

MAÍRA MACHADO LEAL CAMARDELLI

**ÓLEO DE SOJA E PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE CABRAS LEITEIRAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**  
**2003**

MAÍRA MACHADO LEAL CAMARDELLI

**ÓLEO DE SOJA E PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE CABRAS LEITEIRAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de março de 2003

---

Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues  
(Conselheiro)

---

Prof. Augusto César de Queiroz  
(Conselheiro)

---

Prof<sup>a</sup>. Maria Ignez Leão

---

Prof. Hilário Cuquetto Mantovani

---

Prof. Rogério de Paula Lana  
(Orientador)

À minha mãe, Silvia Leal, por ter me apoiado em todas as decisões que tive de tomar na vida, pela força que me deu em todos os momentos difíceis, por ter sido minha amiga e confidente e por ter me ensinado que obstáculos existem para serem vencidos e objetivos para serem alcançados.

Aos meus avós, Fernando e Carmen Leal, por terem me dado uma boa educação e por me proporcionarem uma infância e adolescência tranqüila, com harmonia, conforto, amor e carinho.

“Feliz é aquele que sabe ao certo o que procura, pois quem não sabe o que procura, não vê o que encontra”.

(Autor Desconhecido)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

Ao professor Rogério de Paula Lana, pela atenção, dedicação e orientação.

Aos professores Augusto César de Queiroz, Marcelo Teixeira Rodrigues, Maria Ignez Leão e Hilário Mantovani, pela colaboração.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, pelos ensinamentos.

A todos os funcionários do Setor de Caprinocultura, especialmente ao Sr. Antônio, Ronaldo, Arlindo, João e ao Sr. Manuel, pela imprescindível ajuda que me deram durante os dois experimentos de campo.

A todos os funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, especialmente à Vera, Waldir, Monteiro e Welinton, pela ajuda e paciência.

A todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, especialmente ao Adilson, Sr. Jorge, Raimundo, Venâncio e à Celeste.

A todos os colegas, em especial ao Eduardo Eifert, Marco Aurélio Bomfim, Márcia, Poliana Mary, Júnior Stradiotti, Daniela e André Luigi, pela grande colaboração, pelo companheirismo e pela alegria.

Ao estagiário José Carlos e aos bolsistas Juliana e Ivan, pela ajuda fundamental no desenvolvimento desta pesquisa.

Às amigas Roberta Vaz e Kátia Atoji, pela força e amizade.

À minha mãe, Silvia Leal, e aos meus avós, Fernando e Carmen Leal, pela educação e compreensão, pelo apoio e incentivo e por tudo que fizeram por mim em toda minha vida.

Ao meu pai, Giovanni Camardelli, e à minha tia Mary, pelo apoio e incentivo.

Às pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

MAÍRA MACHADO LEAL CAMARDELLI, filha de Giovanni Camardelli Neto e Silvia Machado Leal, nasceu em Salvador, Bahia, em 20 de março de 1978.

Em março de 1996, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, concluindo-o em março de 2001.

Em abril de 2001, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais, realizando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes e submetendo-se à defesa de tese em março de 2003.

## CONTEÚDO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Parâmetros de fermentação ruminal	5
2.1.1. pH	6
2.1.2. Amônia (NH <sub>3</sub> )	8
2.1.3. Ácidos graxos voláteis (AGV)	9
2.2. Lipídios	11
2.2.1. Síntese de gordura do leite	14
2.3. Própolis	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

Capítulo 01 - Óleo de Soja e Própolis na Alimentação de Cabras Leiteiras: Consumo de  
Matéria Seca e de Nutrientes e Parâmetros de Fermentação Ruminal

RESUMO	25
ABSTRACT	26
1. Introdução	27
2. Material e Métodos	29
3. Resultados e Discussão	35
4. Conclusões	39
5. Literatura Citada	40

Capítulo 02 - Óleo de Soja e Própolis na Alimentação de Cabras Leiteiras: Consumo e  
Digestibilidade de Matéria Seca e de Nutrientes, Produção e Composição do Leite e  
Parâmetros de Fermentação Ruminal

RESUMO	43
ABSTRACT	44
1. Introdução	45
2. Material e Métodos	47
3. Resultados e Discussão	51
4. Conclusões	59
5. Literatura Citada	60
RESUMO E CONCLUSÕES	63
APÊNDICE	64

## RESUMO

CAMARDELLI, Maíra Machado Leal, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2003. **Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras.** Professor Orientador: Rogério de Paula Lana. Professores Conselheiros: Marcelo Teixeira Rodrigues e Augusto César de Queiroz.

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de verificar os efeitos da adição de óleo de soja (OLS), extrato etanólico de própolis (EEP) e própolis bruta moída (PBM) na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não-fibrosos (CNF); produção e composição do leite; e alguns parâmetros de fermentação ruminal, como pH, amônia (NH<sub>3</sub>), ácidos graxos voláteis (AGV) e atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal. No primeiro experimento foram utilizadas seis cabras Alpinas fistuladas no rúmen, em seis períodos experimentais. As dietas foram compostas de 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja. Os animais foram submetidos aos tratamentos controle (CON), seguido de cinco níveis crescentes de OLS, EEP e PBM. Não houve efeito de tratamento sobre as variáveis relacionadas ao consumo, exceto pelo aumento do consumo de extrato etéreo no tratamento contendo óleo de soja. Contudo, houve tendências de diminuição da concentração de butirato nos tratamentos PBM e OLS e de redução da relação

acetato:propionato nos tratamentos EEP e OLS. No segundo experimento foram utilizadas dezesseis cabras Alpinas, sendo que quatro animais estavam fistulados no rúmen. Os animais foram alocados em quatro quadrados latinos, 4x4, em um arranjo fatorial 2x2 dos tratamentos. Foram adicionados ao concentrado 0 ou 120 g de OLS e 0 ou 10 mL de EEP animal/dia. As dietas foram isoprotéicas, com 14% de PB e compostas de 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja, diferindo entre si pela ausência ou presença de OLS e EEP. O OLS reduziu os consumos de MS (%PV e g/kg PV<sup>0,75</sup>), FDN e CNF; reduziu a digestibilidade da FDN, aumentou a digestibilidade da PB e do EE e o teor de nutrientes digestíveis totais (NDT); diminuiu a produção e aumentou os percentuais de gordura, proteína e sólidos totais no leite; aumentou o pH e reduziu a relação acetato:propionato no líquido ruminal. Houve interação entre OLS e EEP sobre os consumos de MS (kg/animal/dia), MO, PB, EE, FDN e CNF, em que o EEP aumentou os consumos para os animais submetidos ao tratamento sem OLS e reduziu os consumos quando o OLS estava presente na dieta. Houve, ainda, tendências de redução do percentual de acetato e da relação acetato:propionato pelo uso de EEP.

Palavras-chave: ácidos graxos voláteis, amônia, composição do leite, consumo, digestibilidade, extrato etanólico de própolis, óleo de soja, pH, produção de leite, própolis bruta moída

## ABSTRACT

CAMARDELLI, Maíra Machado Leal, M.S., Federal University of Viçosa, March 2003. **Soybean oil and propolis in the diets of dairy goats.** Adviser: Rogério de Paula Lana. Committee members: Marcelo Teixeira Rodrigues and Augusto César de Queiroz.

Two experiments were carried out with the objective to verify the effects of soybean oil (SBO), ethanolic extract of propolis (EEP) and grinded crude propolis (GCP) in the diets of dairy goats on intake and digestibility of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF) and non fibrous carbohydrates (NFC); production and composition of the milk; and some ruminal parameters, such as pH, ammonia (NH<sub>3</sub>), volatile fatty acids (VFA) and specific activity of ammonia production (SAAP) by the ruminal microbiota. On the first experiment six ruminal fistulated Alpine female goats were used in six experimental periods. The diets contained 67% corn silage and 33% concentrate based on corn and soybean meal. The animals were submitted to control treatment (CON), and five increasing levels of SBO, EEP and GCP. There was no treatment effect on the intake variables, except by increasing on Ethereal extract intake in the treatment containing soybean oil. However, there were trends for decrease in butyrate in the treatments with GCP and SBO and decrease in acetate:propionate ratio in the treatments with EEP and SBO. On the second experiment sixteen Alpine female goats were used, and four

animals were fistulated in the rumen. The animals were allocated in four 4x4 Latin squares, in a factorial 2x2 design of the treatments. It was added to the concentrate 0 or 120 g of SBO and 0 or 10 mL of EEP animal/day. The diets had the same protein content, with 14% CP and contained 67% corn silage and 33% concentrate based on corn and soybean meal, differing to each other by the absence or presence of soybean oil and ethanolic extract of propolis. The SBO decreased the intakes of DM (%BW and g/kg BW<sup>0.75</sup>), NDF and NFC; decreased the digestibility of NDF, increased the digestibilities of CP and EE and increased the total digestible nutrients content (TDN); decreased the production and increased the percentual contents of fat, protein and total solids in the milk; increased the pH and decreased the acetate:propionate ratio in the ruminal fluid. There was interaction between SBO and EEP on the intakes (kg/animal/day) of DM, OM, CP, EE, NDF and NFC, in which the EEP increased the intakes in the animals submitted to the treatment without SBO and decreased the intakes when the SBO was present in the diet. There was, in addition, trends for reduction of the percentual of acetate and the acetate:propionate ratio by using the EEP.

Key Words: ammonia, composition of the milk, crude propolis, digestibility, ethanolic extract of propolis, intake, milk production, pH, soybean oil, volatile fatty acids

## **1. INTRODUÇÃO**

A caprinocultura é uma atividade em grande desenvolvimento nos últimos anos. A população mundial de caprinos é de 746 milhões de cabeças, sendo que em 10 anos houve um crescimento de 19,8%. A produção mundial de leite caprino aumentou em 18,4%, situando-se em terceiro lugar depois do leite bovino e bubalino, com uma produção de 12,7 milhões de toneladas em 2002 (FAO, 2003).

No Brasil, a região Nordeste é a que possui o maior rebanho caprino, com 93,4% do total, seguido pelas regiões Sudeste, com 2,2%, e Sul, com 1,9% (IBGE, 2002). Embora pareça pouco expressivo, as regiões Sudeste e Sul abrigam grande parte do rebanho leiteiro e são responsáveis por 68% da produção nacional de leite caprino, enquanto a região Nordeste produz apenas 26% do total nacional (Carvalho, 2002).

Prata (1998) ressalta a importância da atividade produtiva, particularmente no que se refere à produção de leite nas últimas décadas. Tem-se observado um aumento da procura e do consumo do leite e de seus derivados, tanto pelas suas características nutricionais como pela sua excelente digestibilidade, resultando em alimentos de

excepcional valor biológico. Aliado a estes, existe o fato de que o leite é muito procurado para alimentação de lactentes, crianças e idosos que apresentam a reconhecida intolerância ao leite bovino.

Os novos criadores, e mesmo os mais antigos, têm encarado a atividade de uma forma mais profissional, preocupando-se em viabilizar economicamente suas criações pelo aumento de eficiência na produção e pela comercialização do leite de cabra e de seus derivados, diferente do que ocorria há alguns anos (Ribeiro, 1998). Por esse motivo, o desenvolvimento de pesquisas contínuas nas áreas de melhoramento genético, reprodução, forragicultura e pastagens, produção e nutrição animal é importante para que a caprinocultura brasileira progrida, tornando-se uma atividade mais rentável e mais competitiva.

Com relação aos aspectos nutricionais, Ribeiro (1998) ressalta que, apesar de serem ruminantes, os caprinos têm peculiaridades que os diferenciam dos ovinos, bovinos e bubalinos. Desta forma, algumas diferenças devem ser consideradas quando se objetiva realizar um manejo nutricional adequado para alcançar melhores desempenhos produtivos, tais como: exigências nutricionais, hábitos alimentares, comportamento animal, atividades físicas, seleção de alimentos, composição do leite e da carcaça, desordens metabólicas, entre outros.

Existem alguns produtos finais advindos do processo de fermentação ruminal que são indesejáveis e que, além de reduzirem a produtividade, pois significam perdas energéticas para o animal, atuam poluindo o meio ambiente. Para diminuir essas perdas e os impactos ambientais provenientes desses produtos finais indesejáveis, tem sido empregada a fermentação ruminal alternativa (Chalupa, 1977) que se fundamenta na manipulação do pH ruminal, na utilização de lipídios, no fornecimento de ionóforos, entre outros (Lana, 1998).

O uso de óleo em rações de ruminantes, quando em níveis elevados, causa redução na digestibilidade da matéria seca e redução na relação acetato:propionato, com conseqüente diminuição do suprimento de ácido acético, precursor direto de 50% da gordura do leite (Chalupa et al., 1986; Palmquist, 1989). A influência dos lipídios sobre os microrganismos ruminais é dependente, ainda, da presença de ácidos graxos livres; da capacidade de formar sais insolúveis; da propriedade de formar barreira física sobre o alimento, dificultando a colonização microbiana, e da quantidade ingerida por dia (Palmquist, 1989; Jenkins, 1995).

De acordo com Santos (1999), os produtos à base de soja possuem um grande percentual de ácidos graxos insaturados, principalmente o óleo de soja, que possui, em média, 75% de insaturação. Considerando que as dietas de ruminantes contêm cerca de 3% de lipídios, em uma suplementação de lipídios a quantidade e a fonte destes devem ser levadas em consideração para que haja um efeito mínimo na fermentação ruminal, já que os óleos possuem efeitos inibitórios sobre os microrganismos celulolíticos.

Os lipídios apresentam, entretanto, algumas vantagens, tais como: inibição da produção de metano, redução da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento do teor de ácido linoléico conjugado na gordura do leite (Lin et al., 1995). Embora os efeitos da gordura dietética sobre a composição da gordura do leite tenham sido amplamente estudados, o efeito das fontes de lipídios sobre o aparecimento de ácido linoléico conjugado (CLA) tem sido avaliado intensivamente apenas a partir da última década (Parodi, 1994; Kelly & Bauman, 1996).

Ácido linoléico conjugado é um termo que descreve os isômeros geométricos do ácido linoléico. O conjugamento da ligação dupla é geralmente na posição 9 e 11 ou 10 e 12, podendo ser configuração *cis* ou *trans* (Parodi, 1997). Mais de 80% do CLA

presente nos produtos lácteos estão na forma de isômeros *cis*-9 e *trans*-11, que são as formas biologicamente ativas do CLA (Chin et al., 1992).

De acordo com Park et al. (1998), a própolis é uma resina de coloração e consistência variada, coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* em diversas partes das plantas, como brotos e botões florais. Seus efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que a compõem. Destes, os flavonóides podem ser considerados os principais compostos, encontrando-se ainda alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas.

Este trabalho visou avaliar os efeitos da adição de óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos; produção e composição do leite; e alguns parâmetros de fermentação ruminal, como pH, amônia, ácidos graxos voláteis e atividade específica de produção de amônia pela microbiota ruminal.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Parâmetros de fermentação ruminal**

O rúmen fornece ambiente adequado para a existência de microrganismos, pois possui temperatura entre 39 e 40°C, anaerobiose, constante fluxo de alimentos e pH entre 5,5 e 7,0. Isto permite aos microrganismos realizarem a fermentação dos alimentos ingeridos pelo animal, suprindo o hospedeiro com diversos produtos finais advindos dessa fermentação, favorecendo, portanto, uma relação simbiótica.

A microbiota consiste de bactérias, fungos e protozoários em número e funções distintas. As bactérias degradam ou utilizam produtos como celulose, hemicelulose, amido, açúcares, ácidos intermediários, proteína, uréia e lipídios e produzem amônia e gás metano, que são responsáveis pela regulação do processo de fermentação no rúmen, pois ao reduzirem o dióxido de carbono com o gás hidrogênio para formar o metano, contribuem para manter baixo o nível de hidrogênio no meio (DAS, 2000). A maioria das bactérias é capaz de fermentar mais de um substrato.

Os microrganismos alojados no rúmen, além de possibilitarem a degradação dos alimentos, são em si uma fonte de proteína, pois cerca de 34 a 89% da proteína que chega ao intestino delgado, onde é digerida e seus constituintes absorvidos pelo lúmen, é de natureza microbiana (Dias, 1999).

No ambiente anaeróbico do rúmen ocorre a degradação dos carboidratos com produção de calor, metano, ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico), além de energia metabolicamente utilizável na forma de adenosina-trifosfato (ATP). Os aminoácidos liberados na degradação de proteínas constituem unidades menores, utilizadas para a produção de amônia, CO<sub>2</sub>, ácidos graxos voláteis e ácidos graxos de cadeia ramificada e para o suprimento das exigências de crescimento de algumas espécies de microrganismos do rúmen (Baldwin & Allison, 1983). O ATP produzido fornece a energia necessária para o crescimento de células microbianas responsáveis por processos de síntese, principalmente de proteínas (Forrest & Walker, 1971). A manipulação da fermentação ruminal, segundo Lana (1998), tem sido empregada para aumentar a produtividade animal e reduzir as perdas por fermentação.

### **2.1.1. pH**

O rúmen, embora seja um órgão bem tamponado por bicarbonatos e fosfatos advindos da saliva e de proteínas e ácidos graxos voláteis produzidos *in loco*, pode ter seu pH alterado em valores que variam de 7,0 até valores menores do que 5,0, dependendo das diferentes dietas fornecidas ao animal (Russell & Hino, 1985). Em dietas contendo altas quantidades de concentrado, normalmente ocorre uma redução da digestão da fibra em consequência do abaixamento do pH no rúmen, reduzindo a eficiência de utilização dessa fonte de energia (Hoover, 1986; Lana et al., 1998).

De acordo com Slyter (1976), quando grandes quantidades de amido são adicionadas na dieta animal, o pH do rúmen diminui para valores iguais ou menores que 5,0. Quando a alimentação dos animais é alterada abruptamente para grandes quantidades de carboidratos altamente fermentáveis, como amido solúvel ou açúcares, o pH ruminal pode diminuir rapidamente, havendo um acúmulo de lactato. Porém, Burrin & Britton (1986) relataram que em animais gradualmente adaptados às rações com mais de 80% de grãos, foram observados pHs mais baixos, sem ocorrer acúmulo de lactato.

A taxa de crescimento de cada espécie pode ser dependente do pH, sendo um fator que determina a competição entre as bactérias no rúmen. Russell et al. (1979) estudaram cinco bactérias ruminais inoculadas em pH variando de 6,7 a 4,7 e concluíram que *Streptococcus bovis* (utilizadoras de fontes protéicas), *Bacteroides ruminicola* (fontes protéicas) e *Selenomonas ruminantium* (ácidos intermediários e amônia) foram mais resistentes a pH baixo do que *Butyrivibrio fibrisolvens* (celulose, hemicelulose, proteínas e lipídios) ou *Megasphaera elsdenii* (ácidos intermediários e amônia).

Estudos *in vitro* mostraram que a hidrólise de fontes protéicas e a produção de amônia por bactérias ruminais são reduzidas quando há o abaixamento do pH (Erfle et al., 1982). A baixa concentração de amônia e o baixo valor do pH afetam o crescimento de bactérias celulolíticas, que têm exigência em amônia em níveis acima de 5 mg/dL (Slyter, 1976).

Lana et al. (1998) demonstraram a importância do pH ruminal no controle da produção de metano e na desaminação de aminoácidos, tanto *in vitro* como *in vivo*. A quantidade de metano produzida em pH 5,7 por bactérias metanogênicas foi seis vezes menor do que a produzida em pH 6,5. Por outro lado, a desaminação foi 2 a 3 vezes maior em ambiente com pH 6,5 do que em pH 5,7.

Segundo Pitt & Pell (1997), a frequência do fornecimento da dieta, a dieta em si, o FDN efetivo e a taxa de digestão tiveram um efeito interativo na predição da flutuação do pH ruminal. A frequência mínima necessária para manter a estabilidade aumentou conforme o FDN efetivo reduziu, contudo o FDN mínimo exigido para manter o pH acima de um determinado nível aumentou conforme a frequência alimentar reduziu. A ingestão de matéria seca e o peso corporal tiveram efeitos pequenos na magnitude da flutuação do pH.

### **2.1.2. Amônia (NH<sub>3</sub>)**

A amônia ruminal advém de nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal. Sua remoção é realizada via incorporação em proteína microbiana, passagem ao trato posterior ou por absorção ruminal (Van Soest, 1994).

A produção de amônia no rúmen é, em 30% dos casos, independente da disponibilidade de carboidratos (Russell et al., 1983). Já se demonstrou que a maior parte do nitrogênio proveniente de aminoácidos é convertida diretamente em um "pool" de amônia para ser incorporado em proteína microbiana e que a presença de aminoácidos estimula o crescimento microbiano *in vitro* no processo de fermentação dos carboidratos prontamente disponíveis (Maeng et al., 1976).

A absorção de amônia do rúmen varia de acordo com o pH, sendo rápida em pH acima de 7,5 e muito lenta abaixo de 6,7 (Lavezzo, 1986). Erfle et al. (1982) encontraram decréscimos na produção de amônia quando o pH variou de 7,0 a 5,0. Segundo esses autores, o efeito principal do pH deve-se aparentemente à habilidade de culturas ruminais em liberar amônia a partir de aminoácidos. A desaminação em pH 5,0

foi 10% daquela em pH 7,0. As baixas concentrações de NH<sub>3</sub> em pH 5,0 e 5,5 estão associadas a fermentações com perdas de organismos proteolíticos. Um possível benefício em um decréscimo na proteólise ruminal pode ser um aumento de proteína dietética escapando a degradação ruminal.

Lavezzo (1986) afirma que quando há N-NH<sub>3</sub> disponível no rúmen, é preciso haver uma produção de energia suficiente para garantir uma máxima taxa de fermentação ruminal. Da matéria seca digerível da ração, 70 a 85% são digeridas pelos microrganismos ruminais, produzindo células microbianas, AGV, dentre outros.

Quando ocorre acúmulo e perdas excessivas de amônia, com redução da eficiência de fixação em proteína microbiana, uma suplementação energética pode auxiliar esse aproveitamento da amônia para a síntese microbiana (Karges et al., 1992; Poppi & McLennan, 1995).

Lana et al. (1998) demonstraram que em uma redução do pH, *in vitro*, de 6,5 para 5,7, houve uma diminuição na produção de amônia em bactérias de animais que receberam dietas contendo apenas forragem, enquanto em bactérias de animais que receberam 90% de concentrado houve uma produção similar de amônia nos dois diferentes pHs. Estes resultados demonstram que as populações microbianas desaminadoras de aminoácidos são distintas nos dois diferentes ambientes ruminais. Em pH elevado, as bactérias desaminadoras são mais capacitadas a desaminar aminoácidos e são favorecidas pelo pH do meio, mas são pouco tolerantes ao abaixamento do pH.

### **2.1.3. Ácidos graxos voláteis (AGV)**

A absorção das fontes de energia pelos ruminantes é feita, principalmente, através de ácidos graxos voláteis, além de pouco ou nenhum monossacarídeo. Durante o

processo de digestão, todo o carboidrato da dieta é convertido em glicose, que se apresenta de modo transitório no rúmen, sendo prontamente convertida mediante o piruvato em ácidos graxos voláteis.

De acordo com Maynard et al. (1984), a absorção dos AGVs é feita através de difusão. Após a absorção de 80 a 90 % do butirato, metade do propionato pode ser metabolizado para lactato e piruvato, enquanto quantidade pequena do acetato é utilizada como fonte de energia no epitélio do rúmen e nos músculos. O butirato absorvido pelo epitélio ruminal é convertido em corpos cetônicos, por isso os níveis desse ácido são baixos no sangue, mas pode ser eventualmente metabolizado como acetil-CoA, com produção líquida de 25 ATPs por molécula.

Quanto ao metabolismo dos AGVs, é evidente o comportamento destes, em que o acetato passa em grande parte para o fluxo sanguíneo, é fosforilado para acetil-CoA e entra no Ciclo do Ácido Tricarboxílico (TCA), necessitando de dois vínculos de energia para tornar-se ativo. Então, há o fornecimento de 12 moléculas de ATP na oxidação, havendo um ganho líquido de 10 ATPs por molécula de ácido acético absorvido, ou pode também ser utilizado diretamente para a síntese da gordura do leite (Maynard et al., 1984).

O ácido propiônico é removido do sangue portal pelo fígado, onde é convertido em glicose ao entrar inicialmente no ciclo TCA como succinil-CoA, sendo a principal fonte de glicose para os ruminantes. As reações necessitam de três vínculos de energia concentrada e duas vitaminas (biotina e vitamina B12), havendo um ganho líquido de 17 ATPs por molécula ou 34 por equivalente de glicose. Neste caso, os seis átomos de carbono, convertidos em glicose, são metabolizados para CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Bactérias produtoras de ácido propiônico são comuns no rúmen e convertem o ácido láctico em ácido propiônico como parte normal de seu metabolismo (Dawson & Glenn, 1997).

A absorção dos AGVs é feita pelo rúmen, retículo, omaso e intestino grosso. Segundo Chase et al. (1977), a absorção de AGVs a partir do rúmen é imediata, onde níveis elevados no sangue portal têm sido encontrados após 10 minutos da ingestão do alimento.

As proporções de AGVs totais são mais dependentes do pH ruminal do que da constituição da dieta. Erfle et al. (1982) demonstraram relações entre o pH e a produção de AGV, encontrando valores de 80 mmoles/dia de AGV em pH 7,0 e 50 mmoles/dia em pH 5,0. A produção de ácido acético começou a diminuir em pH abaixo de 6,5, obtendo um decréscimo quase linear a partir de pH 5,0. O ácido butírico foi constante a 10 mmoles/dia em pH de 7,0 para 6,0, porém em pH 5,0 caiu para 5 mmoles/dia. O ácido propiônico foi constante em pH 7 e 6,5 em 12 mmoles/dia, aumentando gradativamente para 20 mmoles/dia em pH 5,0. Segundo os autores, a relação acetato:propionato diminuiu de 4,3 para 0,9 com o pH sendo alterado de sete para cinco.

## **2.2. Lipídios**

Segundo Church (1988), os lipídios podem ser classificados com base em algumas características, tais como:

1. Comprimento da cadeia: Os ácidos graxos podem ter o comprimento da cadeia variando de apenas um carbono até trinta. Aqueles que possuem cadeia com um a seis carbonos são chamados de ácidos graxos voláteis;

2. Hidrogenação: Os ácidos graxos podem estar na forma saturada, monoinsaturada ou poliinsaturada. Tanto o número quanto a localização das ligações duplas em cada ácido graxo são importantes;

3. Isômeros ópticos: Quando ligações duplas estão presentes, os ácidos graxos podem apresentar tanto configuração *cis* como *trans*;

4. Ligações: Os ácidos graxos podem se apresentar como ácidos graxos livres ou esterificados como, por exemplo, os triacilgliceróis.

Segundo Maynard et al. (1984), as gorduras são definidas como ésteres formados pela união de um álcool triidroxila, o glicerol, e três moléculas de ácidos graxos. Este composto pode ser denominado de gordura neutra, triglicerídeo ou, mais corretamente, triacilglicerol. Os tipos e as proporções dos ácidos graxos na molécula determinam as propriedades físicas e químicas da gordura, que poderão variar consideravelmente. Os óleos, compostos principalmente de ácidos graxos insaturados, são normalmente líquidos à temperatura ambiente (20°C), enquanto as gorduras, que possuem uma quantidade substancialmente menor de ácidos graxos insaturados, são sólidas à mesma temperatura.

De acordo com Church (1988), os microrganismos ruminais modificam rapidamente os lipídios dietéticos, sendo que, sob condições normais, pouca gordura escapa do rúmen inalterada. Os ácidos graxos da dieta de ruminantes são normalmente encontrados na forma esterificada e quando chegam ao rúmen são hidrolisados rapidamente pelos microrganismos, liberando ácidos graxos livres e glicerol. Apesar de a lipólise ser rápida, é provável que seja realizada numa taxa limitada e que possivelmente sirva para prevenir a formação de quantidades excessivas de ácidos graxos poliinsaturados livres, os quais podem interferir na digestão da fibra e inibir a biohidrogenação.

O processo de biohidrogenação resulta na adição de íons  $H^+$  a ácidos graxos insaturados. Segundo Church (1988), a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados fornece um importante mecanismo pelo qual os microrganismos podem eliminar o

hidrogênio do ambiente ruminal reduzido. Se a biohidrogenação fosse levada até o final, todas as duplas ligações seriam convertidas em ligações simples e, conseqüentemente, todos os ácidos graxos seriam saturados. Entretanto, enquanto a maioria dos ácidos graxos insaturados é modificada pelo metabolismo ruminal, a saturação não ocorre de forma completa e uma variedade de ácidos graxos é produzida como resultado dessa biohidrogenação incompleta.

As bactérias são responsáveis pela biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen, já os protozoários parecem ser de importância secundária (Harfoot & Hazlewood, 1998). Durante vários anos, a única bactéria conhecida por ser capaz de fazer biohidrogenação era a *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler et al., 1966). Porém, como resultado de esforços em pesquisas, um número grande de bactérias ruminais, que tem a capacidade de fazer biohidrogenação de ácidos graxos insaturados, foram isoladas (Harfoot & Hazlewood, 1988). A biohidrogenação de ácidos graxos insaturados envolve vários passos bioquímicos. Investigações com culturas puras sugerem que nenhuma espécie de bactéria ruminal catalise a seqüência de biohidrogenação completa.

O abaixamento do pH ruminal freqüentemente resulta em troca da população bacteriana e em conseqüente mudança no padrão de fermentação dos produtos finais (Van Soest, 1994). Leat et al. (1977) evidenciaram que mudanças nas populações bacterianas do rúmen estão associadas com modificações nas vias da biohidrogenação e correlacionaram com o perfil alterado do ácido *trans*-octadecenóico encontrado em digesta ruminal e em lipídios do tecido animal. Além disso, Griinari et al. (1998) demonstraram que um ambiente ruminal alterado, induzido pela ingestão de dietas com alto nível de concentrado e baixo nível de fibra, está associado com uma mudança no perfil do ácido *trans*-octadecenóico na gordura do leite.

Segundo Vargas (2001), o efeito depressor dos lipídios sobre o consumo de matéria seca deve estar relacionado com a inibição do crescimento de bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais, reduzindo, assim, a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal. A inibição pode ser direta, conforme mencionado anteriormente, ou indireta, pela substituição do carboidrato por lipídio, mantendo-se as dietas isocalóricas. Esta inibição se deve ao fato de os lipídios não serem fonte de energia para o crescimento microbiano.

A concentração ruminal de amônia e dos ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada, como o isovalerato, isobutirato e 2-metil butirato, são indicativos da fermentação ruminal de aminoácidos. Vargas (2001) encontrou boas correlações entre os níveis ruminais de isovalerato, isobutirato e amônia, confirmando esta observação. A inibição no acúmulo de amônia e do isovalerato, por fontes de lipídios, pode ser devido ao efeito depressor dos lipídios insaturados sobre a população de bactérias gram-positivas, fermentadoras obrigatórias de aminoácidos (Russell et al., 1988; Chen & Russell, 1991).

Ainda não foi demonstrado o efeito direto dos lipídios sobre essas bactérias, mas uma vez que os ácidos graxos insaturados apresentam propriedades similares aos ionóforos, tais como natureza apolar, inibição das bactérias ruminais em nível de membrana e alteração dos parâmetros de fermentação ruminal (Chalupa et al., 1986), pode-se chegar a esta conclusão.

### **2.2.1. Síntese de gordura do leite**

A síntese de triacilgliceróis da gordura do leite ocorre nas células epiteliais da glândula mamária. Os precursores usados para a síntese da gordura do leite são glicose,

acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato. Entretanto, alguns ácidos graxos provenientes da dieta ou do metabolismo ruminal e intestinal são incorporados à glândula mamária a partir do sangue. Uma grande proporção de triacilgliceróis transportada pelas lipoproteínas do sangue entra na glândula mamária; desta maneira, os ácidos graxos utilizados para sintetizar os triacilgliceróis provêm de duas fontes: lipídios do sangue e síntese *de novo* nas células epiteliais mamárias (Hurley, 2002).

Segundo González (2001), aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são derivados da dieta e 50% do plasma sanguíneo. O remanescente é elaborado na glândula mamária a partir de precursores, principalmente o acetato. A glândula mamária possui a enzima glicerol-quinase podendo, portanto, produzir glicerol-3-fosfato a partir de glicerol livre para a síntese de triacilgliceróis. Contudo, cerca de 70% do glicerol necessário para a síntese de triacilgliceróis na glândula mamária provém da glicose sanguínea.

Os ácidos graxos de cadeia curta do leite são sintetizados na glândula mamária com participação do acetato e, provavelmente, do  $\beta$ -hidroxibutirato. Os ácidos graxos com 16 carbonos podem vir tanto da síntese na glândula mamária como do sangue. Os ácidos graxos com 18 carbonos ou mais provêm, em quase sua totalidade, dos triacilgliceróis presentes nos quilomícrons e nas lipoproteínas de baixa densidade do sangue, mas também podem ter origem dietética ou do tecido adiposo (González, 2001).

De acordo com Church (1988), uma redução na secreção da gordura do leite de ruminantes pode ser causada pelo consumo de dietas com alto nível de concentrado, com baixo nível de fibra ou pela ingestão crescente de óleos vegetais. A depressão da gordura do leite (*Milk Fat Depression*) ocorre em resposta a uma redução na absorção de acetato em relação ao propionato, que normalmente acontece quando o nível de fibra e, ou sua digestibilidade são reduzidos. Nesta condição, o tecido adiposo compete com a

glândula mamária pelo acetato e armazena os ácidos graxos de cadeia longa provenientes da dieta, ocorrendo, simultaneamente, uma redução na mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo.

Existe uma teoria proposta há mais de 30 anos por Davis & Brown (1970) que explica o mecanismo envolvido na depressão da gordura do leite como sendo uma inibição da síntese de gordura do leite por um ácido graxo intermediário específico, produzido na biohidrogenação ruminal de ácidos graxos poliinsaturados. No decorrer de vários estudos, a redução na porcentagem de gordura do leite foi relacionada a um aumento nos ácidos graxos *trans*-C18:1 em sua constituição (Erdman, 1996; Griinari et al., 1998). Porém, análises detalhadas dos isômeros *trans*-C18:1 revelaram que a redução na gordura do leite estava relacionada, especificamente, a um aumento no *trans*-10 C18:1 (Griinari et al., 1998). Estudos mais recentes têm mostrado que dietas que promovem aumentos no conteúdo de CLA *trans*-10, *cis*-12 da gordura do leite estão próximas às que induzem depressão da gordura do leite (Griinari et al., 1999).

### **2.3. Própolis**

Segundo Park et al. (1998), a própolis é uma resina de coloração e consistência variada, coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* em diversas partes das plantas, como brotos e botões florais, e utilizada pelas abelhas para selar eventuais aberturas na colméia, para reduzir a entrada de vento e, principalmente, para eliminar possíveis invasores, além de ser usada para embalsamar pequenos animais mortos pelas abelhas que não puderam ser retirados, evitando, assim, a putrefação. A própolis também é utilizada como material de construção no interior da colméia, soldando favos, quadros e envernizando o interior dos alvéolos para que a rainha faça postura. Durante a coleta da

própolis, as abelhas misturam a cera e a própolis coletada juntamente com a enzima 13-glicosidase presente na sua saliva, ocasionando a hidrólise dos flavonóides glicosilados em flavonóides agliconas.

Dentre os produtos apícolas, tais como mel, geléia real, pólen, entre outros, a própolis vem se destacando tanto por suas propriedades terapêuticas e por sua atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante e anestésica, quanto pela possibilidade de aplicação nas indústrias farmacêuticas e alimentícias, na forma de alimentos funcionais. Atualmente existem diversos produtos contendo própolis comercializados em todo o mundo, principalmente no Japão, tais como balas, chocolates, doces, xampus, cosméticos, soluções anti-sépticas, pastas dentais, entre outros (Park et al., 1998).

Os efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que compõem a própolis. Destes, os flavonóides podem ser considerados os principais compostos, encontrando-se ainda alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas (Bankova et al., 1992). Fatores como a ecologia vegetal da região onde a própolis foi coletada e até mesmo a variabilidade genética das rainhas também influenciam na composição química da própolis (Park et al., 1998).

Segundo Marcucci (1998), os compostos fenólicos caracterizam-se pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligado diretamente a um anel aromático. Os flavonóides são quimicamente classificados de acordo com a presença ou não de um anel central, de uma dupla ligação no anel e de um grupo hidroxila a ele ligado. Desta forma, algumas classes de flavonóides que podem estar presentes em produtos apícolas merecem ser citados, tais como: flavonas, flavanonas, flavonóis, diidroflavonóis, isoflavonas e chalconas.

A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas como gram-positivas (Ghisalberti, 1979; Vargas et al., 1994; Goulart,

1995; Park et al., 1998; Park et al., 2000). Foi constatada recentemente a inibição do crescimento de bactérias gram-positivas, responsáveis pela incidência de mastite em bovinos leiteiros (Pinto, 2001). Entretanto, não há relatos da aplicabilidade da própolis como aditivo nutricional para ruminantes e de seus efeitos sobre a microbiota ruminal. Se a própolis atua sobre as bactérias gram-positivas ruminais, espera-se que sua adição à ração e em cultivos de microrganismos *in vitro*, assim como ocorre com os ionóforos, iniba o crescimento de bactérias proteolíticas (Hino & Russell, 1987) e, conseqüentemente, a desaminação e a proteólise (Russell & Martin, 1984).

Segundo Stradiotti Jr. et al. (2001), os extratos de própolis obtidos através das técnicas de extração em etanol (99,5%) e de extração em etanol hidratado (70%) foram eficientes na redução da atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal, sendo a extração com 70% de etanol a mais eficiente, pois, mesmo quando diluída a 33,3%, causou os maiores valores de inibição (78%).

Park et al. (1998) observaram que a maioria dos flavonóides foi extraída nas concentrações alcoólicas entre 60 e 80%. Os mesmos autores também verificaram maior percentagem de inibição do crescimento microbiano proporcionado pelos extratos etanólicos de própolis de 60 a 80%, com decréscimos nesta atividade nas percentagens mais altas de etanol (90 e 95%). Segundo Woisky & Salatino (1998) e Park et al. (1998), a técnica do etanol hidratado tem apresentado maior poder de extração dos compostos terapêuticos da própolis.

Em trabalhos *in vitro*, a monensina (5  $\mu$ mol) diminuiu de 33 a 36% a atividade de desaminação pela microbiota, quando incubada em um meio contendo 15 g/L de caseína hidrolisada (Chen & Russell, 1991; Yang & Russell, 1993); e estes valores foram inferiores aos observados por Stradiotti Jr. et al. (2001) com própolis, o que indica que a própolis tem potencial para reduzir a atividade de desaminação ruminal.

Em experimentos *in vitro*, Stradiotti Jr. et al. (2002) avaliaram a eficiência do extrato etanólico de própolis em inibir a produção de gases oriundos da fermentação de diferentes alimentos e verificaram que ele reduziu a produção final total e a produção final de gases para carboidratos fibrosos e, ainda, observaram que o maior nível de extrato de própolis (66,7%) mostrou-se eficiente tanto para carboidratos fibrosos quanto para não-fibrosos.

Stradiotti Jr. et al. (2001) verificaram que o extrato de própolis não afetou o consumo de matéria seca, o pH e a amônia ruminais e a concentração de proteína microbiana no líquido ruminal; entretanto, a própolis inibiu a desaminação pelos microrganismos ruminais, indicando que, apesar de não ter reduzido o nível ruminal de amônia, há a possibilidade de este efeito ocorrer em outras situações, como em dietas contendo alta taxa de proteína degradável/carboidrato fermentável. Também há expectativas de que a própolis possa ter efeito benéfico na redução da relação acetato:propionato, na produção de metano e no aumento no teor de ácido linoléico conjugado no leite.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDWIN, R.L.; ALLISON, M.J. Rumen metabolism. **Journal of Animal Science**, v.57 (Suppl.2), p.461-477, 1983.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; STOEV, G. et al. Determination of fenolic from propolis by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v.607, p.150-153, 1992.
- BURRIN, D.G.; BRITTON, R.A. Response to monensin in cattle during subacute acidosis. **Journal of Animal Science**, v.63, n.3, p.888-893, 1986.
- CARVALHO, R.B. Potencialidades dos Mercados para os Produtos Derivados de Caprinos e Ovinos. 2002. Textos Técnicos – Artigos. Disponível em: <http://www.caprítec.com.br/pdf/CAPRITEC.doc>. (30/01/2003).
- CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, v.46, n.3, p.585-599, 1977.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ELSER, A.E. et al. Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- CHASE, L.E.; WANGSNESS, P.J.; MARTIN, R.J. Insulina do sangue portal e mudanças metabólicas com forrageamento espontâneo com novilhos. **Journal of Dairy Science**, v.60, p.410-415, 1977.
- CHEN, G.J.; RUSSELL, J.B. Effect of monensin and a protonophore on protein degradation, peptide accumulation, and deamination by mixed ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v.69, n.5, p.2196-2203, 1991.
- CHIN, S.F.; LIU, W.; STORKSON, J.M. et al. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. **J. Food Comp. Anal.**, v.5, p.185-197, 1992.

- CHURCH, D.C. **The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition.** Prentice Hall (Ed.), New Jersey, 1988. 564p.
- DAVIS, C.L.; BROWN, R.E. Low-fat milk syndrome. In: A. T. PHILLIPSON (Ed.) **Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant.** Oriel Press, Newcastle upon Tyne, U.K., 1970. p.545-565.
- DAWSON, T.E.; GLENN, B.P. Enrichment enumeration and isolation of propionic acid producing bacteria is enhanced by using erythritol. **Journal of Animal Science**, v.75 (Suppl.1), p.255, 1997.
- DEPARTAMENT OF ANIMAL SCIENCE – DAS. From feed to milk: Understanding Rumen Function. 2000. Faculty of Agricultural and Environmental Sciences. McGill University, Montreal – Quebec Disponível em: [http://animsci.agrenv.mcgill.ca/courses/450/extra/feed\\_to\\_milk](http://animsci.agrenv.mcgill.ca/courses/450/extra/feed_to_milk). (24/02/2003).
- DIAS, H.L.C. **Consumo, digestibilidade e eficiência microbiana em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- ERDMAN, R. Milk fat depression: Some new insights. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 1996, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne, 1996. p.1-16.
- ERFLE, J.D.; BOILA,R.J.; TEATHER, R.M. et al. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1457-1464, 1982.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Agricultural Production. 2003. Disponível em: <http://apps.fao.org/page/collections>. (15/01/2003).
- FORREST, W.W.; WALKER, D. The generation and utilization of energy during growth. **Advances in Microbial Physiology**, v.5, p.213-274, 1971.
- GHISALBERTI, E.L. Propolis: A review. **Bee World**, v.60, p.59-84, 1979.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W. E FONTANELI, R.S. (Ed.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre, 2001. p.5-22.
- GOULART, C.S. **Estudos preliminares sobre atividade in vitro do extrato etanólico de própolis (EEP) no combate a bactérias isoladas de processos infecciosos de animais.** Salvador: Universidade Federal da Bahia, 1995. 18p. Monografia - Escola de Medicina Veterinária/Universidade Federal da Bahia, 1995.
- GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; MCGUIRE, M.A. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1251-1261, 1998.
- GRIINARI, J.M.; NURMELA, K.; DWYER, D.A. et al. Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. **Journal of Animal Science**, v.77 (Suppl.1), p.117-118 (Abstr.), 1999.

- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. HOBSON (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**. Elsevier Applied Science Publishers, London, 1998. p.382-426.
- HINO, T.; RUSSELL, J.B. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v.64, n.1, p.261-270, 1987.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- HURLEY, W.L. Lactation Biology: Milk fat synthesis. 2002. Department of Animal Sciences. College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences. University of Illinois, Urbana – Champaign. Disponível em: <http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/fatsynthesis.html>. (17/02/2003).
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal. 2002. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. (20/01/2003).
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3851-3863, 1995.
- KARGES, K.K.; KLOPFENSTEIN, T.J.; WILKERSON, V.A. et al. Effects of ruminally degradable and escape protein supplements on steers grazing summer native range. **Journal of Animal Science**, v.70, n.6, p.1957-1964, 1992.
- KELLY, M.L.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid: A potent anticarcinogen found in milk fat. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference**. Ithaca, N.Y., 1996. p.68-74.
- KEPLER, C.R.; HIRONS, K.P.; MCNEILL, J.J. et al. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **The Journal of Biological Chemistry**, v.241, p.1350-1354, 1966.
- LANA, R.P. Microbiologia aplicada à produção de ruminantes. In: CONGRESSO NACIONAL DOS ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, 1998. Viçosa. **Anais...** Viçosa: CONEZ, 1998. p.125-138.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **Journal of Animal Science**, v.76, n.8, p.2190-2196, 1998.
- LAVEZZO, O.E.N.M. 1986. **Influência de métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1986. 167p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo, 1986.
- LEAT, W.M.F.; KEMP, P.; LYSONS, R.J. et al. Fatty acid composition of depot fats from gnotobiotic lambs. **Journal of Agricultural Science**, v.88, p.175-179, 1977.
- LIN, H.; BOYLSTON, T.D.; CHANG, M.J. et al. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.11, p.2358-2365, 1995.
- MAENG, W.J.; VAN NEVEL, C.J.; BALDWIN, R.L. et al. Rumen microbial growth rates and yields: Effect of amino acids and protein. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.1, p.68-79, 1976.

- MARCUCCI, M.C.; WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. 1998. **Mensagem Doce**, v.46. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/46/artigo.htm>. (07/02/2003).
- MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F. et al. **Nutrição Animal**. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 726p.
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6, 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 1989. p.11-25.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Ago./Out. 1998, v.18, n.3, p.313-318. ISSN 0101-2061.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. 2000. **Mensagem Doce**, v.58. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/58/artigo.htm>. (07/02/2003).
- PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid: An anticarcinogenic fatty acid present in milk. **Australian Dairy Technology**, v.49, p.93-97, 1994.
- PARODI, P.W. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agent. **The Journal of Nutrition**, v.127, p.1055-1060, 1997.
- PINTO, M.S.; FARIA, J.E.; MESSAGE, D. et al. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.6, p.278-283, 2001.
- PITT, R.E.; PELL, A.N. Modeling ruminal pH fluctuations: Interactions between meal frequency and digestion rate. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.10, p.2429-2441, 1997.
- POPPI, D.P.; MCLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, n.1, p.278-290, 1995.
- PRATA, L.F.; RIBEIRO, A.C.; REZENDE, K.T. et al. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Out./Dez., 1998, v.18, n.4, p.428-432. ISSN 0101-2061.
- RIBEIRO, S.D.A. **Caprinocultura: Criação Racional de Caprinos**. São Paulo: Nobel (Ed.), 1998. 318p.
- RUSSELL, J.B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: A spiraling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1712-1721, 1985.
- RUSSELL, J.B.; MARTIN, S.A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1329-1338, 1984.
- RUSSELL, J.B.; SHARP, W.M.; BALDWIN, R.L. The effect of pH on maximum bacterial growth rate and its possible role as a determinant of bacterial competition in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.48, n.2, p.251-255, 1979.

- RUSSELL, J.B.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.4, p.763-775, 1983.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G.J. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, n.4, p.872-877, 1988.
- SANTOS, F.L. **Efeito da suplementação de lipídios na ração para produção de ácido linoléico conjugado (CLA) em leite de vacas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, n.43, n.4, p.910-929, 1976.
- STRADIOTTI Jr., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre microrganismos ruminantes desaminadores de aminoácidos e sobre alguns parâmetros de fermentação no rúmen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001.
- STRADIOTTI Jr., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação de extrato de própolis sobre a fermentação in vitro de diferentes alimentos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: technoMEDIA, 2002. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VARGAS, L.H. **Influência de Lipídios, Monensina e Níveis de Concentrado sobre a Fermentação Ruminal e Desempenho de Bovinos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- VARGAS, A.C.; POCAI, E.A.; FONTANA, F.Z. et al. Dados parciais do teste in vitro da atividade antibacteriana da própolis. In: CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, 1 & CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 12, 1994, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Veterinária do Rio Grande do Sul, 1994. 160p.
- WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v.37, p.99-105, 1998.
- YANG, C.-M.J.; RUSSELL, J.B. Effect of monensin on the specific activity of ammonia production by ruminal bacteria and disappearance of amino nitrogen from the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, n.10, p.3250-3254, 1993.

## **Capítulo 01 – Óleo de Soja e Própolis na Alimentação de Cabras Leiteiras:**

### **Consumo de Matéria Seca e de Nutrientes e Parâmetros de Fermentação Ruminal**

**RESUMO** – O objetivo deste ensaio foi verificar os efeitos da adição de níveis crescentes de óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes e alguns parâmetros de fermentação ruminal, como pH, amônia (NH<sub>3</sub>), ácidos graxos voláteis (AGV) e atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal. Foram utilizadas seis cabras Alpinas fistuladas no rúmen, em seis períodos experimentais. As dietas foram compostas de 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja. Os animais foram submetidos aos tratamentos controle, seguido de cinco níveis crescentes de óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída. Não houve efeito de tratamento sobre as variáveis relacionadas ao consumo, exceto pelo aumento do consumo de extrato etéreo no tratamento contendo óleo de soja. Contudo, houve tendências de diminuição da concentração de butirato nos tratamentos contendo própolis bruta moída e óleo de soja e de redução da relação acetato:propionato nos tratamentos contendo extrato etanólico de própolis e óleo de soja.

Palavras-chave: ácidos graxos voláteis, amônia, consumo, óleo de soja, pH, própolis

## **Chapter 1 - Soybean Oil and Propolis in the Diets of Dairy Goats: Dry Matter and Nutrients Intake and Ruminal Parameters**

**ABSTRACT** - The objective of this assay was verify the effects of the addition of growing levels of soybean oil, ethanolic extract of propolis and grinded crude propolis in the diets of dairy goats on dry matter and nutrients intake and some ruminal parameters, such as pH, ammonia (NH<sub>3</sub>), volatile fatty acids (VFA) and specific activity of ammonia production (SAAP) by the ruminal microbiota. Six ruminal fistulated Alpine female goats were used in six experimental periods. The diets contained 67% corn silage and 33% concentrate based on corn and soybean meal. The animals were submitted to control treatment, and five increasing levels of soybean oil, ethanolic extract of propolis and grinded crude propolis. There was no treatment effect on the intake variables, except by increasing on Ethereal extract intake in the treatment containing soybean oil. However, there were trends for decrease in butyrate in the treatments with grinded crude propolis and soybean oil and decrease in acetate:propionate ratio in the treatments with ethanolic extract of propolis and soybean oil.

Key Words: ammonia, intake, pH, propolis, soybean oil, volatile fatty acids

## 1. Introdução

O rúmen, embora seja um órgão bem tamponado por bicarbonatos e fosfatos advindos da saliva e de proteínas e ácidos graxos voláteis produzidos *in loco*, pode ter seu pH alterado em valores que variam de 7,0 até valores menores do que 5,0, dependendo das diferentes dietas fornecidas ao animal (Russell & Hino, 1985). Em dietas com altas quantidades de concentrado, normalmente ocorre uma redução da digestão da fibra em consequência do abaixamento do pH no rúmen, reduzindo a eficiência de utilização dessa fonte de energia (Hoover, 1986; Lana et al., 1998).

A digestão da celulose pode ser severamente inibida, mesmo quando ocorre pequeno declínio no pH ruminal (Russell & Wilson, 1996). Segundo Russell & Dombrowski (1980), o crescimento das principais bactérias celulolíticas é comprometido em pH em torno de 6,0 e 6,1 e totalmente inibido em valores abaixo de 5,9, mesmo após a realização de adaptação para pH baixo. Muitas bactérias ruminais, que não são celulolíticas, podem apresentar menor sensibilidade a baixos valores de pH em relação às bactérias celulolíticas, mas pouco se sabe como o pH age inibindo estas bactérias.

Segundo Hobson et al. e Wolin, citados por Barbosa (2000), estudos entre pH e concentrações de ácidos graxos voláteis já foram realizados e mostraram que a limitação do crescimento pela acidez ( $\text{pH} \leq 5,1$ ) pode ser explicada pela presença de níveis relativamente altos de ácidos graxos voláteis no meio, que, na sua forma não dissociada, são tóxicos para as bactérias.

A amônia ruminal advém de nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal.

Já a sua remoção é realizada via incorporação em proteína microbiana, pela passagem ao trato posterior ou por absorção ruminal (Van Soest, 1994).

Van Nevel & Demeyer (1988) observaram a redução da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal em animais que receberam óleo na dieta. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao efeito sobre a defaunação e, ou pela redução na população de bactérias desaminadoras. Estes resultados foram confirmados por Lana & Russell (1996), ao verificar que o óleo de milho, similarmente aos ionóforos monensina e lasalocida, aumentou a resistência das bactérias ruminais a perda do potássio intracelular, quando as bactérias foram submetidas a níveis crescentes de ionóforos *in vitro*.

Lipídios insaturados inibem as bactérias ruminais gram-positivas e estimulam aquelas produtoras de propionato, causando decréscimo na relação acetato:propionato e na produção de metano (Richardson et al., 1984; Chalupa et al., 1986). O aumento da proporção molar de propionato é devido ao aumento da produção, com concomitante redução da produção de acetato e butirato (Van Nevel & Demeyer, 1988).

Christensen et al. (1994) não observaram efeito da adição de óleo de milho e sebo bovino em dietas sobre o pH ruminal, mas as concentrações de amônia foram reduzidas e as de isovalerato tenderam a reduzir. Vargas (2001) verificou aumento do pH pela fonte de lipídio, especialmente grão de soja, e tendência à redução na produção de amônia e isovalerato, e concluiu que o aumento do pH foi provavelmente devido à queda no consumo de matéria seca e à menor fermentação ruminal, que proporciona menor acúmulo de ácidos graxos voláteis, principal fator de redução do pH.

De acordo com Park et al. (1998), a própolis é uma resina de coloração e consistência variada, coletada por abelhas em diversas partes das plantas. Seus efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que a compõem. A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas

como gram-positivas (Park et al., 2000). Foi constatada, recentemente, a inibição do crescimento de bactérias gram-positivas, responsáveis pela incidência de mastite em bovinos leiteiros (Pinto, 2001); entretanto, não há relatos da aplicabilidade da própolis como aditivo nutricional para ruminantes e de seus efeitos sobre a microbiota ruminal.

Este ensaio visou avaliar os efeitos da adição de níveis crescentes de óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal, bem como o nível ótimo dos aditivos testados.

## **2. Material e Métodos**

O ensaio foi realizado no Setor de Caprinocultura e as análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal, ambos do Departamento de Zootecnia. As análises de amônia ( $\text{NH}_3$ ) ruminal e atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal foram realizadas no Laboratório de Anaeróbios do Departamento de Microbiologia e as de ácidos graxos voláteis (AGV) no líquido ruminal foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química, todos da Universidade Federal de Viçosa – MG.

A cidade de Viçosa localiza-se na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, a  $20^{\circ}45'$  de Latitude Sul e  $42^{\circ}51'$  de Longitude Oeste e a altitude de 649 m. O clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical. A precipitação pluviométrica anual média é de 1.342 mm, sendo que 80% das chuvas ocorrem entre os meses de outubro a março, período chuvoso, e os 20% restantes entre os meses de abril a setembro, período seco. A

temperatura média das máximas é de 26,1°C e das mínimas de 14°C, com umidade relativa do ar de 80%.

Foram utilizadas seis cabras multíparas, fistuladas no rúmen e com peso vivo médio de 70 kg. Os animais receberam a mesma dieta durante os seis períodos experimentais, composta de 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja (Tabela 1). A composição bromatológica da silagem de milho, do concentrado e da dieta total encontra-se na Tabela 2.

Os tratamentos se diferenciaram pela adição de níveis crescentes de óleo de soja (0; 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5% da dieta fornecida em %MS), extrato etanólico de própolis (0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 12,0 mL/animal/dia) e própolis bruta moída (0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 g/animal/dia), conforme apresentado na Tabela 3. A extração da própolis foi feita de acordo com a técnica descrita por Stradiotti Jr. et al. (2001), utilizando-se 50% p/v de própolis bruta moída em solução alcoólica a 70% em água, por um período de dez dias, seguido de filtração em papel de filtro.

O ensaio consistiu de seis dias de adaptação para cada nível de óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída e um dia de coleta de líquido ruminal e de amostras de volumoso e concentrado fornecidos, totalizando 42 dias, em seis períodos experimentais.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes (%MS) usados nos três tratamentos

Alimento	Proporção dos ingredientes (%MS)
Silagem de milho	67,2
Fubá de milho	15,5
Farelo de soja	12,4
Farelo de trigo	1,64
Farelo de algodão	1,64
Uréia + sulfato de NH <sub>3</sub>	0,33
Núcleo mineral	1,31
NDT <sup>1</sup>	69,32
PB <sup>1</sup>	15,11
EE <sup>1</sup>	2,76

<sup>1</sup>Valores calculados com base no banco de dados de composição de alimentos do Sistema Viçosa de Formulação de Rações (Lana, 2000); NDT = nutrientes digestíveis totais; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo.

Tabela 2 – Composição bromatológica (%MS) da silagem de milho, do concentrado e da dieta total

Item	Silagem de milho	Concentrado	Dieta total
Matéria seca	28,09	87,17	47,58
Matéria orgânica	94,27	91,87	93,47
Proteína bruta	3,98	17,62	8,48
Extrato etéreo	1,24	0,24	0,91
Fibra em detergente neutro <sup>1</sup>	45,81	0,95	31,01
Carboidratos não-fibrosos	43,24	73,06	53,08

<sup>1</sup>Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

Tabela 3 – Níveis utilizados de cada aditivo nutricional, de acordo com os tratamentos e períodos experimentais

Período	Tratamento		
	Óleo de soja (% da MS)	Extrato etanólico de própolis (mL/animal/dia) <sup>1</sup>	Própolis bruta moída (g/animal/dia)
1 <sup>2</sup>	0	0	0
2	1,5	1,0	0,5
3	3,0	2,0	1,0
4	4,5	4,0	2,0
5	6,0	8,0	4,0
6	7,5	12,0	6,0

<sup>1</sup>Utilizou-se 50% p/v de própolis bruta moída em solução alcoólica a 70% em água, por um período de dez dias, seguido de filtragem em papel de filtro;

<sup>2</sup>Período 1 = Controle.

Os animais foram vermifugados e pesados antes de iniciar o experimento e colocados em baias individuais de digestibilidade, providas de bebedouros automáticos e comedouros. As dietas foram fornecidas *ad libitum*, de maneira que houvesse pelo menos 5% de sobras. Os animais foram alimentados individualmente às 8, 12 e 16 horas e receberam o concentrado juntamente com o volumoso. Nos períodos de adaptação e de coletas, foram feitas pesagens da silagem e do concentrado oferecidos e das sobras.

As sobras de cada animal foram amostradas todos os dias, delas foram construídas amostras compostas referentes a cada período experimental para determinações do teor de matéria seca (MS) a 105°C, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), utilizando as técnicas descritas por Silva (1998), e fibra em detergente neutro (FDNcp), segundo Van Soest et al. (1991), assim como para determinações do volumoso e do concentrado fornecidos.

Para a determinação do pH, concentração de amônia (NH<sub>3</sub>) e de ácidos graxos voláteis (AGV) no líquido ruminal, as amostras foram coletadas manualmente, via fístula de rúmen, e, em seguida, filtradas em gaze. Para a leitura imediata do pH no líquido ruminal, foi utilizado potenciômetro. Os tempos de coleta foram de 0, 3, 6 e 9 horas, após a alimentação da manhã.

As amostras do líquido ruminal, para análise de amônia (NH<sub>3</sub>), foram colocadas em tubos *ependorf* de 1,5 mL e centrifugadas a 5.200 x g por 10 minutos, retirando-se o sobrenadante com uma seringa até completar outro tubo *ependorf*, para posterior congelamento. A concentração de amônia foi determinada pela técnica colorimétrica descrita por Chaney & Marbach (1962).

As amostras do líquido ruminal, para análise de AGV, foram colocadas em tubos *ependorf* de 1,5 mL e centrifugadas a 13.000 x g por 20 minutos, retirando-se 500 µL

do sobrenadante e colocando-os em tubos *vial* de 2 mL, juntamente com 500 µL de ácido meta-fosfórico a 25%.

As análises dos líquidos sobrenadantes foram realizadas no cromatógrafo a gás, modelo Shimadzu GC/17A, com auto-injetor Shimadzu AOC17, que, através de um módulo de comunicação Shimadzu CBM – 101, foi acoplado a um microcomputador Pentium 100 com o *software* Class – GC10, versão 1.6.1.

Os AGVs foram separados em uma coluna Nukol™ capilar, de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm Film Thickness, Supelco, Inc., Bellefonte, PA). O detector utilizado foi o de ionização de chama (FID). O gás de arraste usado foi o nitrogênio e os gases que formam a chama foram o hidrogênio e ar sintético. Os padrões de AGV foram do *kit* de ácidos orgânicos Supelco.

Para a determinação da atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal, as amostras foram coletadas 3 horas após a alimentação da manhã, como descrito anteriormente, acondicionadas em frascos de vidro com tampa e levadas à sala de incubação. As amostras ficaram em repouso durante 40 minutos para que ocorresse decantação e separação de partículas alimentares. Foram transferidos (em duplicata) 9 mL do líquido ruminal para tubos de incubação, que foram preenchidos com CO<sub>2</sub> e vedados com rolha de borracha. No tempo zero, 1 mL de solução anaeróbica de *Trypticase* (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD) foi adicionado aos tubos (15 g/L de concentração final), sendo estes incubados a 39°C por quatro horas. Foram coletados 1,5 mL do meio imediatamente antes e após a incubação e armazenados a –15°C, para posterior mensuração de amônia pela técnica colorimétrica proposta por Chaney & Marbach (1962).

A concentração de proteína bacteriana foi determinada pela técnica colorimétrica descrita por Lowry et al. (1951). Para isso, foram centrifugados 1,5 mL do líquido

sobrenadante a 13.000 x g, por cinco minutos, seguindo-se de sucessivas ressuspensões e centrifugações do *pellet* bacteriano em solução de NaCl a 0,9% (p/v), restabelecimento do volume final com solução fisiológica para 1,5 mL e armazenamento em tubos *ependorf* a  $-15^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise.

A AEPA foi determinada medindo-se a quantidade de  $\text{NH}_3$  produzida por mg de proteína bacteriana por minuto (Lana & Russell, 1997), conforme a fórmula a seguir:

$$\frac{\mu\text{M NH}_3 \times 1.000.000}{\text{Tempo (min)}}$$

$$\text{AEPA} = \frac{\text{Proteína microbiana (mg)}, \text{ dada em nmol NH}_3/\text{mg proteína/minuto}}{\text{Tempo (min)}}$$

em que:

$\mu\text{M NH}_3$  = concentração final – inicial de amônia (mM); e

Proteína microbiana = concentração inicial (mg/L).

Foram utilizadas análises de regressão para determinar o efeito de níveis de óleo de soja e própolis sobre os parâmetros avaliados e teste de média para comparar os diferentes tratamentos. Como no primeiro período experimental os seis animais receberam apenas dieta controle, o tratamento controle consistiu da média dos valores de três animais, um de cada tratamento, em duplicata. As outras seis unidades experimentais utilizadas nas análises estatísticas consistiram da obtenção das médias, por cabra, dos parâmetros analisados (CMS, CMO, CPB, CEE, CFDN, CCNF, AGV,  $\text{NH}_3$ , pH e AEPA), provenientes dos cinco níveis dos produtos testados (OLS, EEP e PBM). As análises estatísticas foram feitas usando o procedimento GLM do MINITAB (Ryan & Joiner, 1994) ao nível de 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e Discussão

Não houve efeito de tratamento (óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída) e interação tratamento\*nível sobre o CMS, CMO, CPB, CFDN e CCNF, concentração de AGV no líquido ruminal, pH e concentração de NH<sub>3</sub> ruminais e atividade específica de produção de amônia (AEPA) pela microbiota ruminal.

Não houve efeito de tratamento sobre as variáveis relacionadas ao consumo (P>0,05), exceto pelo aumento do consumo de extrato etéreo no tratamento contendo óleo de soja (P<0,01) (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios dos consumos de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (CFDN) e de carboidratos não-fibrosos (CCNF), em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	PBM <sup>4</sup>		
CMS (kg/animal/dia)	1,30	1,23	1,38	1,32	0,308	0,99
CMS (%PV)	1,97	1,70	1,88	1,88	0,271	0,91
CMS (g/kg PV <sup>0,75</sup> )	56,30	49,59	54,94	54,45	9,055	0,95
CMO (kg/animal/dia)	1,23	1,15	1,29	1,24	0,290	0,99
CPB (kg/animal/dia)	0,118	0,11	0,122	0,115	0,026	0,99
CEE (kg/animal/dia)	0,012	0,064	0,016	0,012	0,004	0,001
CFDN (kg/animal/dia)	0,355	0,344	0,401	0,378	0,091	0,97
CCNF (kg/animal/dia)	0,743	0,688	0,764	0,730	0,166	0,99

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; PBM<sup>4</sup> = própolis bruta moída.

Os dados de consumo diário de MS apresentados neste ensaio são inferiores aos encontrados por Gonçalves et al. (2001), que variaram de 2,33 a 2,35 kg para cabras secas que receberam 20 e 40% de concentrado, respectivamente, ocorrendo de forma semelhante para os valores de consumo de FDN, que foram de 1,34 e 1,01 kg.

Na Figura 1 verifica-se que não houve efeito de tratamento, interação tratamento\*tempo, bem como nível\*tratamento\*tempo sobre o pH e sobre a

concentração de amônia ruminal. Entretanto, quando se utilizou valores médios de todos os tratamentos nos tempos 0, 3, 6 e 9 horas, observou-se aumento da concentração de amônia e diminuição do pH em função do tempo de coleta de líquido ruminal. Desta forma, não houve estabilidade das condições ruminais ao se fornecer a alimentação aos animais três vezes ao dia, nos horários de 8, 12 e 16 horas.

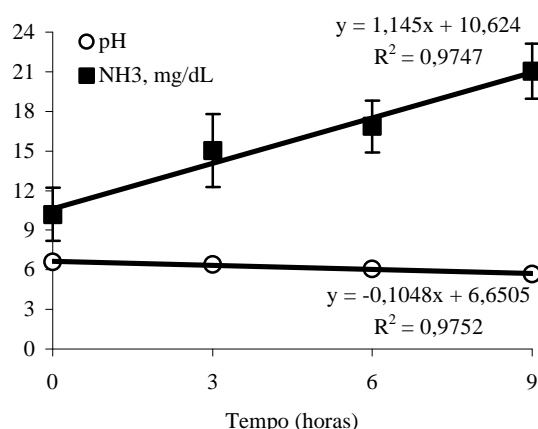


Figura 1 – Valores de pH e concentração de NH<sub>3</sub> ruminal em função dos tempos de coleta de líquido ruminal.

Os valores de pH de 6,6 a 5,6, no decorrer de nove horas após a alimentação, para animais que receberam 33% de concentrado, foram inferiores aos encontrados por Gonçalves et al. (2001) que, em experimento com cabras leiteiras recebendo dietas compostas por diferentes relações volumoso:concentrado, observaram valores de pH variando de 6,5 a 6,9 ao longo de 24 horas, para os animais que receberam 40 e 20% de concentrado, respectivamente.

Lavezzo et al. (1998) encontraram pH médio de 6,69 e concentração média de amônia de 7,02 mg/dL de fluido ruminal de ovinos alimentados com silagem de milho. O valor de pH foi superior ao valor médio observado neste experimento (6,2) e a concentração de amônia correspondeu à metade (15,77 mg/dL), o que sugere rápida degradação da silagem de milho e do concentrado fornecidos, provavelmente devido à

rápida velocidade de degradação das frações protéica e fibrosa dos alimentos em questão.

Lavezzo (1986) afirma que a absorção de amônia do rúmen varia de acordo com o pH, sendo rápida em pH acima de 7,5 e muito lenta abaixo de 6,7 e que quando há N-NH<sub>3</sub> disponível no rúmen, é preciso haver uma produção de energia suficiente para garantir uma máxima taxa de fermentação ruminal.

Pode-se verificar, na Tabela 5, tendências de redução da concentração de butirato no líquido ruminal dos animais que receberam óleo de soja e própolis bruta moída e de redução da relação acetato:propionato nos tratamentos com óleo de soja e extrato de própolis.

Tabela 5 – Parâmetros de fermentação ruminal em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	PBM <sup>4</sup>		
pH	6,29	6,30	6,11	6,03	0,10	0,28
NH <sub>3</sub> (mg/dL)	10,06	7,83	8,59	10,95	2,77	0,69
AEPA <sup>5</sup>	28,00	32,31	36,17	30,25	5,42	0,75
Acetato (mM)	44,06	43,17	48,06	45,36	4,50	0,88
Propionato (mM)	10,75	12,04	12,39	9,42	0,91	0,23
Butirato (mM)	5,05	2,95	4,15	3,17	0,58	0,17
AGV total (mM)	59,86	58,16	64,6	57,95	5,43	0,81
Acetato:propionato	4,32	3,65	3,84	4,85	0,29	0,14

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; PBM<sup>4</sup> = própolis bruta moída; AEPA<sup>5</sup> = atividade específica de produção de amônia, (nmol NH<sub>3</sub>/mg PM/minuto).

Van Nevel & Demeyer (1988) observaram redução da concentração de NH<sub>3</sub> ruminal em animais que receberam óleo na dieta, corroborando com os dados encontrados neste trabalho (22,17% em relação à dieta controle). Isto ocorreu, provavelmente, devido ao efeito depressor do óleo sobre os protozoários e,ou, pela redução de bactérias desaminadoras de aminoácidos.

Stradiotti Jr. et. al. (2001) verificaram que o EEP não afetou o CMS, o pH e as concentrações de amônia e de proteína microbiana no líquido de rúmen, mas, inibiu a atividade específica de produção de amônia (AEPA) pelos microrganismos ruminais. Os valores de AEPA apresentados por estes autores foram 11,65 e 8,10 nmol/mg PM/min para os tratamentos controle e extrato etanólico de própolis, respectivamente, os quais divergem dos verificados neste experimento (28,00 e 36,17 nmol/mg PM/min). Isto provavelmente pode ter ocorrido pela utilização de própolis de origens diferentes, bem como por modificações acrescentadas à metodologia de extração.

Lavezzo et al. (1998) observaram as concentrações dos AGVs nos tempos 1, 3 e 6 horas, após a alimentação de ovinos e encontraram, para ácido acético, médias de 37,05; 35,28 e 38,11 mM de fluido ruminal, respectivamente. Tais valores estão muito aquém dos observados neste ensaio. Já Ítavo et al. (2000), utilizando feno de aveia e silagem de bagaço de laranja na alimentação de ovinos, encontraram concentrações médias para acetato, propionato e butirato de 40,83; 12,77 e 5,77 mM, respectivamente; valores próximos aos apresentados nesta pesquisa.

#### 4. Conclusões

A própolis não afeta o consumo de matéria seca e de nutrientes, assim como os parâmetros de fermentação ruminal. No entanto, sugere-se realizar mais pesquisas para avaliar o efeito da própolis na fermentação ruminal, uma vez que existem trabalhos que demonstram seus efeitos antimicrobianos *in vitro* e devido às tendências de redução da concentração de butirato no líquido ruminal dos animais submetidos ao tratamento com própolis bruta moída e de redução da relação acetato:propionato para os animais que receberam extrato etanólico de própolis.

## 5. Literatura Citada

- BARBOSA, N.G.S. **Fermentação das proteínas dos alimentos por microrganismos ruminais in vivo e in vitro em função da acidez, fontes de proteína e ionóforos.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 84p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ELSER, A.E. et al. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-132, 1962.
- CHRISTENSEN, R.A.; CAMERON, M.R.; CLARK, J.H. et al. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.6, p.1618-1629, 1994.
- GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; RODRIGUES, M.T. et al. Padrão nictemeral do pH ruminal e comportamento alimentar de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes relações volumoso:concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1886-1892, 2001.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C. et al. Avaliação da silagem de bagaço de laranja com diferentes aditivos por intermédio dos parâmetros de fermentação ruminal de ovinos e contribuição energética dos ácidos graxos voláteis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1491-1497, 2000.
- LANA, R.P. **Sistema Viçosa de formulação de rações.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 60p.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, n.12, p.4499-4503, 1996.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Effect of forage quality and monensin on the ruminal fermentation of fistulated cows fed continuously at a constant intake. **Journal of Animal Science**, v.75, p.224-229, 1997.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **Journal of Animal Science**, v.76, n.8, p.2190-2196, 1998.
- LAVEZZO, O.E.N.M. 1986. **Influência de métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1986. 167p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo, 1986.

- LAVEZZO, O.E.N.M.; LAVEZZO, W.; WECHSLER, F.S. Estágio de desenvolvimento do milho. 3. Avaliação de silagens por intermédio de parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.1, p.171-178, 1998.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Ago./Out. 1998, v.18, n.3, p.313-318. ISSN 0101-2061.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. 2000. **Mensagem Doce**, v.58. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/58/artigo.htm>. (07/02/2003).
- PINTO, M.S.; FARIA, J.E.; MESSAGE, D. et al. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.6, p.278-283, 2001.
- RICHARDSON, L.F.; RAUN, A.P.; POTTER, E.L. et al. Effect of monensin on ruminal fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science**, v.58, p.194-202, 1984.
- RUSSELL, J.B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: A spiraling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1712-1721, 1985.
- RUSSELL, J.B.; WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science**, v.79, n.8, p.1503-1509, 1996.
- RUSSELL, J.B.; DOMBROWSKI, D.B. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v.39, n.3, p.604-610, 1980.
- RYAN, B.F.; JOINER, B.L. **Minitab handbook**. 3<sup>rd</sup> Ed. Belmont, CA: Duxbury Press, 1994. 448p.
- SILVA, D.J. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 165p.
- STRADIOTTI Jr., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre microrganismos ruminantes desaminadores de aminoácidos e sobre alguns parâmetros de fermentação no rúmen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**. Essex, England: Elsevier, 1988. p.387-443.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.

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

VARGAS, L.H. **Influência de Lipídios, Monensina e Níveis de Concentrado sobre a Fermentação Ruminal e Desempenho de Bovinos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.

## **Capítulo 02 – Óleo de Soja e Própolis na Alimentação de Cabras Leiteiras:**

### **Consumo e Digestibilidade de Matéria Seca e de Nutrientes, Produção e**

### **Composição do Leite e Parâmetros de Fermentação Ruminal**

**RESUMO** – O objetivo deste experimento foi verificar os efeitos da adição de óleo de soja e de extrato etanólico de própolis na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes, produção e composição do leite e alguns parâmetros de fermentação ruminal. Foram utilizadas dezesseis cabras Alpinas, sendo que quatro animais estavam fistulados no rúmen. Os animais foram alocados em quatro quadrados latinos, 4x4, em um arranjo fatorial 2x2 dos tratamentos. Foram adicionados ao concentrado 0 ou 120 g de óleo de soja e 0 ou 10 mL de extrato etanólico de própolis/animal/dia. As dietas foram isoprotéicas, com 14% de PB e compostas de 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja, diferindo entre si pela ausência ou presença de óleo de soja e extrato etanólico de própolis. O óleo de soja reduziu os consumos de matéria seca (%PV e g/kg PV<sup>0,75</sup>), de fibra em detergente neutro (FDN) e de carboidratos não-fibrosos; reduziu a digestibilidade da FDN, aumentou a digestibilidade da proteína bruta e do extrato etéreo e o teor de nutrientes digestíveis totais (NDT); diminuiu a produção e aumentou os percentuais de gordura, proteína e sólidos totais no leite; aumentou o pH e reduziu a relação acetato:propionato no líquido ruminal. Houve interação entre óleo de soja e extrato etanólico de própolis sobre os consumos de MS (kg/animal/dia), MO, PB, EE, FDN e CNF, em que o extrato etanólico de própolis aumentou os consumos para os animais submetidos ao tratamento sem óleo de soja e reduziu os consumos quando o óleo de soja estava presente na dieta. Houve, ainda, tendências de redução do percentual de acetato e da relação acetato:propionato pelo uso de extrato etanólico de própolis.

Palavras-chave: composição do leite, consumo, digestibilidade, extrato etanólico de própolis, óleo de soja, produção de leite

## **Chapter 2 – Soybean Oil and Propolis in the Diets of Dairy Goats: Dry Matter and Nutrients Intake and Digestibility, Milk Production and Composition and Ruminal Parameters**

**ABSTRACT** – The objective of this experiment was to verify the effects of soybean oil and ethanolic extract of propolis in the diets of dairy goats on intake and on digestibility of nutrients, milk production and composition and some ruminal parameters. Sixteen Alpine female goats were used, in which four animals were fistulated in the rumen. The animals were allocated in four 4x4 Latin squares, in a 2x2 factorial arrangement of treatments. It was added to the concentrate 0 or 120 g of soybean oil and 0 or 10 mL of ethanolic extract of propolis/animal/day. The diets had the same protein content, with 14% CP and contained 67% corn silage and 33% concentrate based on corn and soybean meal, differing to each other by the absence or presence of soybean oil and ethanolic extract of propolis. The soybean oil decreased the intakes of dry matter (%BW and g/kg BW<sup>0.75</sup>), neutral detergent fiber (NDF) and non fiber carbohydrates; decreased the digestibility of NDF, increased the digestibilities of crude protein and ether extract and increased the total digestible nutrients content (TDN); decreased the production and increased the percentual contents of fat, protein and total solids in the milk; increased the pH and decreased the acetate:propionate ratio in the ruminal fluid. There was interaction between soybean oil and ethanolic extract of propolis on the intakes (kg/animal/day) of DM, OM, CP, EE, NDF and NFC, in which the ethanolic extract of propolis increased the intakes in the animals submitted to the treatment without soybean oil and decreased the intakes when the soybean oil was present in the diet. There was, in addition, trends for reduction of the percentual of acetate and the acetate:propionate ratio by using the ethanolic extract of propolis.

**Key Words:** composition of the milk, digestibility, ethanolic extract of propolis, intake, milk production, soybean oil

## 1. Introdução

O rúmen fornece ambiente adequado para a existência de microrganismos, pois possui temperatura entre 39 e 40°C, anaerobiose, constante fluxo de alimentos e pH entre 5,5 e 7,0. Isto permite aos microrganismos realizarem a fermentação dos alimentos ingeridos pelo animal, suprindo o hospedeiro com diversos produtos finais advindos dessa fermentação, favorecendo, portanto, uma relação simbiótica.

A amônia ruminal advém de nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal. Sua remoção é realizada via incorporação em proteína microbiana, passagem ao trato posterior ou por absorção ruminal (Van Soest, 1994).

Para que ocorra máxima digestão da matéria seca no rúmen, é necessário uma concentração de 5 mg/dL de nitrogênio na forma de amônia (NRC, 1996). Porém, Leng (1990) indica, para as regiões tropicais, concentrações superiores a 10 mg/dL, para maximização da digestão ruminal da matéria seca e superiores a 20 mg/dL, para maximização do consumo. Segundo Russell et al. (1992), a produção e absorção excessivas de amônia aumentam a excreção de N pela urina e o custo energético de produção de uréia.

Quase todos os ácidos graxos insaturados de plantas apresentam configuração *cis* entre os átomos de carbono que possuem dupla ligação. De acordo com Church (1988), os microrganismos ruminais produzem uma variedade de isômeros do tipo *trans*, como também alteram o comprimento da cadeia, trocam as posições das duplas ligações e produzem cadeias ímpares e ramificadas de ácidos graxos. Isto evidencia o fato de que a gordura depositada e secretada pelos ruminantes é diferente da gordura fornecida através da dieta.

Lipídios têm sido utilizados para aumentar a densidade energética das dietas, uma vez que a gordura tem 2,25 vezes mais conteúdo energético que os carboidratos (Reddy et al., 1994; Simas, 1998). Alguns tipos de lipídios suplementares podem alterar a composição e as características físico-químicas do leite, como no caso daqueles com elevado teor de ácidos graxos insaturados. O teor protéico do leite pode ser reduzido quando se adicionam lipídios em dietas devido à redução da síntese microbiana, uma vez que os lipídios não são fonte de energia para o crescimento microbiano (Sniffen et al., 1992), ou pela redução da disponibilidade de aminoácidos na glândula mamária (Wu et al., 1994).

Segundo Hurley (2002), a gordura do leite é um dos componentes mais abundantes e o mais variável. Sua concentração e composição variam em função de múltiplos fatores, entre os quais destaca-se a dieta, a espécie animal, a raça e o estágio de lactação. A gordura do leite é constituída, principalmente, por triacilgliceróis (aproximadamente 98%), mas outros lipídios também estão presentes, como os diacilgliceróis (0,25 a 0,48%), monoacilgliceróis (0,02 a 0,4%), glicolipídios (0,0006%) e ácidos graxos livres (0,1 a 0,4%).

De acordo com Park et al. (1998), a própolis é uma resina de coloração e consistência variada, coletada por abelhas em diversas partes das plantas. Seus efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que a compõem. A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas como gram-positivas (Park et al., 2000). Não há relatos da aplicabilidade da própolis como aditivo nutricional para ruminantes e de seus efeitos sobre a microbiota ruminal. Se a própolis atua sobre as bactérias gram-positivas ruminais, espera-se que sua adição à ração iniba o crescimento de bactérias proteolíticas (Hino & Russell, 1987) e, conseqüentemente, a desaminação e a proteólise (Russell & Martin, 1984).

Este experimento visou avaliar os efeitos da adição de óleo de soja e extrato etanólico de própolis na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de matéria seca e de nutrientes, produção e composição do leite e parâmetros de fermentação ruminal.

## **2. Material e Métodos**

O experimento foi realizado no Setor de Caprinocultura e as análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal, ambos do Departamento de Zootecnia. As análises de amônia (NH<sub>3</sub>) ruminal foram realizadas no Laboratório de Anaeróbios do Departamento de Microbiologia e as de ácidos graxos voláteis (AGV) no líquido ruminal foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química, todos da Universidade Federal de Viçosa – MG.

A cidade de Viçosa localiza-se na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, a 20°45' de Latitude Sul e 42°51' de Longitude Oeste e a altitude de 649 m. O clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical. A precipitação pluviométrica anual média é de 1.342 mm, sendo que 80% das chuvas ocorrem entre os meses de outubro a março, período chuvoso, e os 20% restantes entre os meses de abril a setembro, período seco. A temperatura média das máximas é de 26,1°C e das mínimas de 14°C, com umidade relativa do ar de 80%.

Foram utilizadas dezesseis cabras multíparas, com peso vivo médio de 60 kg e produção média diária de 2 kg de leite, sendo quatro animais fistulados no rúmen. Os animais foram alocados em quatro quadrados latinos, 4x4, em um arranjo fatorial 2x2 dos tratamentos. Foram adicionados ao concentrado 0 ou 120 g de óleo de soja e 0 ou 10

mL de extrato etanólico de própolis/animal/dia. A extração da própolis foi feita de acordo com a técnica descrita por Stradiotti Jr. et al. (2001), utilizando-se 30% p/v de própolis bruta moída em solução alcoólica a 70% em água, por um período de dez dias, seguido de filtragem em papel de filtro.

As dietas foram isoprotéicas, diferindo entre si pela ausência ou presença de óleo de soja e extrato etanólico de própolis (Tabela 1). Os tratamentos 1 e 2 continham 2,9% de extrato etéreo e os tratamentos 3 e 4 continham 6,7%. Nos tratamentos 2 e 4 foram adicionados 10 mL de extrato etanólico de própolis. Encontra-se na Tabela 2 a composição bromatológica da silagem de milho e dos concentrados utilizados nas dietas experimentais.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes (%MS) das dietas experimentais

Alimento	Tratamento			
	1	2	3	4
Silagem de milho	67,1	67,1	67,2	67,2
Fubá de milho	22,4	22,4	17,3	17,3
Farelo de soja	9,2	9,2	10,2	10,2
Uréia + sulfato de NH <sub>3</sub>	0,66	0,66	0,66	0,66
Óleo de soja	0,00	0,00	4,00	4,00
Núcleo mineral	0,63	0,63	0,70	0,70
NDT <sup>2</sup>	70,00	70,00	74,60	74,60
PB <sup>2</sup>	14,00	14,00	14,00	14,00
EE <sup>2</sup>	2,90	2,90	6,70	6,70

<sup>1</sup>Os tratamentos 2 e 4 incluíram 10 mL de extrato etanólico de própolis/animal/dia; A extração da própolis foi feita utilizando-se 30% p/v de própolis bruta moída em solução alcoólica a 70% em água, por um período de dez dias, seguido de filtragem em papel de filtro;

<sup>2</sup>Valores calculados com base no banco de dados de composição de alimentos do Sistema Viçosa de Formulação de Rações (Lana, 2000); NDT = nutrientes digestíveis totais; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo.

Tabela 2 – Composição bromatológica (%MS) da silagem de milho e dos concentrados utilizados nas dietas experimentais

Item	Silagem de milho	Concentrado sem óleo	Concentrado com óleo
Matéria seca	24,21	85,78	86,68
Matéria orgânica	95,40	96,49	98,08
Proteína bruta	4,86	17,66	20,01
Extrato etéreo	2,04	2,21	11,57
Fibra em detergente neutro <sup>1</sup>	41,46	2,15	0,36
Carboidratos não-fibrosos	43,06	68,37	59,08

<sup>1</sup>Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

Os animais foram vermifugados e pesados antes de iniciar o experimento e colocados em baias individuais de digestibilidade, providas de bebedouros automáticos e comedouros. As dietas foram fornecidas *ad libitum*, de maneira que houvesse pelo menos 5% de sobras. Os animais foram alimentados individualmente às 8 e 16 horas, recebendo o concentrado juntamente com o volumoso, e ordenhados manualmente duas vezes ao dia, às 6 e 14 horas. Nos períodos de adaptação e de coletas, foram feitas pesagens da silagem e do concentrado oferecidos e das sobras. A digestibilidade aparente dos nutrientes de cada dieta foi determinada pelo método direto, através da diferença do total consumido pelo total eliminado nas fezes.

O experimento constou de quatro períodos experimentais de 18 dias, sendo 12 dias de adaptação à dieta e seis dias de coleta de líquido ruminal, de amostras de volumoso e concentrado fornecidos, de sobras, de fezes e de medição da produção de leite. Nos dois últimos dias de coleta foram obtidas amostras para análise da composição do leite. As amostras de leite foram coletadas antes da alimentação dos animais, acondicionadas em vasilhames esterilizados e mantidas sob refrigeração, para posterior mensuração dos seus constituintes.

As sobras e fezes de cada animal foram amostradas durante os dias de coletas; delas foram construídas amostras compostas referentes a cada período experimental,

para determinações do teor de matéria seca (MS) a 105°C, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), utilizando as técnicas descritas por Silva (1998), e fibra em detergente neutro (FDNcp), segundo Van Soest et al. (1991), assim como para determinações do volumoso e do concentrado fornecidos.

As análises de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram realizadas pelo Laboratório de Qualidade do Leite do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (Embrapa – CNPGL), em Juiz de Fora, Minas Gerais.

Para a determinação do pH, amônia (NH<sub>3</sub>) e ácidos graxos voláteis (AGV) ruminais, as amostras foram coletadas manualmente, via fístula de rúmen, e filtradas em gaze, utilizando a metodologia descrita no capítulo anterior. Os tempos de coleta foram de 0, 3 e 6 horas, após a alimentação da manhã.

Os dados do experimento foram analisados em quatro quadrados latinos, 4 x 4, em arranjo fatorial 2 x 2 dos tratamentos, onde todos os animais passaram por todos os tratamentos. Cada animal, em cada período, correspondeu a uma unidade experimental, totalizando 64 unidades experimentais. Os dados do experimento correspondentes aos parâmetros de fermentação ruminal, em que foram utilizadas cabras fistuladas no rúmen, foram analisados separadamente em um quadrado latino, 4 x 4, em arranjo fatorial 2 x 2 dos tratamentos. Todos os animais passaram por todos os tratamentos. Cada animal, em cada período, correspondeu a uma unidade experimental, totalizando 16 unidades experimentais. As análises de todas as amostras foram realizadas em duplicata.

O modelo estatístico incluiu efeitos de: tratamento, quadrado latino, animal dentro do quadrado latino e período. Os efeitos dos tratamentos foram comparados por contrastes ortogonais completos: 1. ausência vs presença de óleo de soja; 2. ausência vs presença de extrato etanólico de própolis; 3. interação óleo de soja vs extrato etanólico

de própolis. As análises estatísticas foram feitas usando o procedimento GLM do MINITAB (Ryan & Joiner, 1994) e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e Discussão

Houve redução dos CMS (%PV e g/kg PV<sup>0,75</sup>), CFDN e CCNF e aumento do CEE (P<0,05) para os animais que consumiram óleo de soja (Tabela 3). Houve interação entre óleo de soja e extrato etanólico de própolis sobre os consumos de MS (kg/animal/dia), MO, PB, EE, FDN e CNF (P<0,05), em que o extrato etanólico de própolis aumentou os consumos para os animais submetidos ao tratamento sem óleo de soja e reduziu os consumos quando o óleo de soja estava presente na dieta.

Tabela 3 – Consumos diários de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (CFDN) e de carboidratos não-fibrosos (CCNF), em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade		
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	OLS*EEP <sup>4</sup>		OLS	EEP	OLS*EEP
CMS (kg/animal)	1,34	1,37	1,51	1,28	0,060	0,101	n.s.	0,041
CMS (%PV)	2,37	2,32	2,57	2,21	0,092	0,032	n.s.	0,113
CMS (g/kg PV <sup>0,75</sup> )	65,05	64,22	70,97	60,99	2,515	0,036	n.s.	0,075
CMO (kg/animal)	1,29	1,33	1,45	1,24	0,055	0,118	n.s.	0,032
CPB (kg/animal)	0,129	0,148	0,145	0,136	0,006	n.s.	n.s.	0,033
CEE (kg/animal)	0,029	0,081	0,033	0,075	0,002	0,000	n.s.	0,054
CFDN (kg/animal)	0,345	0,333	0,390	0,314	0,014	0,004	n.s.	0,031
CCNF (kg/animal)	0,790	0,763	0,881	0,713	0,036	0,010	n.s.	0,057

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; OLS\*EEP<sup>4</sup> = óleo de soja e extrato etanólico de própolis.

Os resultados apresentados nesta pesquisa são inferiores aos encontrados por Mouro et al. (2002) que, em experimento com cabras em lactação, não verificaram efeito de diferentes fontes de óleos (canola, arroz e soja) sobre a ingestão de MS, MO, PB e FDN, sendo em média 2.016, 1.884, 407 e 633 g/animal/dia, respectivamente.

Como pode ser notado na Tabela 4, houve aumento das DIGPB e DIGEE, redução da DIGFDN e aumento dos nutrientes digestíveis totais (NDT) ( $P < 0,01$ ) para os animais que receberam óleo de soja na dieta.

Tabela 4 – Digestibilidades de matéria seca (DIGMS), matéria orgânica (DIGMO), proteína bruta (DIGPB), extrato etéreo (DIGEE), fibra em detergente neutro (DIGFDN), de carboidratos não-fibrosos (DIGCNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade		
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	OLS*EEP <sup>4</sup>		OLS	EEP	OLS*EEP
DIGMS (%)	64,2	64,9	66,2	63,9	0,970	n.s.	n.s.	0,115
DIGMO (%)	66,7	66,8	67,6	69,0	1,014	n.s.	n.s.	0,187
DIGPB (%)	67,3	71,6	67,8	70,8	0,645	0,000	n.s.	n.s.
DIGEE (%)	82,7	93,3	85,0	92,8	0,815	0,000	n.s.	0,085
DIGFDN (%)	32,3	25,3	33,6	23,0	1,606	0,000	n.s.	n.s.
DIGCNF (%)	83,0	82,8	83,1	82,1	0,668	n.s.	n.s.	n.s.
NDT (%)	61,4	64,1	62,0	63,0	0,651	0,007	n.s.	0,190

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; OLS\*EEP<sup>4</sup> = óleo de soja e extrato etanólico de própolis.

Schauff et al. (1992), em experimento com grão de soja integral e sebo bovino (2,5 e 4,0%), observaram que as digestibilidades de MS, MO, celulose, conteúdo celular e PB diminuíram quando gordura foi adicionada à dieta. Entretanto, as digestibilidades de FDA, FDN e hemicelulose não foram afetadas. Estes dados divergem dos encontrados nesta pesquisa no que se refere ao aumento e à redução das digestibilidades da PB e FDN, respectivamente.

Em trabalhos citados por Schneider & Flatt (1975), dietas contendo gorduras livres (óleos e sebos) promoviam um aumento da digestibilidade de vários nutrientes da dieta; no entanto, Palmquist (1989) e Jenkins (1995) afirmaram que quando o teor de gordura na MS foi superior a 7%, o consumo e digestibilidade, principalmente da fibra, diminuíram tanto que se tornaram inferiores aos da dieta controle, que não continha óleo, corroborando com resultados encontrados neste estudo.

Pode-se verificar, na Tabela 5, que houve diminuição da produção de leite (PL) e aumento dos percentuais de gordura, proteína e sólidos totais ( $P < 0,05$ ) nas dietas contendo óleo de soja.

Tabela 5 – Produção média diária de leite (PL) e composição do leite, em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade		
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	OLS*EEP <sup>4</sup>		OLS	EEP	OLS*EEP
PL (kg/animal)	1,68	1,62	1,80	1,53	0,087	0,059	n.s.	n.s.
PL 4% G (kg/animal)	1,52	1,65	1,61	1,61	0,094	n.s.	n.s.	n.s.
Gordura (%)	3,36	4,11	3,40	4,33	0,162	0,000	n.s.	n.s.
Proteína (%)	2,88	3,06	2,90	3,05	0,064	0,014	n.s.	n.s.
Lactose (%)	4,21	4,22	4,22	4,16	0,073	n.s.	n.s.	n.s.
Sólidos Totais (%)	11,2	12,0	11,2	12,1	0,226	0,000	n.s.	n.s.

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; OLS\*EEP<sup>4</sup> = óleo de soja e extrato etanólico de própolis.

Os resultados encontrados nesta pesquisa, quando se faz a média de todos os tratamentos para cada parâmetro analisado, são bastante semelhantes aos verificados por Prata et al. (1998) que, trabalhando com leite de conjunto produzido por três grupos distintos de cabras Saanen, determinaram os valores de proteína total, gordura, lactose e sólidos totais, os quais foram de 3,27; 3,74; 4,35; e 11,51%, respectivamente.

Segundo Palmquist (1991), a produção de leite de vacas não foi afetada pela fonte de gordura, porém essa foi mais baixa quando os animais consumiram dietas com maior teor de gordura. Estes resultados também foram semelhantes aos obtidos neste experimento, porém quando se observa a produção de leite corrigida para 4% de gordura, pode-se verificar que os animais que receberam óleo de soja na dieta tiveram maior produção do que os animais submetidos ao tratamento controle.

Sousa et al. (2002), em experimento com vacas leiteiras, verificaram maior produção de leite para os animais que receberam silagem de milho, sendo que os tratamentos à base de cana-de-açúcar, com inclusão de 7 e 14% de caroço de algodão,

foram superiores àquele com cana-de-açúcar exclusivamente. No entanto, a inclusão de caroço de algodão em ambos os níveis não aumentou o teor de gordura do leite em relação aos demais tratamentos.

Os resultados apresentados nesta pesquisa são superiores, com relação ao teor de gordura, e muito próximos, com relação ao teor de lactose, aos determinados por Eifert et al. (2002) que, em experimento com vacas em lactação, observaram redução das percentagens de gordura e lactose do leite para os animais que receberam óleo de soja na dieta, 3,13 e 4,33%, respectivamente.

Considerando-se que aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são provenientes da dieta ou do metabolismo ruminal e intestinal e que 50% são derivados do plasma sanguíneo (González, 2001), pode-se inferir, pela diferença verificada no teor de gordura entre as dietas sem óleo de soja e com óleo de soja, que a contribuição foi maior do que os 25% preconizados pelo autor.

Segundo González (2001), os ácidos graxos remanescentes são elaborados na glândula mamária a partir de alguns precursores, principalmente o acetato. Desta forma, o ácido acético proveniente da fermentação ruminal contribui efetivamente na síntese de gordura do leite. No entanto, a concentração deste ácido no líquido de rúmen dos animais que consumiram óleo de soja foi menor em relação àqueles que não receberam, levando a acreditar que, além de ter contribuído para aumentar o teor de gordura do leite, o óleo de soja pode ter alterado o perfil de ácidos graxos, proporcionando um aumento do conteúdo de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite.

Santos (1999) relatou que o uso de alguns tipos de gorduras suplementares tem aumentado a produção e a percentagem de gordura do leite, mas, ao mesmo tempo, tem diminuído a percentagem de proteína. Os resultados encontrados nesta pesquisa não conferem com o mencionado anteriormente, já que o teor de proteína do leite das cabras

alimentadas com óleo de soja foi superior aos teores observados para os demais tratamentos.

De acordo com Santos (1999), quando há substituição de carboidratos disponíveis no rúmen por lipídios, estes têm efeito tóxico sobre os microrganismos ruminais, causando redução no crescimento microbiano e efeito sobre o transporte de aminoácidos na glândula mamária, podendo acarretar a diminuição do conteúdo de proteína do leite pela deficiência de um ou mais aminoácidos.

O consumo de PB observado neste experimento foi superior para os animais que receberam óleo de soja ou extrato etanólico de própolis na dieta, porém a concentração de amônia ruminal foi inferior e a digestibilidade da PB foi superior para o tratamento com OLS. Desta forma, pode-se deduzir que a taxa de fermentação da proteína dietética foi menor, possibilitando maior escape de proteína dietética para o intestino delgado, onde foi digerida e seus constituintes absorvidos pelo lúmen intestinal, promovendo um acréscimo de aminoácidos na glândula mamária e, assim, contribuindo para o aumento da síntese de proteína no leite.

Não houve efeito de interação tratamento\*tempo sobre o pH e sobre a concentração de amônia ruminal ( $P > 0,05$ ). Para observar o efeito do tempo de coleta de líquido ruminal sobre o pH e sobre a concentração de amônia, utilizou-se valores médios dos quatro tratamentos, nos quatro períodos experimentais, nos tempos 0, 3 e 6 horas, após a alimentação da manhã (Figuras 1 e 2).

Verificou-se comportamento quadrático de tempo sobre o pH ruminal ( $Y = 7,2313 - 0,3395T + 0,0443T^2$   $R^2 = 0,48$ ) em que o pH atingiu a neutralidade, conforme registrado para o tempo zero (7,2). Observou-se que 3 horas após o fornecimento do alimento houve decréscimo do pH (6,6), elevando-se em seguida e alcançando o valor de 6,8, seis horas após a alimentação dos animais.

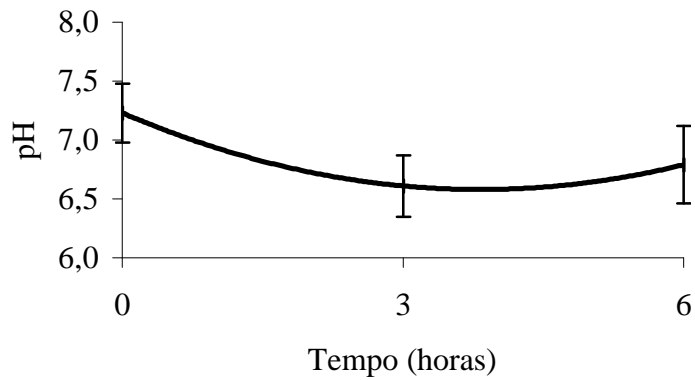


Figura 1 – Valores de pH ruminal em função dos tempos de coleta de líquido ruminal.

Embora sem efeito de tempo ( $R^2 = 0,16$ ), pode-se observar que ocorreu o inverso com a concentração de amônia no líquido ruminal coletado, pois no tempo zero a concentração de  $\text{NH}_3$  foi de 6,2 mg/dL, seguido de uma elevação no tempo 3, atingindo 7,8 mg/dL, e de uma queda seis horas após a alimentação, alcançando a concentração de 5,7 mg/dL.

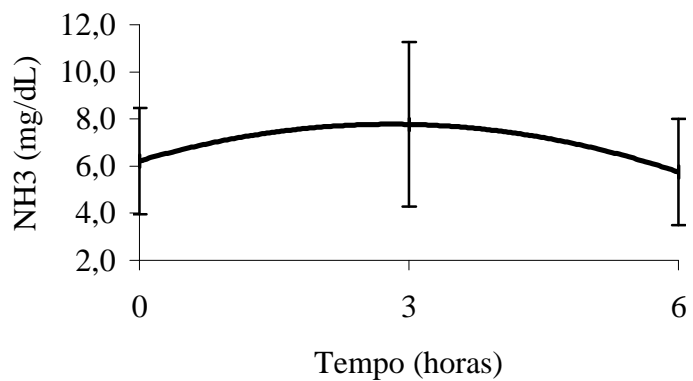


Figura 2 – Concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal em função dos tempos de coleta de líquido ruminal.

Segundo Moreira et al. (2001), a concentração de amônia ruminal foi afetada pelo tempo de amostragem, registrando-se efeito quadrático. A concentração máxima de amônia ruminal encontrada nesta pesquisa foi de 7,8 mg/dL, valor muito inferior ao estimado pelos mesmos autores (16,3 mg/dL) para o tempo 2,66 horas, após a alimentação. De acordo com o NRC (1996), para que ocorra máxima digestão da matéria seca no rúmen é necessário uma concentração de 5 mg/dL de nitrogênio na forma de amônia, desta forma, os valores encontrados neste estudo atendem a essa exigência. Porém, Leng (1990) indica, para as regiões tropicais, concentrações superiores a 10 mg/dL, para maximização da digestão ruminal da matéria seca e superiores a 20 mg/dL, para maximização do consumo.

Observa-se na Tabela 6 que houve aumento do pH, redução do percentual de acetato e da relação acetato:propionato ( $P < 0,05$ ) e aumento do percentual de propionato para os animais que consumiram óleo de soja. Pode-se verificar que houve tendências de diminuição da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal para os animais que receberam óleo de soja na dieta e de redução do percentual de acetato e da relação acetato:propionato, para aqueles que consumiram extrato etanólico de própolis.

Tabela 6 – Parâmetros de fermentação ruminal em função dos tratamentos e erro padrão da média (EP)

Parâmetro	Tratamento				EP	Probabilidade		
	CON <sup>1</sup>	OLS <sup>2</sup>	EEP <sup>3</sup>	OLS*EEP <sup>4</sup>		OLS	EEP	OLS*EEP
pH	6,74	6,97	6,66	6,92	0,084	0,028	n.s.	n.s.
$\text{NH}_3$ (mg/dL)	8,96	6,34	8,41	5,72	1,357	0,098	n.s.	n.s.
Acetato (%)	50,8	48,7	50,3	46,5	0,901	0,017	0,188	n.s.
Propionato (%)	28,4	33,3	29,9	34,1	1,327	0,013	n.s.	n.s.
Butirato (%)	20,8	18,0	19,9	19,3	1,213	n.s.	n.s.	n.s.
Acetato:Propionato	1,81	1,52	1,70	1,39	0,072	0,005	0,143	n.s.

CON<sup>1</sup> = controle; OLS<sup>2</sup> = óleo de soja; EEP<sup>3</sup> = extrato etanólico de própolis; OLS\*EEP<sup>4</sup> = óleo de soja e extrato etanólico de própolis.

Vargas (2001) verificou aumento do pH pela fonte de lipídio, especialmente grão de soja, e tendência à redução na produção de amônia, concordando com os resultados apresentados nesta pesquisa, e concluiu que o aumento do pH foi provavelmente devido à queda no consumo de matéria seca e à menor fermentação ruminal, que proporciona menor acúmulo de ácidos graxos voláteis, principal fator de redução do pH.

#### **4. Conclusões**

O extrato de própolis interfere de forma antagônica sobre os consumos de matéria seca e de nutrientes, quando adicionado a dietas sem e com óleo de soja, aumentando e diminuindo, respectivamente.

O óleo de soja reduz os consumos de matéria seca e de fibra em detergente neutro, aumenta os teores de gordura, proteína e sólidos totais no leite de cabras, aumenta o pH e reduz a relação acetato:propionato no líquido ruminal.

## 5. Literatura Citada

- CHURCH, D.C. **The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition.** Prentice Hall (Ed.), New Jersey, 1988. 564p.
- EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S. et al. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de carboidratos, associadas ou não à suplementação com óleo de soja. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: technoMEDIA, 2002. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W. E FONTANELI, R.S. (Ed.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre, 2001. p.5-22.
- HURLEY, W.L. Lactation Biology: Milk fat synthesis. 2002. Department of Animal Sciences. College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences. University of Illinois, Urbana – Champaign. Disponível em: <http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/fatsynthesis.html>. (17/02/2003).
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3851-3863, 1995.
- LANA, R.P. **Sistema Viçosa de formulação de rações.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 60p.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, v.3, n.3, p.277-303, 1990.
- MOREIRA, A.L.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R. et al. Produção de leite, consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, pH e concentração de amônia ruminal em vacas lactantes recebendo rações contendo silagem de milho e feno de alfafa e de capim-coastcross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 (Supl.1), n.3, p.1089-1098, 2001.
- MOURO, G.F.; BRANCO, A.F.; MACEDO, F.A.F. et al. Óleos vegetais em dietas de cabras Saanen em lactação: Produção e composição do leite e ingestão de nutrientes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: technoMEDIA, 2002. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle.** 7<sup>th</sup> Ed. National Academy Press, Washington, D.C., 1996. 232p.
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6, 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 1989. p.11-25.
- PALMQUIST, D.L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1354-1360, 1991.

- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Ago./Out. 1998, v.18, n.3, p.313-318. ISSN 0101-2061.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. 2000. **Mensagem Doce**, v.58. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/58/artigo.htm>. (07/02/2003).
- PRATA, L.F.; RIBEIRO, A.C.; REZENDE, K.T. et al. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Out./Dez., 1998, v.18, n.4, p.428-432. ISSN 0101-2061.
- REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.11, p.3410-3416, 1994.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- RYAN, B.F.; JOINER, B.L. **Minitab handbook**. 3<sup>rd</sup> Ed. Belmont, C.A.: Duxbury Press, 1994. 448p.
- SANTOS, F.L. **Efeito da suplementação de lipídios na ração para produção de ácido linoléico conjugado (CLA) em leite de vacas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- SCHAUFF, D.J.; ELLIOTT, J.P.; CLARK, J.H. et al. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1923-1935, 1992.
- SCHNEIDER, B.H.; FLATT, W.P. **The evaluation of feeds through digestibility experiments**. 1975. 423 p.
- SILVA, D.J. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 165p.
- SIMAS, J.M.C. Como utilizar gordura em dieta de vacas leiteiras. **Revista Balde Branco**, ano 34, n.401, p.26-30, 1998.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SOUSA, D.P.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com silagem de milho ou cana-de-açúcar parcialmente substituída por caroço de algodão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. **Anais...** Recife: technoMEDIA, 2002. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- STRADIOTTI Jr., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre microrganismos ruminantes desaminadores de aminoácidos e sobre alguns parâmetros de fermentação no rúmen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001.

- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VARGAS, L.H. **Influência de Lipídios, Monensina e Níveis de Concentrado sobre a Fermentação Ruminal e Desempenho de Bovinos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- WU, Z.; HUBER, J.T.; CHAN, S.C. et al. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.6, p.1644-1651, 1994.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Foram realizados dois experimentos na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Minas Gerais, com o objetivo de verificar os efeitos da adição de óleo de soja, extrato etanólico de própolis e própolis bruta moída na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de matéria seca e de nutrientes, produção e composição do leite e parâmetros de fermentação ruminal.

Pelos resultados obtidos, conclui-se que:

- ✓ A própolis não afeta o consumo de matéria seca e de nutrientes, assim como os parâmetros de fermentação ruminal. No entanto, há tendências de redução da concentração de butirato no líquido ruminal dos animais submetidos ao tratamento com própolis bruta moída e de redução da relação acetato:propionato para os animais recebendo extrato etanólico de própolis;
- ✓ O extrato de própolis interfere de forma antagônica sobre os consumos de matéria seca e de nutrientes, quando adicionado a dietas sem e com óleo de soja, aumentando e diminuindo, respectivamente;
- ✓ O óleo de soja reduz os consumos de matéria seca e de fibra em detergente neutro, aumenta os teores de gordura, proteína e sólidos totais no leite de cabras, aumenta o pH e reduz a relação acetato:propionato no líquido ruminal.

## **APÊNDICE**

Tabela 1 – Resumo das análises de variância dos consumos de matéria seca e de nutrientes (kg/animal/dia)

FV	GL	Quadrados Médios							
		CMS	CMS <sup>1</sup>	CMS <sup>2</sup>	CMO	CPB	CEE	CFDN	CCNF
Tratamento	3	0,007	0,026	17	0,007	0,00005	0,0012907**	0,0013	0,0021
Resíduo	4	0,192	0,147	164	0,168	0,00140	0,0000125	0,0164	0,0552

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade;

<sup>1</sup>%PV; <sup>2</sup>g/kg PV<sup>0,75</sup>.

Tabela 2 – Resumo das análises de variância dos parâmetros de fermentação ruminal

FV	GL	Quadrados Médios							
		pH	NH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	AEPA <sup>2</sup>	Acetato <sup>3</sup>	Propionato <sup>3</sup>	Butirato <sup>3</sup>	Acetato:Propionato	AGV <sup>3</sup>
Tratamento	3	0,0351	3,98	24,0	5,1	2,058	1,054	0,572	10,7
Resíduo	4	0,0189	7,86	58,7	22,8	0,932	0,380	0,171	33,1

<sup>1</sup>mg/dL; <sup>2</sup>nmol de NH<sub>3</sub>/mg PM/minuto; <sup>3</sup>mM.

Tabela 3 – Resumo das análises de variância dos consumos de matéria seca e de nutrientes (kg/animal/dia) e do peso vivo animal (kg)

FV	GL	Quadrados Médios							
		CMS	CMS <sup>1</sup>	CMS <sup>2</sup>	CMO	CPB	CEE	CFDN	CCNF
OLS	1	0,16221	0,6604*	467,4*	0,12426	0,0004358	0,0360525*	0,030932*	0,15016**
EEP	1	0,02009	0,0312	28,8	0,01829	0,0000581	0,0000238	0,002665	0,00664
OLS*EEP	1	0,25629*	0,3521	334,8	0,23937*	0,0031500*	0,0003754*	0,016738*	0,07995*
Animal/QL	3	0,19817*	0,4311*	346,5*	0,22841**	0,0021681*	0,0003168*	0,013802**	0,09183**
Período	3	0,23340**	0,4605*	385,3*	0,30281**	0,0021423*	0,0004451**	0,025301**	0,11115**
QL	3	0,12260	0,2822	222,7	0,11070	0,0013553	0,0002131	0,008333	0,03716
Resíduo	51	0,05818	0,1351	101,2	0,04905	0,0006569	0,0000969	0,003395	0,02103

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade;

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade;

<sup>1</sup>%PV; <sup>2</sup>g/kg PV<sup>0,75</sup>.

Tabela 4 – Resumo das análises de variância das digestibilidades dos nutrientes (%) e dos nutrientes digestíveis totais (%)

FV	GL	Quadrados Médios							NDT
		DIGMS	DIGMO	DIGPB	DIGEE	DIGFDN	DIGCNF		
OLS	1	10,10	26,15	204,404**	1345,24**	1237,21**	4,702	53,268**	
EEP	1	4,19	2,91	0,291	11,38	3,44	1,584	1,078	
OLS*EEP	1	38,67	29,46	6,524	32,79	52,88	2,811	11,935	
Animal/QL	3	19,78	9,60	2,399	11,20	32,10	5,118	0,251	
Período	3	287,10**	327,57**	42,656**	110,59**	255,86**	286,944**	301,311**	
QL	3	72,83**	70,17**	37,707**	25,70	304,25**	21,012*	65,267**	
Resíduo	51	15,07	16,47	6,655	10,63	41,26	7,133	6,774	

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade;

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 5 – Resumo das análises de variância da produção de leite (kg/animal/dia) e das análises físico-químicas do leite (%)

FV	GL	Quadrados Médios					
		PL	PL 4% G	Gordura	Proteína	Lactose	Sólidos Totais
OLS	1	0,4533*	0,0719	11,2552**	0,42169**	0,01063	11,4244**
EEP	1	0,0024	0,0082	0,2866	0,00038	0,01516	0,0588
OLS*EEP	1	0,1830	0,0767	0,1390	0,00368	0,02084	0,0293
Animal/QL	3	0,7572**	0,5310*	0,5726	0,28978**	0,62356**	0,5167
Período	3	1,0576**	1,0034**	0,0552	0,09553	0,06235	2,8564*
QL	3	0,8178**	0,4520*	0,7703	0,26822**	0,74558**	2,7295*
Resíduo	51	0,1211	0,1416	0,4226	0,06547	0,08532	0,8200

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade;

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6 – Resumo das análises de variância dos parâmetros de fermentação ruminal

FV	GL	Quadrados Médios					
		pH	NH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	Acetato <sup>2</sup>	Propionato <sup>2</sup>	Butirato <sup>2</sup>	Acetato:Propionato
OLS	1	0,23498*	28,313	34,477**	84,760**	11,122	0,37271**
EEP	1	0,01531	1,358	7,173	5,459	0,117	0,05856
OLS*EEP	1	0,00150	0,005	2,414	0,445	4,933	0,00046
Animal/QL	3	0,06464	1,980	10,799	20,672	2,624	0,08034
Período	3	0,09077	26,108	25,668**	9,805	6,856	0,09010*
Resíduo	6	0,02828	7,365	3,248	7,044	5,885	0,02061

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade;

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade;

<sup>1</sup>mg/dL; <sup>2</sup>%.