi} - IFDNi_{conc}$$

Em que: $IFDNi_{past}$ = ingestão de FDNi da pastagem; ET_{FDNi} = excreção total de FDNi (kg/dia); $IFDNi_{conc}$ = ingestão de FDNi oriundo do concentrado

$$EF_{past} = EF_{total} - EF_{conc}$$

Em que: EF_{past} = excreção fecal da pastagem; EF_{total} = excreção total de fezes estimada pelo LIPE (kg/dia) ; EF_{conc} = excreção fecal do concentrado

$$EF_{conc} = [(EF_{total} * IFDNI_{conc}) / ET_{FDNi}]$$

Em que: EF_{conc} = excreção fecal do concentrado; $IFDNI_{conc}$ = ingestão de FDNi oriundo do concentrado; ET_{FDNi} = excreção total de FDNi estimado pelo LIPE (kg/dia)

$$IMS_{past} = \frac{IFDNI_{past}}{(\%FDNi_{past}/100)}$$

Em que: IMS_{past} = ingestão de matéria seca da pastagem; $IFDNI_{past}$ = ingestão de FDNi da pastagem; $\%FDNi_{past}$ = teor de FDNi da pastagem

As variáveis foram analisadas estatisticamente pelo procedimento MIXED do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) com um arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados usando um delineamento de triplo quadrado latino 4 x 4. As médias foram comparadas por contrastes ortogonais, para verificar o efeito da peletização, efeito da monensina e o efeito da interação peletização e monensina sobre as dietas, segundo modelo abaixo. Na presença de interação significativa ($P < 0,05$), aplicou-se o Teste de Tukey de comparação múltipla para separar as médias.

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + A_l + TQ_{ik} + PQ_{jk} + A/Q_{lk} + e_{ijklm}$$

Em que: Y_{ijklm} = observação referente a repetição m, do animal l, para a dieta i, no período j para o quadrado latino k; μ = média geral; T_i = efeito da dieta i (soja moída, soja moída com monensina, soja peletizada, soja peletizada com monensina); P_j = efeito do período j (1, 2, 3 e 4); Q_k = efeito de quadrado latino k (1, 2 e 3); A_l = efeito do animal l (1 a 12); Q_{ik} = interação da dieta i com o quadrado k; PQ_{jk} = interação do período j com o quadrado k; A/Q_{lk} = animal l aninhado dentro de quadrado latino k; e_{ijklm} = erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu a dieta i no período j para o quadrado k.

Para analisar as variáveis do líquido ruminal, utilizou-se outro modelo estatístico constituído por quatro animais distribuídos de acordo com o modelo:

$$Y_{ijml} = \mu + T_i + P_j + A_l + TP_{ij} + e_{ij}$$

Em que: Y_{ijml} = observação referente à repetição m, do animal l, para a dieta i, no período j; μ = média geral; T_i = efeito da dieta i (soja moída, soja moída com

monensina, soja peletizada e soja peletizada com monensina); P_j = efeito do período j (1, 2, 3 e 4); A_i = efeito do animal i ; TP_{ij} = interação da dieta i no período j ; e_{ijm} = erro aleatório associado a cada observação m , que recebeu a dieta i no período j .

Resultados e Discussão

Vacas suplementadas com concentrado peletizado ou não, com e sem adição de monensina apresentaram consumo médio de 14,52 kg/dia e 2,64% PV de MS. De acordo com a Tabela 4, a suplementação com concentrados peletizados e monensina não resultaram em diferenças ($P > 0,05$) na ingestão de matéria seca, assim como a digestibilidade aparente da MS e MO ($P > 0,05$).

Tabela 4. Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes em vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
IMS (kg/dia) ⁴	14,00	14,27	14,62	14,44	0,29	0,89	0,21	0,69
Digestibilidade (g/kg MS)								
MS ⁵	631,7	631,7	632,8	640,2	05,2	0,38	0,26	0,11
MO ⁶	672,8	670,1	678,0	686,1	13,0	0,68	0,12	0,12
PB ⁷	646,7 ^b	662,6 ^{ab}	650,5 ^b	680,3 ^a	29,4	0,02	0,29	0,02 ¹
EE ⁸	725,4 ^b	759,5 ^{ab}	732,9 ^{bc}	792,4 ^a	74,0	0,005	0,21	0,008 ²
FDN ⁹	611,2 ^a	596,1 ^b	614,4 ^a	596,9 ^b	04,2	0,0002	0,59	0,02 ³

^{1,2 e .3}Teste de Tuckey de comparação múltipla para interação significativa ($P < 0,05$); ⁴IMS= Ingestão de matéria seca; ⁵MS= matéria seca; ⁶MO= matéria orgânica; ⁷PB= proteína bruta; ⁸EE= extrato etéreo; ⁹FDN= fibra em detergente neutro,

O consumo de MS obtido corrobora com dados de Wernersbach et al. (2006) que forneceram diferentes concentrados (farelado, peletizado, extrusado e com alto teor energético) e não notaram alterações no consumo de MS. Outros resultados de experimentos com vacas leiteiras sugerem efeito nulo sobre a ingestão de MS (Phipps et al., 2000; Plazier et al., 2000). Abe et al. (1994), ao trabalharem com cápsula de liberação controlada de monensina (300 mg/dia) observaram redução no consumo de MS e reforça dados encontrados por Green et al. (1999) e Oliveira et al. (2005).

O fornecimento de concentrado peletizado proporcionou aumento da digestibilidade da PB ($P < 0,05$) quando usado simultaneamente com a monensina (68,03%). A peletização otimiza o aproveitamento dos nutrientes presentes no grão de

soja (Whitlock et al., 2002; Antunes & Rodriguez, 2006), uma vez que o calor da peletização desnatura parcialmente as proteínas, e estas ficam mais sensíveis à hidrólise pelas enzimas proteolíticas que resulta no aumento da digestibilidade deste nutriente (ARAÚJO, 1999). Rodrigues et al. (2001) notaram incremento na digestibilidade da PB quando utilizaram monensina (40 mg/animal/dia) na dieta dos animais. Este aditivo limita a produção de amônia ruminal, assim, há redução na deaminação e aumento na concentração de peptídeos e aminoácidos no intestino delgado com melhor aproveitamento do nitrogênio dietético (McGuffey et al., 2001).

Vacas tratadas com concentrados peletizados e monensina apresentaram média superior (79,24%) para a digestibilidade do extrato etéreo comparado aos outros tratamentos. Marounek et al. (1989) relataram aumento da digestibilidade do extrato etéreo ao fornecerem monensina a bezerros. A peletização reduz o contato de lipídios à matriz proteica-fibrosa do grão (Petit, 2002) que resulta em maior disponibilidade dos ácidos graxos e facilita a formação de micelas para a digestão (Bauchart, 1993) com aumento na digestibilidade do EE.

A digestibilidade da FDN foi menor para animais suplementados com concentrados peletizados e em conjunto com a monensina este efeito foi intensificado ($P < 0,05$). Wernersbach et al. (2006), ao trabalharem com diferentes concentrados (farelados, peletizados e extrusados) notaram que a digestibilidade da fibra foi inferior para estes quando comprados a dieta sem tratamento térmico. Segundo Riaz (2000), durante o tratamento térmico dos concentrados pode haver formação de complexos amido-lignina que favorece a redução da digestibilidade da FDN. Byers & Schelling (1993) afirmam que o uso de fontes lipídicas ricas em ácidos graxo poli-insaturados na dieta (maior disponibilidade de lipídios pela peletização), podem recobrir fisicamente a fibra, além de causar efeito tóxico direto sobre os microrganismos celulolíticos e culminar em reduções na digestibilidade deste nutriente.

As médias e os erros padrões para os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) e pH do líquido ruminal para as quatro vacas portadoras de cânula ruminal são visualizados na Tabela 5.

Tabela 5. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em $\mu\text{M/mL}$, nitrogênio amoniacal e pH do líquido ruminal de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina e (GSM) peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
Ácido acético	54,34	53,87	56,80	56,02	9,21	0,70	0,15	0,58
Ácido propiônico	13,15 ^b	13,79 ^{ab}	14,16 ^{ab}	15,14 ^a	1,47	0,21	0,07	0,05 ⁴
Ácido butírico	8,16	8,63	8,22	8,59	0,52	0,28	0,97	0,57
Ácido valérico	0,85	0,85	0,81	0,84	0,004	0,61	0,43	0,96
Ácido isobutírico	1,00	1,04	1,08	1,10	0,009	0,53	0,22	0,32
Ácido isovalérico	1,86	1,96	2,04	2,07	0,03	0,46	0,12	0,27
C2/C3	4,18 ^a	3,94 ^{bc}	4,09 ^{ab}	3,82 ^c	0,022	0,0019	0,18	0,0075 ⁵
AGCC total	79,39	80,18	83,13	83,79	27,13	0,72	0,18	0,36
pH	6,49	6,48	6,48	6,44	0,002	0,28	0,35	0,13
N-NH ₃ ³	21,31	20,84	21,83	20,54	4,004	0,40	0,91	0,51

¹Valores de probabilidade para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I); ²EP = erro padrão da média; ³N-NH₃ = nitrogênio amoniacal (mg/dL); ⁴ e ⁵Teste de Tuckey de comparação múltipla para interação significativa (P<0,05)

Para analisar as variáveis do líquido ruminal, considerou-se o efeito do horário de coleta e o efeito da interação tratamento x horário de coleta para variáveis com amostras repetidas no tempo (pH, N-NH₃ e AGCC). Não houve efeito do horário de coleta sobre estas variáveis que foram então, avaliadas apenas pela análise dos contrastes.

Não houve alteração significativa na concentração dos AGCC para os diferentes concentrados. Richardson et al. (1976) asseguram que a monensina altera a microflora ruminal e resulta no aumento do teor de propionato com decréscimo na proporção molar de acetato e butirato. Da mesma forma, McSweeney & Mackie (2012) mencionam que este incremento é uma das principais alterações notadas pelo fornecimento de ionóforos.

Em um estudo *in vitro* com o objetivo de examinar o efeito da adição de monensina, óleo de peixe ou a sua combinação na fermentação do rúmen, Wang et al. (2005) notaram que a monensina aumentou a concentração de ácido propiônico e concluíram então, que este ionóforo afeta a fermentação ruminal e interfere no crescimento de bactérias sensíveis a ele.

No presente trabalho, as concentrações ruminiais de ácido acético foram 54,34; 53,87; 56,8 e 56,02 $\mu\text{M/mL}$ para as dietas GS, GSP, GSM e GSPM, respectivamente. Este AGCC está presente em dietas ricas em fibra e pode variar entre 54 a 74% (Lana, 2007). Os valores encontrados na Tabela 5, podem ser explicadas pela presença de carboidratos e lipídios na dieta. Este último prejudica a degradação da fibra por reagir com as membranas celulares das bactérias fibrolíticas (Palmquist, 1989) e alterar

consequentemente a fermentação ruminal. Shaw & Ensor (1959) suplementaram vacas leiteiras com óleo de fígado de bacalhau e notaram decréscimo no teor de ácido acético e aumento de propiônico e asseguraram então que houve efeito tóxico dos lipídios sobre as bactérias precursoras de ácido acético.

Os valores médios de pH não foram significativos ($P > 0,05$) e permaneceram dentro do limite de 5,5 a 7,0 (Van Soest, 1994). Wernersbach Filho et al. (2006); Shabi et al. (1999) e Bittar et al. (2009) avaliaram parâmetros fermentativos promovidos por dietas tratadas termicamente e não notaram alterações no pH ruminal. Valinote et al. (2005) forneceram caroço de algodão e monensina e não presenciaram variações no pH ruminal daqueles animais. Rodrigues et al. (2007) não contemplaram alterações no pH ruminal de vacas que receberam monensina pela forma convencional ou por dispositivos de liberação lenta. Neste experimento, os animais mantidos a pasto ingeriam elevado teor de fibra fisicamente efetiva que promoveu adequada produção de saliva e resultou no tamponamento ruminal (Rangel et al., 2008).

Os teores de N-NH₃ ruminal se enquadram nos valores entre 19 e 23 mg/100 mL citados por Mehrez et al. (1997), superiores ao considerado mínimo para o crescimento microbiano (Lana, 2007) de 5 mg/100 mL. Eifert et al. (2005) e Salles & Lucci (2000), constataram queda no teor de N-NH₃ no conteúdo ruminal de animais que recebiam monensina, pela defaunação ocorrida (Doreau & Ferlay, 1995). Entretanto, Oliveira et al. (2002) ao fornecerem 28 mg de monensina/kg MS e diferentes níveis de proteína para vacas canuladas, obtiveram resultados semelhantes aos deste trabalho.

A soma dos AGCC ruminais totais na Tabela 5 condiz com Lana, (2007) que relata valores médios de 150 µM/mL, que varia entre 70 e 150 para vacas de alta produção leiteira (Pereira & Armentano, 2000). Com dietas predominantemente à base de forragem, este valor é inferior a 100 µM/mL (Bergman, 1990).

Houve redução significativa sobre a razão acetato/propionato na presença de concentrados peletizados quando fornecidos em conjunto com a monensina. A peletização aumenta a disponibilidade de ácidos graxos insaturados que quando em excesso na dieta reduzem a razão acetato/propionato por causa do efeito tóxico que exercem sobre as bactérias celulolíticas ruminais (Palmquist, 1989; Nagaraja et al., 1997 e Vargas et al., 2002). Rivera et al. (2010) concluíram que ionóforos reduzem a razão C2/C3 com menor perda energética pelo animal. Segundo Schelling (1984) a monensina age no metabolismo energético e no metabolismo do nitrogênio ruminal por elevar o teor de propionato e reduzir o de metano no rúmen.

Os parâmetros sanguíneos colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL, VLDL, ureia, cálcio e fósforo não foram influenciados pelas dietas, segundo Tabela 6.

Tabela 6. Metabólitos sanguíneos de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina e (GSM) peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
Colesterol ³	165,0	163,50	168,75	171,50	20,94	0,82	0,05	0,09
TGL ⁴	8,12	8,12	8,00	9,25	1,18	0,36	0,46	0,14
HDL ⁵	83,87	83,50	84,00	83,25	3,51	0,63	0,95	0,68
LDL ⁶	79,50	78,62	83,12	86,37	19,89	0,66	0,05	0,07
VLDL ⁷	1,62	1,37	1,62	1,87	0,07	1,00	0,16	0,11
Fósforo ⁸	5,82	5,51	5,35	5,32	0,07	0,34	0,06	0,24
Cálcio ⁹	8,55	8,43	8,47	8,47	0,02	0,52	0,83	0,90

¹Valores de probabilidade para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I);

² EP = erro padrão da média; ³mg/dL; ⁴Tgl = triglicerídeos (mg/dL); ⁵HDL= lipoproteínas de alta densidade (mg/dL); ⁶LDL = lipoproteínas de baixa densidade (mg/dL); ⁷VLDL = lipoproteínas de muito baixa densidade (mg/dL); ⁸ mmol/L; ⁹ mmol/L

Os níveis médios de colesterol total foram elevados (165; 163,5; 168,75; 171,5 mg/dL, respectivamente) quando comparados a faixa citada entre 116 e 147,9 mg/dL por Pogliani & Birgel Junior (2007) para vacas adultas da raça Holandês. Abe et al. (1994) encontraram resultados semelhantes (169,88 mg/dL), enquanto Martineau et al. (2007) notaram valores superiores (189,00 mg/dL) e Silva et al. (2007) observaram valores inferiores aos relatados neste trabalho (148,50 mg/dL).

Os valores elevados, porém, não significativos de LDL plasmático para animais suplementados com monensina (média de 84,74%) corroboram com valores encontrados por Silva et al. (2007) ao fornecerem dietas com grão de linhaça adicionados deste ionóforo. Nagaraja et al. (1997) afirmaram que os aditivos alteram a fermentação ruminal por terem efeito sobre o metabolismo do propionato e do lactato. Este desequilíbrio, segundo Van Soest (1994) reduz a eficiência de lactação, desviando a energia disponível a produção de leite para a lipogênese nos tecidos e aumenta relativamente a concentração de LDL circulante plasmático. Em contrapartida, Marzzoco & Bayardo (1999) e Tanaka (2005) relatam que o fornecimento de monensina diminui a concentração plasmática de LDL por preservar os AGP da biohidrogenação com consequente aumento na síntese de receptores para LDL.

Conclusões:

O uso de grão de soja no concentrado peletizado ou não, com e sem adição de 480 mg de monensina sódica por animal/dia, não influencia o consumo de MS, o pH, o teor de N-NH₃ ruminal, a digestibilidade de MS, MO e FDA, bem como os metabólitos sanguíneos de vacas da raça Holandês mantidas em pastagem do gênero *Cynodon*. A peletização reduz a razão acetato/propionato e a monensina potencializa este efeito. A digestibilidade da FDN se apresenta reduzida na presença da peletização ao passo que há aumento da digestibilidade da PB e EE perante os concentrados peletizados e a interação com monensina.

Referências

- ABE, N.; LEAN, I.J.; RABIEE, A.; et al. Effects of sodium monensin on reproductive performance of dairy cattle. II. Effects on metabolites in plasma, resumption of ovarian cyclicity and oestrus in lactating cows. **Australian Veterinary Journal**, v.71, p.277–282, 1994.
- ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M.. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI T.T; PIRES A.V.; OLIVEIRA S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed. Jaboticabal: Funep, 2006. p.229-253.
- ARAÚJO, J. M. A **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2ª ed. 1999.
- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.3864-3881, 1993
- BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, p.567-589, 1990.
- BITTAR, C. M. M.; FERREIRA, L. S.; SANTOS, F. A. P.; et al. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, p.1561-1567, 2009.
- BRODERICK, G.A. Effect of low level monensin supplementation on the production of dairy cows fed alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.359-368, 2004.
- BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, p.858-865, 1996.

- BYERS, F.M.; SCHELLING G.T. Los lipidos en la nutrición de los rumiantes. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **El ruminante fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. p.339-356.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135p.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; SILVA, D.C.; et al. Digestibilidade e metabólitos sanguíneos de vacas da raça Holandesa superovuladas que ceberam Lac100® ou linhaça em grão como fontes de gordura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.896-902, 2009.
- CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; et al. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997.
- COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D.; et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield and composition. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3826-3837, 1991.
- DE VRIES, M.F.W. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. **Journal Range Management**, v.48, p.370-375, 1995.
- DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on the ruminal metabolism in the rumen: a review. **Livestock Production Science**, v.43, p.97-110, 1995.

- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I.; et al. Efeito da combinação de óleo de soja e de monensina na dieta sobre o consumo e digestão em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.293-308, 2005.
- EMBRAPA SOJA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tecnologia de Produção de Soja-Região Central do Brasil 2004. Londrina, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>Consulta em 10 de setembro de 2012.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; DO VALLE, C.B.; et al. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.44, p.98-106, 2009.
- FREITAS JÚNIOR, J.E.; RENNÓ, F.P.; SILVA, L.F.P.; et al. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v.40, p. 950-956, 2010.
- GONTHIER, C., MUSTAFA, A. F.; BERTHIAUME, R.; et al. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1854–1863, 2004.
- GREEN, H.B.; SYMANOWSKI, J.T.; WAGNER, J.R. et al. Effect of monensin on milk production parameters, feed intake, body weight, body condition, and efficiency of milk production when fed to Holsteins. In: ANNUAL CONFERENCE AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS, 32., 1999, Nashville. **Proceedings...** Nashville: American Association of Bovine Practitioners, 1999. p.236-237.
- LANA, R. de P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades)**. 2ed. Viçosa: Editora UFV. 2007. 344p.
- MARTINEAU, R.; BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V.; et al. Effects of lasalocid or monensin supplementation on digestion, ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5714-5725, 2007.

- MARZZOCO, A.; BAYARDO, B. **Bioquímica básica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 360p.
- MAROUNEK, M.; SKRIVANOVÁ, V.; MACHAŇOVÁ, L. Effect of monensin on digestibility of nutrients, ruminal volatile fatty acids and parameters in young calves. **Landwirtschaftliche Forschung**, v.42, p.273-280, 1989
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.194-203, 2001.
- MCSWEENEY, C., MACKIE, R. Microorganisms And Ruminant Digestion: State Of Knowledge, Trends And Future Prospects. Commission on genetic resources for food and agriculture. Background study paper n.61. September 2012. Disponível em : <<http://www.fao.org/docrep/016/me992e/me992e.pdf>> Acesso em : 10 de dezembro de 2012.
- MEHREZ, A. Z., ORSKOV, E. R., McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **Brazilian Journal of Nutrition**, v.38, p.437-443, 1977.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J.; et al. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). **Rumen Microbial Ecosystem**. London: Blackie, 1997. p.523-631.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle.7th. Rev. ed. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**, 2001. 381p
- NEVES, C.A.; SANTOS, W.B.R. ; SANTOS, G. T.; et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed extruded canola seeds treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.154, p.83-92, 2009.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; et al. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purina e de ureia em vacas em lactação alimentadas com rações isoproteicas com diferentes níveis de composto nitrogenados não proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1621-1629, 2001.

- OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; PEREIRA, J.C.; et al. Influência da monensina e na fermentação ruminal de bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1763-1774, 2005.
- OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; VALADARES, R.F.D.; et al. Parâmetros ruminais e glicose sanguínea em novilhas leiteiras sob dietas com diferentes níveis de monensina. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...Recife**, 2002, CD-ROM.
- PALMQUIST, D.L. 1989. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11-25.
- PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: Review. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1-14, 1980.
- PETERSSON-WOLFE, C.S.; LESLIE, K.E.; OSBORNE, T.; et al. Effect of delivery method of monensin on dry matter intake, body condition score, and metabolic parameters in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1870-1879, 2007.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1482-1490, 2002.
- PHIPPS, R.H.; WILKINSON, J.I.D.; JONKERT, J.I.D.; et al. A. Effect of monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2789-2794, 2000.
- PLAIZIER, J.C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T.; et al. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2918-2925, 2000.
- POGLIANI, F.C.; BIRGEL JUNIOR, E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, p. 373-383, 2007.

- PRESTON, T.R. **Biological and chemical analytical methods**. In. PRESTON, T.R. Tropical animal feeding: a manual for research workers. Rome: FAO, p.191-264, 1995.
- RAMANZIN, M.; BAILONI, L.; SCHIAVON, S.; et al. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1136–1142, 1997.
- RANGEL, A. H. N.; LEONEL, F. P.; SIMPLÍCIO, A. A.; et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, pág. 264-273, 2008.
- RIAZ, M. N. Extruders in food applications, Lancaster : Technomic publishing company, 2000. 223 p.
- RICHARDSON, L.F.; RAUN, A.P.; POTTER, E.L.; et al. Effect of monensin on ruminal fermentation in vitro. **Journal of Animal Science**, v.43, p.657-664, 1976.
- RIVERA, A.R.; BERCHIELLI, T.T.; MESSANA, J.D.; et al. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.617-624, 2010.
- RODRIGUES, P.H.M.; PEIXOTO JÚNIOR, K.C.; ALVES DA SILVA, E.J.; et al. Avaliação da monensina administrada pela forma convencional ou por dispositivo de liberação lenta (bólus) em bovinos alimentados com forragens de baixo valor nutritivo e suplementados ou não com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1937-1944, 2007.
- RODRIGUES, P.H.M.; MATTOS, W.R.S.; MELOTTI, L.; et al. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com proporções de volumoso e concentrado. **Scientia Agrícola**, v.58, p.449-455, 2001.
- SALIBA, E.O.S.; NANJARO, A.; FERREIRA, W.M.; et al. Avaliação da lignina de madeira moída do Pinus e da lignina purificada e enriquecida do Eucaliptus Grandis (Lipe®), como indicadores externos em experimentos de digestibilidade aparente para coelhos em crescimento. In: Teleconferência Sobre Indicadores Em Nutrição Animal. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2005. p.23-25.

- SALLES, M. S. V.; LUCCI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 1. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.573-581, 2000.
- SAS 2004. SAS/STAT User's Guide. SAS - Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, USA, 2004, 5135p.
- SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1518-1527, 1984.
- SHABI, Z.; BRUCKENTAL, I.; ZAMWELL, S.; et al. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1252-1260, 1999.
- SHAW, J.C.; ENSOR, W.L. Effect of feeding cod-liver oil and unsaturated fatty acids on rumen volatile fatty acids and milk fat content. **Journal of Dairy Science**, v.42, p.1238-1243, 1959.
- SILVA, D.C.; SANTOS, G.T; BRANCO, A.F.; et al. Production performance and milk composition Dairy Cow fed Whole or Ground Flaxseed with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2928-2936, 2007.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.2801-2814, 1989.
- TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal**, v.76, p.291-303, 2005.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R.R. et al. **Tabelas Brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2 ed. Viçosa: Suprema Gráfica Ltda – Universidade Federal de Viçosa, 2006. 329p.
- VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LEME, P.R.; et al. Fontes de lipídios e monensina na alimentação de novilhos Nelore e sua relação com a população de protozoários ciliados do rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1418-1423, 2005.

- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**, 2.ed. Cornell University press. United States of America. 1994. 476p.
- VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.522-529, 2002.
- WANG, J.H.; ZHU, B.W.; SONG, M.K. et al. Effect of monensin, fish oil or their combination on in vitro fermentation and conjugated linoleic acid (CLA) production by ruminal bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.341-349, 2005.
- WERNERSBACH FILHO, H.L.; CAMPOS, J.M.S.; ASSIS, A.J.; et al. Variáveis ruminais, concentração de uréia plasmática e excreções urinárias de nitrogênio em vacas leiteiras alimentadas com concentrado processado de diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1236-1241, 2006.
- WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R.; et al. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.
- ZAHRA, L.C.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; et al. Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.4808-4818, 2006.

CAPÍTULO III – ARTIGO II

RESUMO

Influência da peletização do concentrado contendo grão de soja e monesina sódica sobre a qualidade do leite de vacas da raça Holandês

Objetivou-se avaliar o efeito do concentrado peletizado e da monensina sódica sobre os parâmetros: produção, composição, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas da raça Holandês. Foram utilizadas oito vacas multíparas com peso médio $496,23 \pm 18,36$ kg distribuídas em quadrado latino duplo com quatro períodos experimentais de 21 dias. As dietas foram: concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) peletizados com monensina (GSPM). A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura não sofreu alteração ($P>0,05$) com as diferentes dietas, bem como a concentração de proteína e lactose. Houve redução significativa no teor de gordura e sólidos totais para as dietas peletizadas. A concentração de ureia apresentou aumento significativo para a peletização, adição de monensina e a interação entre ambos. Houve efeito do tratamento térmico sobre a composição de ácidos graxos, que proporcionou incremento no teor de C10:0; C18:3 n3 e C20:0 e redução de C14:0; C14:1; C20:3 n6 e C20:5 n3. A interação resultou na diminuição significativa dos C14:0; C16:0 e C20:3 n6. As concentrações de ácidos graxos saturados, insaturados e poli-insaturados não foram alteradas. O teor de polifenóis não foi significativo, bem como o teor de flavonoides e o parâmetro de força de redução do leite ($P>0,05$). A variável analisada para dieno conjugados, que mede a atividade oxidativa do leite, foi afetada positivamente pela peletização.

Palavras-chave: antioxidantes, biohidrogenação, CLA, ionóforos, oleaginosas

ABSTRACT

Influence of pelleted soybean and monensin on quality and oxidative stability of milk from cows grazing on *Cynodon* pasture.

The objective of this work was to evaluate milk production, milk composition and fat profile, oxidative stability of milk from Holstein cows fed with ground or pelleted soybean, with or without monensin. A total of eight multiparous cows, with an average weight \pm standard deviation of 496.23 ± 18.36 kg, were distributed in a double Latin Square design with four experimental periods of 21 days each. The treatments were: soybeans ground (GS); soybean pelleted (GSP); soybeans ground with monensin (GSM) and soybean pelleted with monensin (GSPM). There was no difference ($P > 0.05$) for milk production, milk production corrected for 3.5% of fat, protein and lactose. A significant reduction in fat and total solids for pelleted treatments was observed. Urea concentration was significantly high ($P < 0.05$) for pelleted treatment, monensin and the interaction between them. There was a significant effect ($P > 0.05$) of treatment on the individual fatty acid composition in which pelleted diets increased 10:0, 18:3 and 20:0 n3 and 14:0 and decrease 14:1; 20:3 n6 and 20:5 n3 content. Furthermore, the interaction between monensin and pelletizing resulted in significant decrease of 14:0, 16:0 and 20:3 n6. The concentrations of saturated fatty acids, unsaturated and polyunsaturated remained unchanged. The content of polyphenol, flavonoids and power reducing of milk was not significant ($P > 0.05$). The variable analyzed for diene conjugates, which measures the oxidative activity of milk was positively affected by pelleted diets.

Key words: antioxidants, biohydrogenation, CLA, ionophores, oilseeds

Introdução

Os benefícios da gordura do leite de ruminantes sobre a saúde humana geram interesse no campo da nutrição animal. O uso dietético de oleaginosas enriquece o leite por causa do aumento de ácido linoleico conjugado (CLA) e diminuição no teor de gordura (Santos et al., 2001).

O grão de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é o cultivar mais popular do Brasil, (Embrapa, 2004). Por ser rico em óleo vegetal, é utilizado em dietas de vacas leiteiras e objetiva melhorar as características nutritivas do leite, com aumentos no teor de ácidos graxos insaturados como o ômega 3 e CLA (Bessa et al., 2000). Contudo, deve-se ter cautela, pois o excesso lipídico na dieta afeta a atividade celulolítica e a digestibilidade da fibra no rúmen (Kozloski, 2002) que pode levar a redução no consumo e queda na produção e qualidade do leite (Wattiaux & Grummer, 2000).

A manipulação dietética protege os lipídios e os tornam menos susceptíveis às bactérias, responsáveis pela biohidrogenação ruminal (Wattiaux & Grummer, 2000). Dentre os métodos de proteção, há destaque para a peletização, adição de gordura vegetal, grãos inteiros de oleaginosas (Wernersbach Filho et al., 2006) e fornecimento de monensina sódica, um ionóforo capaz de reduzir a atividade dos microrganismos envolvidos na biohidrogenação (Eifert, 2006).

A peletização é um processo físico de cozimento sob elevada pressão, umidade e temperatura que resulta no incremento do consumo animal, digestibilidade dos nutrientes e disponibilidade de energia (Couto, 2008). Os ionóforos têm efeito redutor sobre a biohidrogenação do ácido linoleico com consequente redução na quantidade de ácido esteárico e aumento dos isômeros de CLA (Fellner et al., 1997).

O aumento na proporção de ácidos graxos insaturados no leite é fundamental, não obstante, altera sua susceptibilidade à deterioração por serem mais instáveis e favorecerem o desenvolvimento de sabor oxidado (Timmons et al., 2001). Ante o

exposto, a introdução de compostos antioxidantes no leite é a melhor maneira para inibir ou retardar a oxidação lipídica e evitar alterações indesejáveis nas características sensoriais do produto final (Ramalho & Jorge, 2006).

Deste modo, objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de grãos de soja peletizados e monensina sódica para vacas em lactação, mantidas em pastagem do gênero *Cynodon*, através dos parâmetros: produção, composição e estabilidade oxidativa do leite.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, no município de Iguatemi, Paraná, Brasil. Dados climáticos durante o período experimental (01/10/2011 a 23/12/2011) estão apresentados na Tabela 1 e foram obtidos no posto meteorológico instalado na Fazenda experimental de Iguatemi.

Tabela 1. Histórico de temperatura média máxima, temperatura média mínima, precipitação total e umidade média referentes ao período experimental

Variáveis	Período			
	1	2	3	4
Temperatura média máxima (° C)	28,4	28,3	29,1	30,7
Temperatura média mínima (° C)	18,0	17,3	18,2	19,3
Precipitação Total (mm)	110,8	91,0	101,6	28,6
Umidade Relativa do Ar Média (%)	74,1	69,3	69,6	63,4

Fonte: Fazenda Experimental de Iguatemi – FEI (2011).

Foram utilizadas oito vacas da raça Holandês, multíparas, com $202 \pm 34,9$ dias de lactação, com média de produção de $15,36 \pm 2,36$ kg de leite por dia. Os animais foram pesados ao final de cada período experimental e apresentaram peso médio final igual a $496,23 \pm 18,36$ kg. Elas foram distribuídas em duplo quadrado latino 4 x 4, com quatro períodos experimentais de 21 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e sete dias para a coleta de amostras e dados. Quatro vacas não lactantes portavam cânula ruminal e, desta forma, os parâmetros ruminais foram avaliados.

Os animais permaneciam a pasto em uma área total de 1,16 hectares, previamente roçada e adubada com superfosfato simples, ureia e cloreto de potássio. Esta área era composta por pastagens do gênero *Cynodon* (Coast-Cross e Estrela Africana) subdividida em quatro piquetes com tamanho médio de 0,27 hectares com livre acesso a

água. A rotação dos animais entre os piquetes era determinada pela medição da altura da gramínea com uma régua posicionada verticalmente em relação ao solo. A medição foi realizada a cada 3 dias em 20 pontos amostrais aleatórios a fim de se obter uma altura média. As vacas foram manejadas para o interior do piquete quando a gramínea atingia 40 cm e retiradas quando esta apresentava a altura de 20 cm.

A fim de avaliar a qualidade do material fibroso ingerido pelo animal, realizou-se manualmente o pastejo simulado, nos dias 1,3 e 6 da semana de coleta de cada período experimental, para obter uma porção da planta semelhante àquela selecionada pelos animais. Esta técnica é utilizada objetivando indicar o material ingerido pelo animal, e constitui uma alternativa de substituição à coleta de extrusa esofágica (De Vries, 1995). O resultado foram amostras compostas por piquete e por período que, posteriormente foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C – 72 h), moídas em moinho com peneira de crivos de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas (MM), conforme descrito em Silva & Queiroz (2002) e fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al. (1991). A composição química da pastagem no período experimental pode ser visualizada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química (% MS) da pastagem *Cynodon*, cultivares Coast-Cross e Estrela Africana

g/kg MS	Período 1	Período 2	Período 3	Período 4	Média ± DP ⁸
MS ¹	276,8	265,2	340,8	332,3	30,46 ± 3,83
MO ²	916,7	921,6	933,9	935,8	92,78 ± 0,93
PB ³	110,0	1,0,0	90,0	90,0	10,0 ± 2,83
EE ⁴	11,6	14,6	10,0	12,0	1,18 ± 0,19
FDN ⁵	738,3	681,3	753,8	738,4	73,84 ± 3,19
FDA ⁶	393,5	359,3	400,2	383,4	38,85 ± 1,79
MM ⁷	83,3	78,4	66,1	64,2	7,22 ± 0,93

¹MS= Matéria seca; ²MO = matéria orgânica; ³PB= proteína bruta; ⁴EE= extrato etéreo; ⁵FDN= fibra em detergente neutro; ⁶FDA= fibra em detergente ácido; ⁷MM = matéria mineral; ⁸ DP= desvio padrão

Os animais foram alojados durante uma hora em baias individuais para o fornecimento da suplementação concentrada seguida das ordenhas matinal (07h) e vespertina (16h). Estimou-se uma razão volumoso:concentrado de 65:35, para que as dietas fossem isoproteicas e isoenergéticas, de modo a atender as exigências nutricionais de vacas em lactação, conforme NRC (2001). Os animais recebiam aproximadamente 1% do peso corporal de matéria seca de concentrado, composto de grão de soja e milho moídos. As dietas diferiam quanto ao método de processamento

(moído ou moído peletizado) e quanto à adição ou não de monensina da seguinte forma: farelado composto por grão de soja moído + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GS); peletizado composto por grão de soja moído + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GSP); farelado composto por grão de soja moído + monensina + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GSM); peletizado composto por grão de soja moído + monensina + milho moído + suplemento mineral e vitamínico (GSPM). A composição química (%) dos alimentos utilizados nos concentrados é descrita na Tabela 3, bem como a composição percentual e química dos concentrados no período experimental.

Tabela 3. Composição química dos alimentos utilizados nas rações e composição percentual e química (% da MS), dos concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) peletizados com monensina (GSPM)

Alimentos	Composição química (g/kg MS)				
	MS ¹	PB ²	EE ³	FDN ⁴	Cinzas ⁵
Grão de soja moído	946,1	324,9	224,9	47,9	47,9
Milho moído	935,5	80,6	34,4	12,2	12,2
Ingredientes	Dietas				
	GS	GSP	GSM	GSPM	
Grão de soja moído	371,7	371,7	371,7	371,7	371,7
Grão de milho moído	571,6	571,6	571,6	571,6	571,6
Suplemento mineral e vitamínico ⁶	56,6	56,6	56,6	56,6	56,6
Monensina	-	-	0,16	0,16	
Composição Química (g/kg MS)					
MS ¹		953,2	952,4	952,7	957,5
MO ⁷		924,7	928,3	928,8	928,1
PB ²		190,1	196,7	190,8	194,1
EE ³		95,7	98,9	104,8	104,1
FDN ⁴		154,6	123,2	137,4	115,8
Cinzas ⁵		75,3	71,7	71,2	71,9

¹MS= Matéria seca; ²MO= matéria orgânica; ³PB= proteína bruta; ⁴EE= extrato etéreo; ⁵FDN = fibra em detergente neutro; ⁶Ca : 190 g/kg; P : 60 g/kg; S : 20 g/kg; K: 35g/kg; Mg : 20 g/kg; Mn : 1.600 mg/kg; Fe:700 mg/kg; Cu:700 mg/kg; Co:15 mg/kg; I:40 mg/kg; Se:19 mg/kg; Zn:2500 mg/kg; F:600 mg/kg; Na:70 g/kg; Vit.A:200.000 U.I./kg; Vit.D:50.000 U.I./kg; Vit.E:1.500 U.I./kg; ⁷MO= matéria orgânica

Os grãos de soja utilizados na composição dos quatro concentrados foram do tipo convencional da variedade Embrapa BRS-283, moídos em peneira com crivo de oito milímetros. Utilizou-se o produto comercial Avensin® com 60% do princípio ativo na quantidade de 160 mg/kg (MS), juntamente com o suplemento mineral e vitamínico totalizando 480 mg de monensina por animal/dia. Ambos foram misturados durante 15

minutos com o auxílio do misturador em “Y” pertencente à fábrica de ração da FEI. A peletização foi realizada no concentrado confeccionado após moagem.

Os animais foram ordenhados mecanicamente e a produção leiteira medida diariamente pelo sistema coletor de leite. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura através da fórmula (Sklan et al., 1992): kg de leite corrigido a 3,5% de gordura = $(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura}) \times \text{produção de leite (kg/dia)}$.

No décimo quinto e décimo sexto dias de cada período experimental foram coletados 40 mL de leite e armazenados em potes de polietileno com um comprimido de conservante Bromopol[®] (2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol), composto por 10 mg do princípio ativo. Esta amostra foi coletada proporcionalmente pela manhã e pela tarde, com base na produção individual de cada animal e enviada por meio de uma transportadora para a Associação de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (ACBRH) para análise dos componentes do leite: proteína, gordura, lactose, sólidos totais e ureia no laboratório do Programa de Análises do Rebanho Leiteiro (PARL).

Para a análise da composição de ácidos graxos da gordura do leite foram reservados 50 mL de amostra e imediatamente conservados a -10°C em frascos de polietileno para análise da composição de ácidos graxos da gordura. As amostras foram coletadas proporcionalmente pela manhã e pela tarde, com base na produção individual diária de cada animal. A gordura presente no leite foi extraída por centrifugação (Murphy et al., 1995) e esterificada de acordo com o método 5509 da ISO (1978) com KOH/metanol e n-heptano.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa (Cromatógrafo Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) autoamostrador, equipado com detector de ionização de chama a 235°C e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm, Restek 2560). O fluxo de gases foi de 1,4 mL/min de H₂ (gás de arraste), 35 mL/min para N₂ (gás auxiliar) e 35 e 350 mL/min, respectivamente, para o H₂ e ar sintético (gases para chama). A temperatura inicial da coluna foi estabelecida em 65°C, mantida por 4 minutos, elevada até 185°C a uma taxa de 16°C/min, mantida por 12 minutos, por até 235°C de temperatura final, elevada a taxa de 20°C/min e mantida por 14 minutos. A quantificação dos ácidos graxos da amostra foi efetuada por comparação com o tempo de retenção de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras padrões (Sigma Aldrich).

Para a análise da atividade oxidativa do leite foram coletadas amostras com 50 mL de leite que foram acondicionados em frascos de polietileno fosco com 10 mg do

conservante azida sódica e preservadas a -10°C . O conteúdo total de polifenóis foi determinado pelo procedimento Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton & Rossi (1965), como espectrofotometro de UV-Vis (Spectrum SP2000, Shanghai Spectrum, China) a 760 nm. Adicionou-se metanol 100% ao leite para obter a precipitação das proteínas e filtragem do sobrenadante com uma membrana de filtro (PTFE, uma membrana de filtro). Acrescentaram-se 125 μL de Folin-Ciocalteu (50%) com 2.250 μL de Na_2CO_3 (28 g/L) ao soro. Esta amostra foi agitada e incubada durante 30 minutos a temperatura ambiente para mensuração de sua absorção. As concentrações dos compostos fenólicos foram expressas como equivalentes de ácido gálico (GAE mg/L de leite).

O teor de flavonoides das amostras foram analisados pelo método espectrofotométrico, de acordo com Buriol et al. (2009) a 425 nm. A fim de precipitar as proteínas e filtrar o sobrenadante (PTFE), adicionou-se metanol (100%) ao leite. Sequencialmente, 500 μL do soro foram misturados a 250 μL de cloreto de alumínio (5%) em metanol e 4,25 mL de metanol (90%). As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos, para realização de medidas de absorbância e os resultados foram expressos como equivalente de quercetina (QE mg/L de leite).

A capacidade antioxidante do leite foi estabelecida pela técnica da Força de Redução aos Íons Férrico como descrito por Zhu et al. (2002) com algumas modificações. A precipitação das proteínas do leite foi obtida através de uma solução de ácido tricloroacético (20%) que após 10 minutos em repouso sofreu centrifugação (1058 x g por 10 minutos a 20°C). Uma alíquota do soro do leite foi misturada a 2,5 mL de solução tampão e 2,5 mL de ferricianeto de potássio [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%) em tubos protegidos da luz. Estes foram incubados a 50°C , por 20 minutos. Na sequência 2,5 mL de ácido tricloroacético (10%) foram adicionados a mistura e centrifugados como citado anteriormente. Por fim, 2,5 mL do sobrenadante foram misturados com 0,25 mL de FeCl_3 (0,1%) para leitura da absorbância. O poder redutor foi expresso como equivalentes de ácido gálico (GAE mg/L de leite).

Para a medição da oxidação de lípidos, determinaram os produtos formados na reação de oxidação ou hidroperóxidos dieno conjugado (DC), descrito por Kiokias et al. (2006). Amostras de leite (50 mL) foram adicionadas a mistura de 2,5 mL de iso octano/2-propanol (2:1 v/v) e agitadas em vórtex durante 10 segundos. A filtração (PTFE) foi realizada antes da medição no espectrofotômetro de UV-Vis. A quantidade de DC na amostra de leite foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{DC (mmol/kg gordura)} = (A/27) / [(a*b) / 100000 * (c+b/1000)]$$

Em que, A: absorvância a 232 nm; a: teor de gordura da amostra (%); b: volume de amostra (μL); c: volume de solvente (mL).

As variáveis foram analisadas estatisticamente pelo procedimento MIXED do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) com um arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados usando um delineamento de duplo quadrado latino 4 x 4. As médias foram comparadas por contrastes ortogonais, para verificar o efeito da peletização, efeito da monensina e o efeito da interação peletização e monensina sobre as dietas, segundo modelo abaixo. Na presença de interação significativa ($P < 0,05$), aplicou-se o Teste de Tukey de comparação múltipla para separar as médias.

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + A_l + TQ_{ik} + PQ_{jk} + A/Q_{lk} + e_{ijklm}$$

Em que: Y_{ijklm} = observação referente a repetição m, do animal l, para a dieta i, no período j para o quadrado latino k; μ = média geral; T_i = efeito da dieta i (soja moída, soja moída com monensina, soja peletizada, soja peletizada com monensina); P_j = efeito do período j (1, 2, 3 e 4); Q_k = efeito de quadrado latino k (1 e 2); A_l = efeito do animal l (1 a 8); Q_{ik} = interação da dieta i com o quadrado k; PQ_{jk} = interação do período j com o quadrado k; A/Q_{lk} = animal l aninhado dentro de quadrado latino k; E_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu a dieta i no período j para o quadrado k.

Resultados e Discussão

Os concentrados peletizados com monensina sódica não influenciaram a produção de leite corrigida e não corrigida para 3,5% de gordura ($P > 0,05$). McGuffey et al. (2001) e Duffield et al. (2008) afirmam haver aumento na produtividade de vacas suplementadas com monensina sódica. A inclusão lipídica intensifica o consumo energético e melhora a eficiência da utilização de energia (Klusmeyer & Clark, 1991), todavia, Vargas et al. (2002), ao oferecerem grãos de soja moídos e óleo de soja para vacas Holandês não constataram incremento na produção de leite, bem como os dados visualizados na Tabela 4.

Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
PL ³ (kg/dia)	14,93	15,74	15,54	15,25	0,73	0,62	0,91	0,80
PLC ⁴ (kg/dia)	14,64	14,88	15,19	14,55	0,81	0,72	0,84	0,58
Proteína ⁵	31,1	31,1	31,1	31,0	0,00	0,87	0,86	0,71
Gordura ⁶	33,7	31,6	33,9	32,0	0,01	0,005	0,68	0,15
Lactose ⁷	45,0	45,0	45,4	45,3	0,00	0,76	0,14	0,55
Sólidos ⁸	118,9	116,7	119,5	117,3	0,01	0,001	0,31	0,11
Ureia (mg/dL)	22,44 ^b	22,31 ^b	22,74 ^b	24,56 ^a	0,41	0,04	0,004	0,0003 ⁹

¹Valores de probabilidade para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I); ²EP = erro padrão da média; ³PL = Produção de leite; ⁴PLC = Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura = $(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura}) \times \text{produção de leite (kg/dia)}$ (Sklan et al., 1992); ^{5,6,7 e 8} g/kg MS, ⁹Teste de Tuckey de comparação múltipla para interação significativa (P<0,05)

As percentagens médias de gordura do leite de vacas que receberam concentrados peletizados (3,18%) apresentaram menores (P<0,05) que o concentrado farelado (3,38%). Esta redução significativa no teor de gordura do leite em relação aos concentrados não peletizados pode ser explicada pelo fato que a peletização contribui para o rompimento das micelas de gordura do grão de soja e aumenta o teor de ácidos graxos poli-insaturados disponíveis. Consequentemente há incremento na taxa de biohidrogenação que culminará na síntese de ácidos graxos trans, conhecidos inibidores da lipólise na glândula mamária. (Grummer, 1991).

As diferentes dietas não influenciaram os teores de proteína e lactose no leite (P>0,05, tabela 4). Vargas et al. (2002) também não observaram valores significativos para os teores de proteína e lactose ao fornecerem grão de soja moído e óleo de soja para vacas lactantes. Também Liu et al. (2008) não notaram diferenças nas concentrações de proteína e lactose fornecerem diferentes oleaginosas (soja, linhaça, girassol, amendoim e algodão).

Os teores de sólidos totais tiveram médias de 11,89%, 11,67%, 11,95% e 11,73%, inferiores aos produzidos por vacas da raça Holandês de 12,37% (Machado et al., 2000), 12,10% (Durães et al., 2001) e 12,03% (Prada e Silva et al., 2000). Os valores foram maiores (P<0,05) para o leite de vacas que receberam concentrado farelado (média 11,92%) quando comparadas aos peletizados (média 11,7%). O teor de sólidos totais está ligado diretamente ao consumo de matéria seca e ao metabolismo animal (Staines et al., 2000). Alimentos peletizados podem atenuar o consumo de MS pela alta eficiência alimentar deste tipo de dieta (Chouinard et al., 1997), e, desta forma,

influenciar na concentração de sólidos totais do leite. Adicionalmente, este parâmetro pode ser influenciado por um conjunto de variáveis como fator genético, raça, manejo, estágio lactacional e estação do ano (Homan & Wattiaux, 1996).

Os valores de ureia presentes no leite foram 22,4; 22,3; 22,7 e 24,5 mg/dL (Tabela 4), que corresponde a valores de 10,4; 10,3; 10,5 e 11,4 mg/dL de N-ureico no leite. Concentrados peletizados adicionados de monensina aumentam a concentração de ureia no leite. A monensina reduz a degradação ruminal de peptídeos e aminoácidos com consequente aumento da proteína não degradável no rúmen para o intestino delgado e aminoácidos para a neoglicogênese. Assim, há incremento do nitrogênio ureico plasmático, permeável aos vasos sanguíneos da glândula mamária e excretado no leite (Duffield et al., 1998, Plaizer et al., 2000, McGuffey et al., 2001). Duffield et al. (2008), relatam que dietas com monensina elevam em 6% os níveis de ureia plasmática. A peletização aumenta a disponibilidade proteica pela desnaturação através do calor e, acordo com Nousiainen et al. (2004), a proteína bruta dietética é a principal responsável pelo aumento na concentração de ureia no leite.

Houve efeito dos tratamentos para as concentrações dos ácidos graxos C10:0; C14:0; C14:1; C16:0; C18:0; C18:3 n3; C20:0; C20:3 n6 e C20:5 n3 presentes no leite conforme Tabela 5.

Tabela 5. Concentrações de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) no leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
4:0	0,18	0,14	0,04	0,09	0,008	0,96	0,08	0,61
6:0	0,02	0,02	0,05	0,02	0,0008	0,37	0,37	0,63
8:0	0,40	0,38	0,47	0,46	0,006	0,71	0,11	0,44
10:0	1,33	1,45	0,97	1,32	0,02	0,01	0,01	0,50
12:0	2,46	2,18	2,45	2,48	0,02	0,18	0,12	0,28
14:0	8,30 ^a	8,07 ^a	8,53 ^a	6,62 ^b	0,27	0,003	0,07	0,0002 ³
14:1	1,21	1,05	1,19	1,04	0,007	0,009	0,79	0,09
15:0	0,38	0,35	0,31	0,35	0,004	0,90	0,38	0,99
16:0	25,17 ^{ab}	24,97 ^{ab}	25,61 ^a	24,27 ^b	0,37	0,05	0,73	0,03 ⁴
16:1	0,22	0,08	0,13	0,25	0,01	0,89	0,61	0,26
17:0	0,14	0,09	0,23	0,07	0,006	0,05	0,48	0,20
17:1	0,56	0,49	0,48	0,66	0,03	0,62	0,72	0,29
18:0	22,47	22,72	24,09	23,36	0,66	0,63	0,03	0,64
18:1 n9	28,37	28,89	28,19	28,38	0,34	0,34	0,34	0,79
18:2 n6	1,96	1,88	1,732	1,79	0,07	0,94	0,33	0,71
18:2 n9 t11	0,10	0,10	0,08	0,10	0,0006	0,58	0,58	0,63
18:3 n3	0,37	0,45	0,31	0,45	0,003	0,007	0,40	0,09
18:3 n6	0,56	0,79	0,61	0,68	0,01	0,09	0,75	0,78
20:0	4,08 ^{bc}	5,01 ^{ab}	3,26 ^c	5,71 ^a	0,41	0,0004	0,87	0,002 ⁵
20:2	0,28	0,24	0,33	0,20	0,005	0,07	0,9	0,11
20:3 n3	0,01	0,02	0,02	0,01	0,0002	0,59	0,99	0,22
20:3 n6	0,20 ^{ab}	0,17 ^{ab}	0,23 ^a	0,12 ^b	0,002	0,04	0,69	0,04 ⁶
20:4 n6	0,03	0,03	0,03	0,03	0,0001	0,55	0,59	0,70
20:5 n3	0,02	0,01	0,03	0,01	0,0001	0,02	0,38	0,17
21:0	0,34	0,36	0,35	0,39	0,003	0,38	0,63	0,32
22:1 n9	0,03	0,03	0,02	0,04	0,0009	0,86	0,97	0,72

¹Valores de Probabilidade para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I); ²EP = erro padrão da média; ^{3,4,5 e 6} Teste de Tuckey de comparação múltipla para interação significativa (P<0,05)

As concentrações dos ácidos graxos saturados cáprico e araquídico (10:0 e 20:0) e do ácido graxo poli-insaturado C18:3 n3 (α -linolênico) apresentaram aumentos (P<0,05) na presença de peletização.

Fellner et al. (1995) afirmaram que quase todo o C18:3 n3 sofre biohidrogenação e 92% se tornam saturados em dietas convencionais, entretanto, os tratamentos térmicos reduzem o efeito das bactérias ruminais sobre os AGP e os protege contra a biohidrogenação (Neves et al., 2007). Bayourthe et al. (2000) notaram aumento de C18:3 no leite de vacas suplementadas com oleaginosas tratadas termicamente e segundo Chilliard et al. (2000), aumentos em 20% no teor de α -linolênico no leite

podem ocorrer se houver suficiente proteção contra a biohidrogenação. O óleo de soja apresenta 6,8% de ácido linolênico (Eifert et al., 2006), pastagens também são ricas neste AGP e facilitam a incorporação deste ao leite.

As médias dos teores de C10:0 e C20:0 se apresentaram superiores no leite de vacas suplementadas com concentrados peletizados. Contrariamente, Chouinard et al. (1997) avaliaram tratamentos térmicos a diferentes temperaturas e observaram redução na concentração destes AGS, indicando que houve menor síntese *de novo* na glândula mamária. Estes autores afirmam que o tamanho da partícula do alimento pode influenciar a *síntese de novo* dos ácidos graxos e intensificar o teor de AGS no leite.

A presença dos ácidos graxos saturados mirístico e palmítico (14:0 e 16:0) apresentaram médias inferiores na gordura do leite de vacas alimentadas com concentrado peletizado e monensina sódica. Este fato decorre da diminuição na taxa de biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados como o pamtoleico ou C16:1 (De Holanda et al., 2011), pois a monensina altera a fermentação ruminal com consequente redução na síntese de AGS hipercolesterolêmicos como o C14:0 e o C16:0 (Fellner et al., 1997). Conforme Gonthier et al. (2005), as suplementações com aditivos são mais eficientes que os tratamentos térmicos em promover proteção aos AG contra a biohidrogenação, todavia, a peletização também altera esta e o padrão fermentativo ruminal com consequente redução no teor de C14:0 e C16:0 (Kuss et al., 2007).

Vacas suplementadas com concentrados peletizados apresentaram teores de C14:1 (meristoleico), C20:3 n6 (dihomo-gama-linolênico ou DGLA) e C20:5 n3 (eicosapantenoico ou EPA) reduzidos no leite ($P < 0,05$). Um desequilíbrio na família ômega 3 (peletização aumentou C18:3 n3) desestrutura a via de biossíntese da família ômega 6 com consequente redução no teor de DGLA (Calder, 2003) devido à competição existente pelas enzimas $\Delta 6$ desaturase e elongase, comuns para as 2 vias de transformação dos ácidos graxos.

O fornecimento de concentrados peletizados reduziu os teores de C20:5 n3 (EPA) no leite, todavia, um aumento em sua concentração era esperado. Tal fato é explicado, pela baixa eficiência de transferência do EPA da dieta para o leite (Chilliard et al., 2001) que indica alta biohidrogenação deste AGI no rúmen.

Neste trabalho, nota-se a ausência do trans 11 C18:1 (ácido vacênico), um intermediário comum para os ácidos linoleico e linolênico (Harfoot & Hazlewood, 1988). Segundo Griinari et al. (2000), a $\Delta 9$ desaturase ao adicionar uma dupla ligação *cis*-9 transforma o ácido esteárico em oleico e o vacênico em CLA (Chilliard et al.,

2000). Em média, 70% do CLA presente no leite provém desta síntese endógena de dessaturação do ácido vacênico (Bauman & Griinari, 2003) que comprova a procedência do CLA na gordura do leite dos animais deste experimento.

A concentração de C18:0 apresentou aumento significativo no leite de animais que receberam monensina, embora o resultado esperado fosse oposto a este (Eifert et al., 2006). Por inibir o último passo da biohidrogenação ruminal, este AG deveria estar em menor concentração na presença de monensina (Sauer et al., 1998). Bactérias do gênero *Fusocillus* sp. possuem 73 a 79% de capacidade para hidrogenar o ácido oleico em esteárico (Harfoot & Hazlewood, 1997), contudo, não houve efeito da monensina sobre estas provocando a completa biohidrogenação do ácido oleico a ácido esteárico na gordura do leite. Bonanome & Grundy (1988) afirmam que o C18:0 não eleva a colesterolemia, porque sua desidrogenação é mais veloz que o alongamento da cadeia, e, por isso, é mais rapidamente convertido em oleico no fígado pelas desaturases.

Não houve alteração significativa no teor de CLA no leite ($P>0,05$) para os diferentes tratamentos. Eifert et al. (2006) não observaram efeitos da monensina sobre a concentração de CLA e seus isômeros na gordura do leite. Bauman et al. (2000) afirmaram que diferenças na síntese de CLA podem estar relacionadas com espécies resistentes que substituem bactérias sensíveis aos ionóforos, responsáveis pela biohidrogenação ruminal. Chilliard et al. (2000) relatam que a eficiência de transferência do CLA para o leite varia de acordo com o estágio lactacional do animal.

Não houve efeito significativo para os concentrados peletizados e monensina sódica sobre a proporção dos ácidos graxos da gordura do leite (Tabela 6)

Tabela 6. Concentrações e razões de ácidos graxos agrupados no leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSPM)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSPM		P	M	I
AGMI ³	30,64	30,80	30,26	30,59	0,36	0,523	0,444	0,953
AGPI ⁴	3,58	3,74	3,43	3,42	0,10	0,709	0,248	0,476
AGS ⁵	66,23	66,80	67,19	66,20	0,71	0,688	0,743	0,372
AGPI:AGS	0,51	0,51	0,50	0,51	0,00	0,474	0,309	0,873
Ômega 3	0,41	0,49	0,38	0,47	0,00	0,051	0,574	0,320
Ômega 6	2,76	2,89	2,61	2,62	0,09	0,699	0,274	0,557
Ômega 6:Ômega 3	6,67	6,19	7,29	5,64	0,86	0,078	0,952	0,120

¹Valores de Probabilidade para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I); ²EP = erro padrão da média; ³AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; ⁴AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; ⁵AGS: ácidos graxos saturados

A suplementação com concentrados peletizados e monensina sódica não alteraram as concentrações de ácidos graxos da família n3 e n6 no leite e a razão n6/n3 (Tabela 6). A média obtida de 6,44 se enquadra no preconizado como ideal para o consumo humano de 4:1 (Sim, 1998).

Na Tabela 6, nota-se que houve melhora no perfil da gordura do leite com aumento na concentração de ácidos graxos monoinsaturados (média de 30,57%) e redução de saturados (média de 66,6%). Este fato demonstra que o leite comum, composto por 25% de ácidos graxos monoinsaturados, 5% poli-insaturados e 70% de saturados (Grummer, 1991), pode e deve ser melhorado com a manipulação de dietas e aplicação de técnicas de proteção de ácidos graxos insaturados com objetivo de alcançar a superioridade na qualidade do produto final.

Não houve efeito significativo dos concentrados sobre a transferência de polifenóis totais e flavonoides para o leite (Tabela 7). A microbiota ruminal é capaz de efetuar a hidrólise dos polifenóis e metabolizá-los em diversos ácidos aromáticos facilmente absorvíveis Manach et al. (2004), que reduz seu teor no leite. Esta hidrólise é importante na produção de metabólitos ativos, como as lignanas da linhaça encontradas no plasma do leite dos mamíferos (Gagnon et al., 2009).

Tabela 7. Antioxidantes e parâmetros de oxidação do leite de vacas da raça Holandês suplementadas com concentrados à base de grãos de soja e milho farelados (GS), peletizados (GSP), farelados com monensina (GSM) e peletizados com monensina (GSMP)

	Concentrados				EP ²	Probabilidade ¹		
	GS	GSP	GSM	GSMP		P	M	I
Polifenóis totais ³	17,84	17,88	11,85	16,9	29,65	0,45	0,31	0,78
Flavonoides ⁴	6,72	6,19	6,48	8,53	3,79	0,53	0,39	0,15
Força de Redução ³	53,23	54,48	47,23	51,51	24,62	0,37	0,15	0,96
Dieno Conjugados ⁵	43,23	73,9	47,42	59,82	58,99	0,0002	0,30	0,37

¹ Valores de P para efeito da peletização (P), efeito da monensina (M) e efeito da interação (I); ² EP = erro padrão da média; ³ Equivalente ácido gálico, µg/L; ⁴ Equivalente quercetina, µg/L; ⁵ mmol/Kg gordura

O parâmetro de força de redução do leite também não foi afetado pelos concentrados ($P > 0,05$). A técnica da força de redução aos íons férricos mensura, em uma amostra, a quantidade de compostos que reduzem o ferro da forma férrica (Fe^{+3}) para a forma ferrosa (Fe^{+2}). Esta prática indica a capacidade destes compostos em doar elétrons ou hidrogênio aos radicais livres e convertê-los em produtos termodinamicamente estáveis, com diminuição da oxidação lipídica. Esse resultado

indica que os polifenóis e flavonoides presentes no grão de soja não conservaram as características necessárias à capacidade de redução (Zhu et al., 2002).

Houve aumento significativo para o de hidroperóxidos dieno conjugados (DC) no leite de animais suplementados com concentrados peletizados. Estes valores estão relacionados com a oxidação do ácido linoleico, representados pela produção de hidroperóxidos dieno conjugados, e indica que os altos níveis de substratos oxidáveis no leite estão acima da capacidade antioxidante deste. (Kiokias et al., 2006). No presente trabalho, a baixa capacidade antioxidante do leite de vacas suplementadas com concentrado peletizado é indicada pela maior concentração de hidroperóxidos. O desequilíbrio entre antioxidantes e ácidos graxos poli-insaturados é o principal determinante para o início da oxidação no leite (Graneli et al., 1998). Como o tratamento térmico incrementa a concentração de AGPI do leite, por reduzir a biohidrogenação dos AG (Chouinard et al., 1997), conclui-se então, que houve aumento na oxidação destes.

Conclusões

O uso de grão de soja no concentrado peletizado ou não, com e sem adição de 480 mg de monensina sódica por animal/dia, não influencia a produção de leite de vacas da raça Holandês mantidas em pastagem do gênero *Cynodon*. Concentrados peletizados reduzem o teor de sólidos totais e o teor de gordura do leite. A peletização aumenta o teor de 18:3 n3 e reduz o teor de 14:0. A suplementação com monensina limita a concentração de ácidos graxos hipercolesterolêmicos como o 10:0, e, em conjunto com a peletização potencializa a redução do 14:0 e 16:0. Concentrados peletizados intensificam a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, indicada pelo alto teor de dieno conjugados no leite.

Referências

- ANTUNES, R.C.; RODRIGUEZ, N.M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI T.T; PIRES A.V.; OLIVEIRA S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed. Jaboticabal: Funep, 2006, v. 1, p. 229-253.
- BAUMAN, D.E.; BARBANO, D.M.; DWYER, D.A. et al. Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2422-2425, 2000.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203–227, 2003.
- BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology**, v.278, p.R179-R184, 2000.
- BAYOURTHE, C.; ENJABERT, F.; MONCOULON, R. Effects of different forms of canola oil fatty acids plus canola meals on milk composition and physical properties of butter. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.690-697, 2000.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.; et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers, **Livestock Production Science**, v.63, p.201–211, 2000.
- BONANOME, A.; GRUNDY, S.M. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. **Nutritional English Journal of Medicine**, v.318, p.1244-1248,1988.
- BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E.M.; et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v.32, p.296-302, 2009.
- BUTLER, W.R.;CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, p.858-865, 1996.

- CALDER, P.C. N3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. **Lipids** v,38. p,343–352, 2003.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**. v.70, p.31–48, 2001.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, M.; et al. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. **Annales Zootechnie**, v.49, p.181-205, 2000.
- CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; et al. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997.
- DE HOLANDA, M.C.R.; DE HOLANDA, M.C.R.; MENDONÇA JR, A.F. Suplementação dietética de lipídios na concentração de ácido linoléico conjugado na gordura do leite. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, p.221-229, 2011.
- DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; SANDALS, D.; LISSEMORE, K.; MCBRIDE, B. W.; LUMSDEN, J. H.; DICK, P. R.; BAGG, P. Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 2354–2361, 1998.
- DUFFIELD, T.F.; RABIEE, A.R.; LEAN, I.J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1347–1360, 2008.
- DURÃES, M. C.; VALENTE, J.; FREITAS, A. F.; et al. Diferenças entre produções de leite e de gordura de vacas pc e po da raça holandesa no estado de minas gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, p.701-707, 2001.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANNA, D.P.D; et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.219-228, 2006.

- EMBRAPA, 2004. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia de Produção de Soja** - Região Central do Brasil. Londrina, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>> Consulta em 10 de setembro de 2012.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.1815-1823, 1995.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Effect of Nigericin, Monensin, and Tetronasin on Biohydrogenation in Continuous Flow-Through Ruminal Fermenters. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.921–928, 1997.
- GAGNON, N.; CÔRTEZ, C.; SILVA, D.; et al. Ruminal metabolism of flaxseed (*Linum usitatissimum*) lignans to the mammalian lignan enterolactone and its concentration in ruminal fluid, plasma, urine and milk of dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v.102, p.1015–1023, 2009.
- GONTHIER, C.; MUSTAFA, A.F.; et al. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: effects on blood parameters and milk fatty acid composition. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.748-756, 2005.
- GRANELLI, K.; BARREFORS, P.; BJÖRCK, L.; et al. Further Studies on Lipid Composition of Bovine Milk in Relation to Spontaneous Oxidised Flavour. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.77, p.161-171, 1998.
- GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.M.; et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 - desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3228-3243, 1991.
- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: **The Rumen Microbial Ecosystem**. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands. (Hobson, P.N., ed.), 1988, p. 285–322.

- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. **Lipid metabolism in the rumen**. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1997, p.382-426.
- HOMAN, E.J.; WATTIAUX, M.A. **Technical dairy guide: lactation and milking**. 2.ed. Madison: University of Wisconsin, 1996. 94p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO 5509). (1978) **Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids**. International Organization for Standardization – ISO, 1-6.
- KIOKIAS, S.N.; DIMAKOU, C.P.; TSAPROUNI, I.V.; et al. Effect of Compositional Factors against the Thermal Oxidative Deterioration of Novel Food Emulsions. **Food Biophysics**, v.3, p.115-123, 2006.
- KLUSMEYER, T. H.; CLARK, J. H. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3055-3067, 1991.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140p.
- KUSS, F.; RESTLE, J.; KOSLOSKI, J.V.; et al. Perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular da carne de vacas de descarte de diferentes grupos genéticos terminadas em confinamento, abatidas com distintos pesos. **Ciência Rural**, v.37, p.815-820, 2007.
- LIU, Z.L.; YANG, D.P.; CHEN, P.; et al. Effect of dietary sources of roasted oilseeds on blood parameters and milk fatty acid composition. **Czech Journal Animal Science**, v.53, p.219–226, 2008.
- MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1883-1886, 2000.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.194-203, 2001 (suppl).

- MURPHY, J.J.; CONNOLLY, J.F.; McNEILL, G.P. Effects on milk fat composition and cow performance of feeding concentrates containing full fat rapessed and maize distillers grains on grass-silage based diets. **Production Science**, v.44, p.1-11, 1995.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C., 2001. 381p.
- NEVES, C.A.; SANTOS, G.T.; MATSUCHITA, M.; et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v134, p.32-44, 2007.
- NOUSIAINEM, J.; SHINGFIELD, K.J.; HUHTANEN, P. Evaluation of Milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.386-398, 2004.
- PLAIZIER, J. C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T.; et al. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.2918 -579, 2000.
- PRADA e SILVA, L.F.; PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, p. 330-333, 2000.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, p.755-760, 2006.
- SÁ FORTES, R.V.; ARTUNDUAGA, M.A.T.; CARVALHO, A.U.; et al. Propilenoglicol ou monensina na dieta de vacas leiteiras no período de transição: saúde do úbere, produção e composição do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.179-184, 2008.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.; LANA, R.P.; et al. Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1931-1938, 2001.
- SAS 2004. SAS/STAT User's Guide. SAS - Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, USA, 2004, 5135p.

- SAUER, F.D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R. et al. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. **Journal of Animal Science**, v.76, p.906-914, 1998.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- SIM, J.S. Designer eggs and their nutritional and functional significance. **World Review of Nutrition Dietetics**, v.23, p. 89-101, 1998.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.
- SKLAN, D.; ASHKENNAZI, R.; BRAUN, A.; et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- STAINES, V.; RUSSEL, B.; GALLAGHER, S. **Factors affecting milk composition**. Agriculture Western Australia, Farmnote 5/92. Disponível em: <www.agric.wa.gov.au> Acesso em 30 de novembro 2012.
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; et al. Adição de Lipídios na Ração de Vacas Leiteiras: Parâmetros Fermentativos Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.522-529, 2002 (suplemento).
- WATTIAUX, A. M.; GRUMMER, R.R. **Lipid metabolism in dairy cows**. The Babcock Institute for International Dairy Research and Development. University of Wisconsin-Madison, 2000. Disponível em : <http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/de/en/de_04.en.pdf> Acesso em 10 outubro de 2012.
- WERNERSBACH FILHO, H.L.; CAMPOS, J.M.S.; ASSIS, A.J.; et al. Variáveis ruminais, concentração de uréia plasmática e excreções urinárias de nitrogênio em vacas leiteiras alimentadas com concentrado processado de diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1236-1241, 2006 (suplemento).

ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R.M.; ENSUNSA, J.L.; et al. Antioxidative Activities of Oolong Tea. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.50, p.6929-6934, 2002.

