

EDUARDO DA COSTA EIFERT

FONTES DE CARBOIDRATOS, ÓLEO DE SOJA E MONENSINA PARA VACAS  
LACTANTES: DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS RUMINAIS  
E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

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

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

2004

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

E34f  
2004

Eifert, Eduardo da Costa, 1969-

Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite / Eduardo da Costa Eifert. – Viçosa : UFV, 2004.

117p. : il.

Orientador: Rogério de Paula Lana

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa

1. Bovino de leite - Nutrição. 2. Lipídios na nutrição de bovino de leite. 3. Ionóforos. 4. Rúmen - Fermentação. 5. Leite - Produção. 6. Leite - Composição. 7. Leite - Ácidos graxos. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 20.ed. 636.20852

EDUARDO DA COSTA EIFERT

FONTES DE CARBOIDRATOS, ÓLEO DE SOJA E MONENSINA PARA VACAS  
LACTANTES: DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS RUMINAIS  
E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2004

---

Prof. Maria Ignez Leão  
(Conselheira)

---

Pesq. Pedro Braga Arcuri  
(Conselheiro)

---

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho

---

Prof. Dante Pazzanese Duarte Lanna

---

Prof. Rogério de Paula Lana  
(Orientador)

*À Deus, pela sua graça*

*Ao meu avô, Edvino Eifert e João Silveira da Costa (in memoriam)*

*Às minhas avós, Olga Eifert (in memoriam) e Noeli Silveira da Costa*

*Aos meus pais, Kuniberto e Berenice*

*Aos meus irmãos, André e Michele*

À minha família, pelos exemplos, dedicação, caráter, valores e confiança.

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por dar-me força, luz e proteção em toda a minha vida.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro para a execução deste projeto e pela bolsa de estudos concedida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, por permitir a realização do Curso de Doutorado.

Ao Professor Dr. Rogério de Paula Lana, pela acolhida, disposição e pela liberdade concedida no direcionamento do projeto de pesquisa.

À Professora Maria Ignez Leão, pela disponibilidade, confiança, ensinamentos, amizade e apoio, e a rica bênção de sua convivência, além dos excelentes doces de figo.

Ao Dr. Pedro Braga Arcuri, pela atenção, aconselhamentos e sua contribuição na execução de parte deste trabalho na EMBRAPA Gado de Leite.

Ao Professor Dante Pazzanese Duarte Lanna, pelo profissionalismo, estímulo, sugestões, críticas e fundamental contribuição na análise dos ácidos graxos.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pela disponibilidade, atenção, pelas críticas e soluções no decorrer deste trabalho.

Aos professores Rilene Diniz Valadares, José Maurício de Souza Campos, Marcelo Teixeira Rodrigues, Mário Fonseca Paulino, Odilon Gomes Pereira, Augusto César de Queiroz, José Carlos Pereira, pela colaboração, apoio e amizade.

À Embrapa Gado de Leite, nas pessoas dos Drs. Duarte Vilela e José Henrique Bruschi, pelos esforços, preocupações e apoio na obtenção dos dados para a tese neste Centro de Pesquisa.

Ao amigo Marco Aurélio Bomfim e sua família, Érica e Júlia, pelo apoio, paciência, piadas, churrascos, cervejas e uma infundável discussão dos “pathways” da pectina, às “tempestades cerebrais” dos ácidos graxos e o passado, presente e futuro da nutrição de ruminantes. Certamente, o agradecimento é pela sincera amizade.

Ao “seu Jojó”, Joélcio de Paula Fialho, Mirinha e os guris, pela amizade, hospitalidade e à gratidão do convívio junto a vocês.

Aos colegas da primeira república, Alan Maia Borges, Domingos Sávio Paciullo, Sérgio Carvalho e Alex Carvalho de Andrade, pelo convívio, pelas discussões técnicas na sinuca e pelos segredos do Tomb Raider.

Aos amigos da segunda república, Aderbal, Aderlan, Brainer, Marcus, pelos churrascos na sacada e os cafezinhos de madrugada.

Aos colegas Webel Leopoldino, Chico e Luciana Rennó, Deolindo Stradiotti Júnior, Antônio Faciola, Silas Primola Gomes, Marcos Antônio Bomfim, Rennê Galvão, Luciano Cabral, Edenio Detmann, às cabritas Márcia, Carla e Renata, Elisio Carioco Cazé, Mário Xixizotti, Jeferson Passarinho, Vicente Júnior, Anselmo, Joanis “Joeinis” Zervoudakis, Acyr, Maíra Camardelli, Juliana Oliveira, à dupla Moniquinha e Polianinha, e à gauchada, Jailson (Ratinho), Renius, Alfredo Backes, Cláudio Mistura, Luciane Sala e Gelson, e a outros tantos que a memória falha, pela amizade e convivência ao longo do curso.

Ao “trio parada dura”, Salete, Kênia Marcelino e Polly Almeida, pela agradável convivência, pensamento positivo e a sincera amizade, guardadas no fundo do peito.

Aos futuros colegas, os estagiários Ivan Carneiro, Maria Rita Cotta e Cláudia Batista Sampaio, meu agradecimento e votos de futuro brilhante.

Aos funcionários da EMBRAPA Gado de Leite, em especial aos funcionários do retiro da Genizinha, seu Hélio, Miguel, Serapião, Tião Rombudo, Chiquinho e Coutinho. Também ao Del, Zé Luiz e Hernani.

Aos colegas de convivência nos alojamentos da EMBRAPA, em especial, à Eleuza, Eduardo Henrique Pimpim, Leandro Goiano Barbieri e seu cachorro Piloto.

Aos funcionários do Setor de Bovinos de Leite da UFV, em especial ao João Batista, Paulinho, Zinho, Gaguinho, pela contribuição no primeiro experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Monteiro, Vera, Welington, Valdir e Fernando, pela colaboração nas análises laboratoriais.

Ao Seu Jorge, por secretamente permitir o acesso ao Laboratório de Nutrição Animal para mais uma noite de serão.

Aos funcionários de Departamento de Zootecnia Celeste, Dona Márcia, Cláudio Paulon, Venâncio, Mário, Adilson e Rosana, pela colaboração.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

EDUARDO DA COSTA EIFERT, filho de Kuniberto Dieter Eifert e de Berenice da Costa Eifert, nasceu em Carazinho, Rio Grande do Sul, em 15 de janeiro de 1969.

Ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal de Santa Maria – RS, onde obteve o título de Engenheiro Agrônomo em janeiro de 1994. Realizou estágio curricular na empresa FMC do Brasil, Industria e Comércio Ltda., do ramo agroquímico, e prestou serviços à esta empresa até 1996. Trabalhou como autônomo até 1997, quando realizou o Curso de Aperfeiçoamento em Bovinocultura de Corte na Universidade Federal de Santa Maria.

Ingressou no Curso Pós-graduação em Zootecnia em 1998 e obteve o título de *Master Science* em Zootecnia, na área de concentração em Bovinocultura de Corte, em janeiro de 2000. Neste mesmo ano, ingressou no programa de Doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa. Obteve o título do *Doctor Science* em fevereiro de 2004.

## CONTEÚDO

	Página
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	8
<b>Efeito da combinação de óleo de soja e de monensina sobre o consumo e digestão de vacas lactantes.....</b>	<b>10</b>
Resumo .....	10
Introdução .....	11
Material e Métodos .....	13
Resultados .....	18
Discussão .....	25
Conclusões .....	31
Literatura Citada .....	33
<b>Efeito da combinação de óleo de soja e de monensina na dieta sobre a produção e composição do leite de vacas lactantes.....</b>	<b>36</b>
Resumo .....	36
Introdução .....	37
Material e Métodos .....	39
Resultados e Discussão .....	43
Conclusões .....	51
Literatura Citada .....	52

<b>Perfil de ácidos graxos e conteúdo de CLA no leite de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina.....</b>	55
Resumo .....	55
Introdução .....	56
Material e Métodos .....	58
Resultados e Discussão .....	62
Conclusões .....	74
Literatura Citada .....	75
<b>Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas a combinação de óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta.....</b>	78
Resumo .....	78
Introdução .....	79
Material e Métodos .....	82
Resultados e Discussão .....	85
Conclusões .....	93
Literatura Citada .....	94
<b>Perfil de ácidos graxos e conteúdo de CLA no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta .....</b>	97
Resumo .....	97
Introdução .....	98
Material e Métodos .....	100
Resultados e Discussão .....	103
Conclusões .....	113
Literatura Citada .....	114
<b>3. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	116

## RESUMO

EIFERT, Eduardo da Costa, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2004.  
**Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina sódica na dieta de vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite.** Orientador: Rogério de Paula Lana. Conselheiros: Maria Ignez Leão e Pedro Braga Arcuri.

Cinco experimentos foram conduzidos para avaliar as possíveis interações entre a adição de monensina sódica e óleo de soja e as possíveis interações entre diferentes fontes de carboidratos e óleo de soja na dieta de vacas lactantes sobre o consumo, parâmetros digestivos e ruminais, a produção de leite e sua composição, o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de ácido linoléico conjugado (CLA) na gordura do leite. No primeiro trabalho, foram utilizadas quatro vacas lactantes, multíparas, fistuladas no rúmen, distribuídas em um delineamento em um quadrado latino (4x4) para avaliar os efeitos da combinação de óleo de soja e monensina sobre o consumo, a digestibilidade total e parcial dos nutrientes, os parâmetros ruminais e a síntese microbiana. Os tratamentos consistiram de um tratamento controle (CT); com a adição de monensina a 33 ppm (MN); dieta com 4% de óleo de soja (OL) e a combinação de óleo e monensina (OM). A digestibilidade total de nutrientes não foi afetada pelos tratamentos, mas a digestibilidade ruminal da FDN foi similar na presença de óleo e na presença de monensina, mas foi reduzida na combinação dos dois. O pH, a eficiência de síntese microbiana e o total de AGV do líquido ruminal foram similares entre os tratamentos. Observou-se interação para a concentração de N-NH<sub>3</sub>, sendo a concentração de N-NH<sub>3</sub> reduzida na presença de óleo. A proporção de acetato foi reduzida tanto na presença de óleo, como na presença de monensina, mas em diferentes magnitudes, assim como na combinação dos dois. O propionato aumentou com monensina e com óleo, e butirato

diminuiu com óleo. A relação acetato:propionato foi reduzida tanto na presença de óleo, como na presença de monensina. A síntese de proteína microbiana foi reduzida na presença de óleo e ainda mais quando associado a monensina. Os mesmos tratamentos foram utilizados em um segundo experimento para verificar seus efeitos sobre a produção e composição do leite, sendo utilizadas 12 vacas lactantes, dispostas em três quadrados latinos (4x4). O consumo de matéria seca foi reduzido na presença de óleo (19,3 vs 17,1 kg/dia) e de monensina (18,8 vs 17,6 kg/dia), embora não tenha sido verificada interação significativa, a combinação de óleo e monensina reduziram o consumo em 20% em relação ao CT. O consumo de FDN e a síntese microbiana não foram influenciados por óleo ou por monensina, entretanto, o tratamento OM apresentou redução numérica da ordem de 23% em relação a CT para a produção de nitrogênio microbiano. As únicas interações observadas foram para o pH ruminal e produção de leite. Na ausência de óleo, monensina não alterou a produção de leite (25,8 kg/dia), diminuiu na presença de óleo (24,0 kg/dia), mas esta redução foi ainda maior na combinação óleo e monensina (23,2 kg/dia). Tanto óleo como monensina diminuíram os teores de gordura (3,41 vs 2,86% e 3,35 vs 2,92%), sua produção (0,876 vs 0,718 kg/dia e 0,834 vs 0,718 kg/dia), e a produção de proteína (0,764 vs 0,707 kg/dia e 0,746 vs 0,723 kg/dia). Em função da alteração da composição do leite, a concentração de energia no leite foi menor na presença de monensina ou na presença de óleo. A monensina aumentou em 6,5% a eficiência alimentar e a combinação de óleo e monensina, em 8,5%. No terceiro trabalho, o leite de um dos quadrados latinos acima citados foi analisado por cromatografia gasosa para avaliar o efeito dos tratamentos sobre o perfil de ácidos graxos e seu teor de CLA. Não foi verificada interação entre óleo de soja e monensina para a maioria dos ácidos graxos (AG) avaliados. A monensina não influenciou os AG de cadeia curta (AGCC), cadeia média (AGCM) ou cadeia longa (AGCL), mas a presença de óleo reduziu os AGCC (10,5 vs 6,81 g/100 g) e AGCM (52,6 vs 35,2 g/100 g) e aumentou os AGCL (34,03 vs 54,90 g/100 g). A monensina aumentou os AG insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados em 8,1, 4,2 e 32,7%, respectivamente. O óleo apresentou maior impacto sobre estes AG, aumentando-os 41%, em média. Todos os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> foram aumentados tanto pelo óleo como pela monensina (43,7 e 42,8%), exceto o *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, que não foi influenciado pelos tratamentos. Observou-se interação para os AG *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> e *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, onde as concentrações destes AG foram aumentadas tanto pelo óleo como pela monensina, mas a combinação destes indicou efeito aditivo. O teor de

gordura do leite correlacionou-se negativamente com a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> ( $r=-0,7239$ ;  $P=0,0015$ ). Embora com diferenças numéricas (0,54 vs 0,80 g/100 g), o CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> não foi influenciado pelos tratamentos, e a atividade da  $\Delta^9$ -desaturase foi reduzida pelo óleo. Um quarto trabalho foi realizado utilizando-se 12 vacas lactantes holandês cruzadas, em quatro quadrados latinos 3x3, avaliando-se os efeitos sobre o consumo, produção de leite e composição do leite de dietas formuladas com diferentes fontes de carboidratos no concentrado, associadas ou não à suplementação com óleo de soja. Os tratamentos consistiram de concentrados formulados com milho como fonte energética (MI), ou sua total substituição por farelo de trigo (FT) ou polpa cítrica (PC), estando associados ou não à inclusão de óleo de soja no concentrado (0 e 2,25%). O consumo de matéria seca (18,4 kg/dia) e a produção de leite (23,5 kg/dia) não diferiram entre MI, FT ou PC, mas as dietas com FT proporcionaram maior consumo de FDN e menor digestibilidade aparente total deste nutriente. As dietas com FT também apresentaram menor digestibilidade da MO, FDN e CHOT e menor teor de lactose. A síntese microbiana não foi influenciada pela fonte de carboidrato ou pelo óleo, sendo em média, de 239,4 g N/dia. Os animais das dietas contendo óleo apresentaram menor consumo de matéria seca (19,0 vs 17,8 kg/dia), menor teor de lactose (4,49 vs 4,33%) e gordura no leite (3,34 vs 3,13%), mas não diferiram na produção de leite, no teor de proteína, digestibilidade dos nutrientes e síntese microbiana. A presença de óleo proporcionou maior eficiência alimentar (1,23 vs 1,35) e aumentou a relação proteína:gordura do leite (0,94 vs 1,00). Os efeitos destes tratamentos sobre o perfil de ácidos graxos e seu teor de CLA foram avaliados em um quinto trabalho. Não foi verificada interação significativa ( $P>0,05$ ) entre a presença de óleo e a fonte de carboidratos em qualquer variável avaliada, com exceção das concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e a proporção de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> nos totais *trans*- C<sub>18:1</sub> do leite. A fonte de carboidrato utilizada não influenciou o perfil de ácidos graxos do leite ou o teor de CLA. A inclusão de óleo de soja aumentou a insaturação do leite em 35% e reduziu os AG saturados em 14%, principalmente sobre os AGCC (9,66 vs 7,59 g/100 g) e os AGCM (51,80 vs 40,86 g/100 g). O óleo aumentou os AGCL (32,17 vs 46,47 g/100 g), principalmente C<sub>18:0</sub> (13,63 vs 9,44 g/100 g), C<sub>18:1</sub> (20,28 vs 29,74 g/100 g) e C<sub>18:2</sub> (2,16 vs 2,92 g/100 g). A concentração de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> foi aumentada em 230% (0,46 vs 1,06 g/100 g) na presença de óleo. A concentração dos AG *cis* e *trans*-C<sub>18:1</sub> também foi aumentada, e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> foi o principal isômero *trans*, embora *trans*-10 C<sub>18:1</sub> tenha se elevado de 0,28 para 1,11 g/100

g na presença de óleo, sendo dependente da fonte de carboidrato. Os resultados indicam que a combinação de óleo e monensina atuam sobre a mesma população microbiana e a sensibilidade à ação da monensina é aumentada na presença de óleo. A redução no consumo pela menor digestibilidade ruminal da FDN não justifica, sozinha, a redução no consumo nas dietas com óleo, sugerindo que fatores metabólicos estejam associados. A combinação de óleo de soja e monensina agem de forma aditiva ao diminuir a produção de leite. O óleo de soja permite aumentar a insaturação do leite e reduzir os ácidos graxos saturados, assim como a monensina, porém em menor magnitude. Enquanto o óleo aumentou a concentração dos totais do CLA, o CLA *cis-9 trans-11* C<sub>18:2</sub> não foi influenciado pelos tratamentos, sugerindo uma inibição da  $\Delta^9$ -desaturase. Óleo e monensina alteram a população microbiana, fazendo com que a rota da bio-hidrogenação forme mais *trans-10* C<sub>18:1</sub> e acumule *trans-C*<sub>18:1</sub> no rúmen. MI, PC ou FT podem ser utilizados como principal fonte de carboidratos no concentrado de vacas lactantes, não influenciando a produção, a composição e o perfil de ácidos graxos do leite. Quando óleo está presente, aumenta-se a insaturação e o conteúdo de CLA. A utilização de PC combinada com óleo de soja permite um ambiente ruminal mais apropriado para a formação de *trans-10* C<sub>18:1</sub>.

## ABSTRACT

EIFERT, Eduardo da Costa, D.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2004.  
**Carbohydrate sources, soybean oil and monensin in the diet of lactating dairy cows: performance, digestibility, ruminal parameters and milk fatty acids profile.** Adviser: Rogério de Paula Lana. Committee members: Maria Ignez Leão and Pedro Braga Arcuri.

Five experiments were conducted to evaluate the possible interactions between monensin and soybean oil and the possible interactions between carbohydrates sources and soybean oil in diet of lactating dairy cows on intake, digestive and ruminal parameters, milk production and composition, fatty acids profile and CLA in the milk fat. In the first work, four rumen cannulated lactating dairy cows were used in a Latin Square design (4x4), to evaluate the effects of soybean oil and monensin combination in the diet on the intake, total and partial digestibility of nutrients, ruminal parameters and microbial synthesis. The treatments consisted of a control treatment (CT); monensin addition at 33 ppm (MN); soybean oil at 4% (OL) and oil and monensin combination (OM). The total digestibility of nutrients was not affected by the treatments, but the rumen digestibility of NDF was reduced in oil and monensin combination. Rumen pH, efficiency of microbial synthesis and total VFA of rumen liquor were similar among treatments. Interaction was observed for N-NH<sub>3</sub> concentration, being the concentration of N-NH<sub>3</sub> reduced in the oil and monensin treatments. Acetate proportion was reduced in the oil, monensin, and oil plus monensin treatments, but in different magnitudes. Propionate increased with monensin and with oil, and butirate decreased with oil.

Acetate: propionate ratio was reduced so much in oil presence and in monensin treatments. The synthesis of microbial protein was reduced in the oil and more strongly when associated with monensin. The same treatments were used in a second work to verify their effects on milk production and milk composition, being used 12 lactating dairy cows, disposed in three Latin squares (4x4). Dry matter intake was reduced in the oil (19.3 vs 17.1 kg/day) and monensin (18.8 vs 17.6 kg/day) diets. Although without significant interaction, oil and monensin combination reduced dry matter intake (DMI) in 20% compared with CT. NDF intake and the microbial synthesis were not influenced by oil or by monensin, however, OM treatment presented numeric reduction of 23% compared with CT for microbial nitrogen production. The only observed interactions were verified with ruminal pH and milk production. Milk production was not affected by monensina when oil was not present (25.8 kg/day). Milk production decreased in the presence oil (24.0 kg/day), but this reduction was still larger in oil and monensin combination (23.2 kg/day). Both oil and monensin reduced fat percentage (3.41 vs 2.86% and 3.35 vs 2.92%), fat production (0.876 vs 0.718 kg/day and 0.834 vs 0.718 kg/day), and protein production (0.764 vs 0.707 kg/day and 0.746 vs 0.723 kg/day). Food efficiency was increased by monensin in 6.5% and in the oil plus and monensin, in 8.5%. In the third work, milk samples of one of the above mentioned Latin Squares was analyzed by gas chromatography to evaluate the effect of treatments on the fatty acids profile and CLA content. No interaction was observed between soybean oil and monensin for most fatty acids (FA) evaluated. Monensin didn't influence short chain FA (SCFA), medium chain (MCFA) or long chain (LCFA), but oil reduced SCFA (10.5 vs 6.81 g/100 g) and MCFA (52.6 vs 35.2 g/100 g) and increased LCFA (34.03 vs 54.90 g/100 g). Monensin increased unsaturated, monounsaturated and polyunsaturated FA in 8.1, 4.2 and 32.7%, respectively. The oil presented larger impact on these FA, increasing them 41%, on average. All *trans*-C<sub>18:1</sub> isomers were increased either by soybean oil or monensin (43.7 and 42.8%), except *trans*-11 C<sub>18:1</sub> that was not influenced by treatments. Interaction was observed for FA *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> and *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, where the concentrations of these FA were increased so much by soybean oil and by monensin, but the combination of these indicated addictive effect. Milk fat was negatively correlated with *trans*-10 C<sub>18:1</sub> concentration (r=-0.7239; P=0.0015). Away of numeric differences (0.54 vs 0.80 g/100 g), the CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> was not influenced by treatments, and  $\Delta^9$ -desaturase activity was reduced by oil. A fourth work was accomplished being used 12 lactating dairy cows, in three Latin Squares (4x4),

being evaluate the effects on intake, milk production and milk composition of diets formulated with different carbohydrates sources in the concentrate, associated or not whit supplementation with soybean oil. The treatments consisted of concentrate formulated with corn as energy source (MI), or it total substitution for wheat bran (FT) or citrus pulp (PC), being associated or not with soybean oil inclusion in the concentrate (0 and 2.25%). Dry matter intake (18.4 kg/day) and milk production (23.5 kg/day) didn't differ among MI, FT or PC, but the diets with FT provided larger NDF intake and smaller total apparent digestibility of this nutrient. The diets with FT also presented smaller digestibility of the organic matter, NDF and CHOT and reduced milk lactose content. The microbial synthesis was not influenced by the source of carbohydrate or soybean oil, being on average, 239.4 g N/day. The animals fed diets containing oil presented smaller dry matter intake (19.0 vs 17.8 kg/day), smaller milk lactose (4.49 vs 4.33%) and milk fat content (3.34 vs 3.13%), but they didn't differ in milk production, in protein content, in nutrient digestibility and microbial synthesis. Soybean oil provided larger feed efficiency (1.23 vs 1.35) and increased protein: fat relation (0.94 vs 1,00). The effects of these treatments on fatty acids profile and CLA content were appraised in a fifth work. Significant interaction was not verified among soybean oil and carbohydrate source in any appraised variable, except for *trans*-10 C<sub>18:1</sub> concentration. CLA content and fatty acids profile were not influenced by carbohydrate source. Soybean oil increased milk unsaturation in 35% and it reduced saturated FA in 14%, mainly on SCFA (9.66 vs 7.59 g/100 g) and MCFA (51.80 vs 40.86 g/100 g). Soybean oil increased LCFA (32.17 vs 46.47 g/100 g), mainly C<sub>18:0</sub> (13.63 vs 9.44 g/100 g), C<sub>18:1</sub> (20.28 vs 29.74 g/100 g) and C<sub>18:2</sub> (2.16 vs 2.92 g/100 g). CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> concentrations were increased in 230% (0.46 vs 1.06 g/100 g) in soybean oil diet. FA *cis* and *trans*-C<sub>18:1</sub> concentrations it were also increased, and *trans*-11 C<sub>18:1</sub> was the principal isomer *trans*, although *trans*-10 C<sub>18:1</sub> has increase from 0.28 up to 1.11 g/100 g in the presence of oil, depending also on the carbohydrate source. These results indicate that the oil and monensin combination act upon the same microbial population and that the sensibility to the action of monensin is increased in the oil presence. The reduction in the consumption due a decreased digestibility ruminal of NDF doesn't justify, alone, the reduction in the consumption of the diets containing oil, suggesting some metabolic factors maybe associated. The combination of soybean oil and monensin act in a synergic way reducing milk production. The soybean oil caused increased milk fat unsaturation and reduced saturated fatty acids, as well as monensin,

however, whit effects had smaller magnitude. Notwithstanding that, soybean oil increased the total CLA concentration, CLA *cis-9 trans-11* C<sub>18:2</sub> was not influenced by treatments, suggesting an inhibition of  $\Delta^9$ -desaturase. Soybean oil and monensin did alter the microbial population, probably determining that doing with that the biohydrogenation routes form more *trans-10* C<sub>18:1</sub> and more *trans-C*<sub>18:1</sub> were accumulated in the rumen. MI, PC or FT can be used as main carbohydrate sources in concentrates for lactating dairy cows, not influencing milk production, milk composition and the fatty acids profile of milk fat. When soybean oil is present in the diet, it increases milk fat unsaturation and CLA content. PC combined with soybean oil allows a rumen ambient more appropriate for the formation of *trans-11* C<sub>18:1</sub>.

## 1. INTRODUÇÃO

Não é recente a intenção de alterar a composição do leite, principalmente em relação à gordura. A perspectiva de manipular a gordura do leite pretende atender à demanda de um mercado consumidor cada vez mais exigente em relação ao consumo de certas gorduras saturadas, devido aos seus efeitos deletérios sobre a saúde humana.

Uma das características do leite bovino é a grande proporção de ácidos graxos (AG) saturados, com cadeias entre quatro e 16 carbonos, oriundos da síntese *de novo*. Alguns destes são apontados como precursores do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), responsável por sua vez, por doenças cardiovasculares (Parodi, 1999). Por outro lado, aumentar a participação de ácidos graxos poliinsaturados na composição da gordura do leite torna-se interessante, pois é benéfico o relacionamento destes ácidos graxos ao reduzir a incidência de doenças coronarianas e aumentar o colesterol de alta densidade, o HDL (Demeyer & Doreau, 1999).

Extensas revisões são encontradas na literatura mostrando a dificuldade da manipulação e o incremento de determinados AG no leite (Grummer, 1991; Palmquist et al., 1993; Demeyer & Doreau, 1999; Chilliard et al., 2000). Para Demeyer & Doreau (1999), a gordura do leite tem origem a partir dos lipídios sintetizados na glândula mamária (40 a 50%) e dos ácidos graxos pré-formados absorvidos da corrente sanguínea. Destes, 10% tem origem na mobilização dos lipídios corpóreos e o restante, 40 a 50%, é de origem dietética (Grummer, 1991). Há três principais fatores que modificam os AG da dieta em relação aos absorvidos no duodeno (Chilliard et al., 2000): primeiro, a população microbiana age sobre os AG insaturados no sentido de saturação, em uma rota denominada de bio-hidrogenação ruminal; segundo, a microbiota ruminal sintetiza ácidos graxos em uma rota similar à síntese *de novo*; por

fim, a ação da  $\Delta^9$ -desaturase nos enterócitos e na glândula mamária, que inclui uma ligação dupla *cis*-9 nos AG, por exemplo, transformando o ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>) em oléico (*cis*-9 C<sub>18:1</sub>).

A fase da lactação, o balanço energético, o nível de alimentação, a proporção de concentrado, o pH do rúmen, e a utilização de tampões e ionóforos são fatores que influenciam o perfil da gordura do leite (Palmquist et al., 1993). No entanto, a inclusão de lipídios na dieta promove as maiores alterações na gordura do leite, sendo dependente do nível e do tipo de lipídio e da extensão da bio-hidrogenação ruminal (Grummer, 1991). Dietas contendo grãos de oleaginosas, sabões de cálcio de ácidos graxos, tratamento químico com formaldeído e proteína, entre outros, têm sido utilizados como uma forma de suplementação com vistas à proteção dos lipídios à bio-hidrogenação ruminal.

Os óleos vegetais promovem uma grande quantidade de intermediários da bio-hidrogenação ruminal, principalmente ácidos graxos monoinsaturados (Chilliard et al., 2000). Entretanto, pesquisas têm demonstrado que alguns ácidos graxos intermediários na bio-hidrogenação apresentam propriedades benéficas à saúde humana, e que podem melhorar a percepção do mercado consumidor a respeito das características nutracêuticas dos produtos lácteos.

Um destes é o ácido linoléico conjugado (CLA), principal dieno intermediário da bio-hidrogenação ruminal. Esta denominação é dada ao conjunto de isômeros do ácido linoléico, sendo os principais identificados como CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub>. Ao CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> atribuem-se efeitos anticarcinogênicos, redução da arteriosclerose, controle de diabetes e modulação do sistema imune (Parodi, 1997). Ao CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub>, os efeitos são de redução da gordura no ganho de

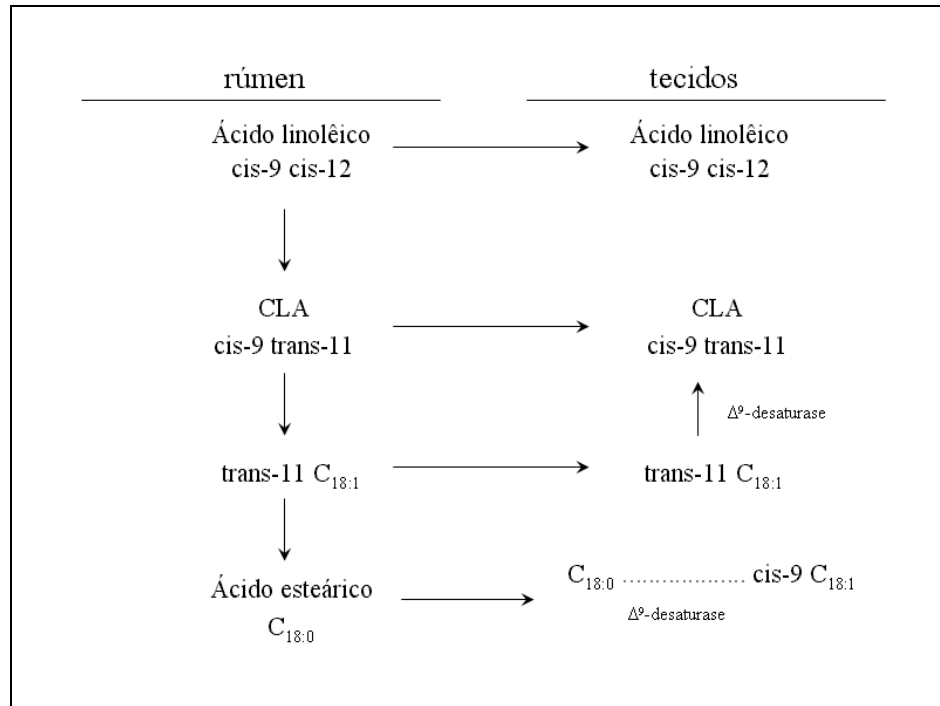
peso e fortes efeitos sobre a partição de nutrientes, principalmente sobre a redução na síntese de gordura do leite (Bauman & Griinari, 2001).

Do ponto de vista da nutrição animal, a chave para a manipulação do perfil da gordura do leite está relacionada aos eventos que modulam a bio-hidrogenação ruminal (Grummer, 1991). Neste sentido, Bauman et al. (2000) sugerem três vias para o incremento de CLA e o perfil da gordura do leite: a adição de substratos lipídicos, a alteração do ambiente ruminal e a interação destes fatores.

A adição de ácido linoléico e linolênico na dieta tem permitido os maiores incrementos de CLA no leite e ainda, apresentam um efeito de dose-resposta com distribuição quadrática (Dhiman et al., 1999a,b, Dhiman et al., 2000). Sabe-se que altas concentrações de ácido linoléico inibem o último passo da bio-hidrogenação, permitindo o acúmulo de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> no rúmen (Nagaraja et al., 1997), que pode ser reconfigurado na glândula mamária em CLA *cis*-9 *trans*-11 através da enzima  $\Delta^9$ -desaturase (Bauman & Griinari, 2001), como representado na Figura 1. A síntese endógena de CLA a partir da ação da  $\Delta^9$ -desaturase tem sido apontada como a principal forma de secreção de CLA na maioria das dietas para vacas lactantes (Lawson et al., 2001).

Entre os diversos fatores que influenciam no conteúdo de CLA no leite, a relação concentrado:volumoso, adição de tampões, alimentação restrita e o estágio de crescimento da pastagem foram relatados por Bauman et al. (2000). Por outro lado, a influência de diferentes fontes de carboidratos e a utilização de ionóforos tem sido pouco estudadas. Solomon et al. (2000) observaram que concentrados formulados com milho ou polpa cítrica apresentaram pequenos efeitos sobre o conteúdo de CLA, sendo este maior quando houve adição de grãos de soja extrusados na dieta, servindo, portanto, como fonte de lipídios à bio-hidrogenação. Entretanto, Jenkins et al. (2003)

sugerem que a taxa de digestão da fonte de carboidrato pode favorecer uma determinada população microbiana e assim alterar a rota normal de bio-hidrogenação, permitindo o acúmulo de determinados ácidos graxos.



Quadro 1 – Esquema da bio-hidrogenação ruminal do ácido linoléico e ação da enzima  $\Delta^9$ -desaturase nos enterócitos e na glândula mamária

A manipulação da fermentação ruminal com a adição de ionóforos potencialmente pode ser utilizada visando aumentos nos teores de CLA na gordura do leite. No entanto, somente trabalhos *in vitro* são relatados na literatura, sendo necessário, então, a realização de pesquisas com animais. Naqueles trabalhos, as taxas de hidrólise dos ácidos graxos foram reduzidas quando monensina esteve presente na dieta, sugerindo que a velocidade e a extensão da bio-hidrogenação foi diminuída, o que possibilitaria o acúmulo de CLA e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> no conteúdo ruminal (Van Nevel & Demeyer, 1995).

Fellner et al. (1997) observaram que a adição de ácido linoléico em cultura contínua de líquido ruminal, aumentou o teor de CLA no total de ácidos graxos com concomitante acúmulo de isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub>. Os ionóforos monensina, nigericina e

tetronasina triplicaram o efeito sobre a concentração de CLA. No entanto, os isômeros do CLA e os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> não foram detalhados.

Em recente trabalho, Jenkins et al. (2003) observaram que a monensina adicionada a culturas de líquido ruminal *in vitro* proporcionou aumento do CLA *cis*-9 *trans*-11. No entanto, a monensina direcionou a rota de bio-hidrogenação no sentido de apresentar maior acúmulo de CLA *trans*-10 *cis*-12 como intermediário principal. Estes efeitos foram mais marcantes quando o substrato foi milho em relação à cevada. Além disso, foi observado que o pH do meio incubado não interagiu com a monensina no acúmulo do CLA.

O CLA *trans*-10 *cis*-12 tem apresentado forte efeito sobre a partição de energia nos animais. Seu principal efeito é sobre a inibição das enzimas acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase na glândula mamária, o que reduz significativamente o teor de gordura do leite (Piperova et al., 2000).

Os estudos com sais de cálcio de CLA, ricos em *trans*-10 *cis*-12, tem demonstrado que a redução da síntese *de novo* é dose dependente. Assim, 3,5 g deste CLA proporcionam redução de 25% no teor de gordura do leite (Baumgard et al., 2001), e à medida que se eleva a dose, a síntese de gordura é reduzida até chegar a inibir também a incorporação dos ácidos graxos de cadeia longa. Recentemente, Baumgard et al. (2002) infundiram 13,5 g de CLA sintético no abomaso e verificaram que este CLA reduziu a síntese *de novo* em 63% e o teor de gordura no leite foi reduzido em 42%.

A ocorrência de CLA *trans*-10 *cis*-12 no rúmen permite aumentar a participação de ácidos graxos de cadeia longa e diminuir a proporção de ácidos graxos saturados oriundos da síntese *de novo*, aumentando a qualidade nutritiva do leite. No entanto, não se tem verificado aumentos de CLA *cis*-9 *trans*-11 com a utilização de CLA sintético (Loor & Herbein, 2003). Provavelmente, a maximização dos efeitos sobre a simultânea

redução dos ácidos graxos da síntese *de novo*, incremento dos ácidos graxos insaturados de cadeia longa e aumento da participação de CLA *cis-9 trans-11* no leite deve vir associado à formação de CLA *trans-10 cis-12* no rúmen. Ao que parece, isto pode ser atingido se o ácido linoléico for exposto à bio-hidrogenação ruminal e se houver um controle sobre a atividade microbiana, no sentido de reduzir a saturação, e que permita a formação destes dois isômeros do CLA.

A literatura internacional não tem apresentado o efeito da monensina sobre o perfil da gordura do leite e sobre a concentração de CLA. Também existem poucos trabalhos envolvendo a combinação de óleos vegetais e fontes de carboidratos. No Brasil são raros os trabalhos que visam manipular a bio-hidrogenação ruminal com o objetivo de selecionar determinados ácidos graxos a serem depositados na gordura do leite. O principal benefício seria a obtenção de um leite que apresente a composição da gordura diferenciada e que apresente para o consumidor um produto com propriedades nutracêuticas e menor propensão às doenças coronarianas e cardiovasculares.

O principal problema em relação à utilização de gorduras insaturadas na dieta de ruminantes é o efeito sobre a produção de leite e sobre o consumo. Muito embora a concentração energética seja maior nos lipídios que em carboidratos e proteínas, elevadas quantidades de lipídios podem reduzir o consumo e refletir em menores quantidades de energia ingerida (NRC, 2001). Allen (2000) acredita que fatores metabólicos estejam relacionados à redução no consumo, já que a digestibilidade ruminal da fração fibrosa é pouco afetada com o uso de lipídios (Bateman & Jenkins, 1998).

Tal qual os ionóforos, os suplementos lipídicos insaturados apresentam efeito tóxico sobre as bactérias gram-positivas do rúmen (Nagaraja et al.,1997), alterando a relação acetato:propionato, com maior produção de propionato às custas de acetato,

redução da produção de metano e diminuição da amônia ruminal (Jenkins, 1993, Bateman & Jenkins, 1998).

A eficiência da síntese microbiana por vezes é aumentada à medida que a inclusão de lipídios na dieta entram em substituição no concentrado, associado a isto, o forte efeito defaunatório, isto é, drástica redução na população de protozoários ruminais, principalmente com o uso de óleo de soja, permitindo, conseqüentemente, um maior crescimento de bactérias, em virtude da menor predação (Nagaraja et al., 1997).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivos:

- Estudar o efeito da inclusão de óleo de soja e monensina sobre o consumo, fermentação ruminal, síntese microbiana e a digestibilidade total e parcial dos nutrientes.
- Avaliar a produção e composição do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina.
- Avaliar os efeitos de dietas contendo óleo de soja e monensina sobre o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite.
- Estudar o consumo, a digestibilidade das dietas, a produção e a composição do leite de vacas alimentadas com a associação de diferentes fontes de carboidratos e óleo de soja.
- Avaliar os efeitos da suplementação com óleo de soja em dietas formuladas com diferentes fontes de carboidratos no concentrado sobre o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite.

Os capítulos desta tese foram redigidos de acordo com as normas de publicação da Revista Brasileira de Zootecnia.

## 2 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83. p. 1598–1624, 2000.
- BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2451–2458, 1998.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In: **Proceedings of the American Society of Animal Science**.2000. Disponível em: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- BAUMGARD, L.H.; SANGSTER, J.K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Nutrition**, v. 131, p.1764–1769, 2001.
- BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A. et al. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155–2163, 2002.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 181-205, 2000.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 593-607, 1999.
- DHIMAN, T.R.; HELMINK, E.D.; MCMAHON, D.J. et al. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 412–419, 1999a.
- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER L.D. et al. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal of Dairy Science** v 82, p. 2146–2156, 1999b.
- DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. et al. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1016–1027, 2000.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermentors. **Journal of Dairy Science** v.80. p. 921–928, 1997.
- 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.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3244-3257, 1991.

- JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on *trans* fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science** v.86. p. 324-330, 2003.
- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3851-3863, 1993.
- LAWSON, R.E.; MOSS, A.R.; GIVENS, D.I. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acids to man's diet: a review. **Nutrition Res. Reviews**, v. 14, p. 153-172, 2001.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Reduced fatty acids synthesis and desaturation due to exogenous *trans*-10, *cis*-12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. **Journal of Dairy Science**, v.86, p. 1354-1369, 2003.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic & Professional, 2<sup>o</sup> edition, Great Britain. 1997, p.524-632.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 2001. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. National Academic Press. Washinton, D.C. 2001, 381p.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1753-1771, 1993.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1339–1349, 1999.
- PARODI, P. W. Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agent. *Journal of Nutrition*, v. 127, p. 1055-1060, 1997.
- PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I. et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p. 2568-2574, 2000.
- SOLOMON, R.; CHASE, L.E.; BEN-GHEDALIA D. et al. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1322–1329, 2000.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D.I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen *in vitro*: Inhibition by antimicrobials. **Journal of Dairy Science**, v.78, p. 2797–2806, 1995.

## **Efeito da Combinação de Óleo de Soja e de Monensina sobre o Consumo e Digestão em Vacas Lactantes**

**Resumo:** O experimento teve o objetivo de avaliar os efeitos da combinação de óleo de soja e monensina sobre o consumo, a digestibilidade total e parcial dos nutrientes, os parâmetros ruminais e a síntese microbiana. Foram utilizadas quatro vacas lactantes, fistuladas no rúmen, distribuídas em um quadrado latino (4x4), com 21 dias de período experimental, sendo os três últimos de avaliação, dispostos em um arranjo fatorial (2x2): presença ou ausência de óleo de soja e presença ou ausência de monensina. Os tratamentos foram os seguintes: ausência de óleo e monensina; presença de monensina (33 ppm), presença de óleo de soja (4% na MS), combinação de óleo e monensina. As dietas continham 55% de silagem de milho e 45% de concentrado, e o óleo foi adicionado no concentrado. Foram registrados e amostrados a silagem, o concentrado ofertado e as sobras. Para avaliação da digestibilidade total e parcial, foram coletadas amostras de fezes e de digesta omasal, utilizando FDAi e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como indicadores. A presença de óleo reduziu o consumo alimentar, mas permitiu similar consumo de NDT. A digestibilidade total de nutrientes não foi afetada pelos tratamentos. A digestibilidade ruminal da FDN foi similar na presença de óleo e na presença de monensina, mas foi reduzida na combinação dos dois. O pH, a eficiência de síntese microbiana e o total de AGV do líquido ruminal foram similares entre os tratamentos. Observou-se interação entre óleo e monensina para a concentração de N-NH<sub>3</sub>, verificando-se menor valor para as dietas com óleo somente. A proporção de acetato foi reduzida tanto na presença de óleo, como na presença de monensina, mas em diferentes magnitudes, assim como na combinação dos dois. O propionato aumentou com monensina e com óleo, e butirato diminuiu com óleo. A relação acetato:propionato foi reduzida tanto na presença de óleo, como na presença de monensina. A síntese de proteína microbiana foi reduzida na presença de óleo e ainda mais quando associado à monensina. Os resultados indicam que a combinação de óleo e monensina atua sobre a mesma população microbiana e a sensibilidade à ação da monensina é aumentada na presença de óleo. A limitação no consumo pelo efeito de enchimento ruminal, a partir da redução da digestibilidade da FDN, ou a limitação do consumo pelo incremento energético, não justificam sozinhos a redução no consumo de matéria seca nas dietas com óleo, indicando que fatores metabólicos podem estar envolvidos.

Palavras-chave: ionóforos, lipídios, parâmetros ruminais, síntese microbiana

## Introdução

O consumo de energia é a principal limitação na produção de leite e é determinado pela concentração energética da dieta e sua taxa de consumo. As características físicas e químicas dos ingredientes da dieta e suas interações podem ter um grande efeito sobre o consumo de alimentos por vacas lactantes, influenciando a quantidade de nutrientes disponíveis para a absorção e produção (Allen, 2000).

Com o objetivo de atender aos requerimentos energéticos de vacas em lactação, lipídios tem sido recomendados para aumentar a densidade energética da dieta, evitando os efeitos nocivos de altas quantidades de concentrados, ricos em amido, sobre o ambiente ruminal (Doreau & Chilliard, 1997). No entanto, gorduras insaturadas, como o óleo de soja, apresentam efeitos sobre a permeabilidade da membrana microbiana, inibindo principalmente a atividade de bactérias gram-positivas, modificando a fermentação ruminal. Isto resulta em alterações das proporções dos ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos, com aumento de propionato e reduções nas concentrações de acetato, metano e de amônia ruminal (Nagaraja et al., 1997).

A redução na digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos tem sido observada em algumas situações quando há maior teor de gordura na dieta (Jenkins, 1993), o que pode comprometer o valor energético desta em função de um decréscimo na digestibilidade total e ainda, limitar o consumo de matéria seca em função da maior retenção da fração fibrosa no rúmen (Allen, 2000), reduzindo o consumo total de energia (Palmquist, 1994).

Ionóforos, como a monensina sódica, têm sido empregados para aumentar o desempenho animal a partir da manipulação da fermentação ruminal. Assim, com modo de ação bastante similar ao do óleo de soja no rúmen, há alteração das proporções

molares de propionato e acetato, e um aumento da eficiência energética ruminal da ordem de 5% em virtude da menor formação de metano (Nagaraja et al., 1997).

O efeito da adição simultânea de ionóforos e gorduras na alimentação de ruminantes tem sido pouco estudado e parece ser dependente da fonte de gordura e do ionóforo utilizado. Clary et al. (1993) observaram que a lasalocida associada com 4,0% de sebo bovino reduziu o consumo de matéria seca, indicando haver efeito sinérgico entre gordura e ionóforo. A proporção entre os AGV também foi alterada, com redução de acetato e elevação de propionato, no entanto, sem apresentar interação entre os tratamentos. Zinn (1988) não observou interação entre graxa amarela (resíduo de gordura de restaurantes) e monensina sobre o desempenho animal, mas os produtos finais da fermentação ruminal foram alterados. Cant et al. (1997) observaram efeito sinérgico entre monensina e óleo de peixe ao reduzir o consumo por vacas lactantes.

Em experimentos *in vitro*, Lana & Russel (1996) observaram que a presença de óleo de milho na dieta aumentou a resistência à depleção do potássio intracelular das bactérias ruminais, quando posteriormente foram expostas à ação da monensina e lasalocida. Isto indica que a população selecionada pelo óleo seria semelhante à aquela selecionada pelos ionóforos, o que pode explicar os poucos efeitos associados entre óleo e ionóforos reportados na literatura. Neste sentido, Clary et al. (1993) acreditam que a presença de gordura aumentou em três vezes a resistência das bactérias ruminais à lasalocida. De outra forma, a distribuição irregular da gordura dietética no rúmen poderia influenciar a exposição dos microrganismos sensíveis aos ionóforos, afetando a atividade deste aditivo.

No Brasil, o custo da suplementação com óleos vegetais tem limitado seu uso. Entretanto, parte dos pesquisadores tem voltado sua atenção no intuito de fornecer lipídios visando alterar a composição dos ácidos graxos do leite (Cant et al., 1997),

aumentando a insaturação da gordura e os níveis de ácido linoléico conjugado (CLA), mediante o uso de fontes insaturadas e sua exposição à bio-hidrogenação no rúmen. Como ambos tem apresentado efeitos sobre a população microbiana e a atividade dos microrganismos ruminais, podem-se esperar efeitos diferenciados sobre os parâmetros ruminais e a digestibilidade de nutrientes, com conseqüências no consumo de energia.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição na dieta de monensina e óleo de soja sobre o consumo, a digestibilidade dos nutrientes e os padrões de fermentação ruminal em vacas lactantes.

### **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco – EMBRAPA Gado de Leite, no período entre agosto e novembro de 2002. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizadas quatro vacas  $\frac{7}{8}$  Holandês-Gir, multíparas, com 155 dias em lactação, com peso vivo de 591 kg, e implantadas cânulas ruminais. Os animais foram dispostos em um quadrado latino (4x4), em um arranjo fatorial 2x2: presença ou não de monensina sódica (33 ppm) e presença ou não de óleo de soja (4,0%). Os tratamentos foram assim representados: a) dieta sem óleo e sem monensina: óleo (-) mon (-); b) sem óleo, com monensina: óleo (-) mon (+); c) com óleo, sem monensina: óleo (+) mon (-); d) com óleo, com monensina: óleo (+) mon (+) .

As dietas foram formuladas para atender ou exceder as recomendações do NRC (2001) para vacas produzindo acima de 25 kg de leite ao dia. A proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica estão apresentadas na Tabela 1. Em

média, a alimentação foi composta por 54,8% de silagem de milho e 45,2% de concentrado, e totalizaram 37,0% de FDN, 21,3% de FDA e 16,9% de PB. As dietas sem óleo continham 2,44% de EE e as dietas com óleo, 6,19%. O óleo de soja substituiu parcialmente o núcleo protéico energético do concentrado e, juntamente com a monensina sódica (Rumensin<sup>®</sup>, Elanco CO.), foram misturados ao concentrado.

Tabela 1 – Ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingredientes <sup>1</sup>	Dietas	
	Sem óleo	Com óleo
	----- Ingredientes, % -----	
Silagem de milho	55,11	54,52
Concentrado	44,89	45,48
Núcleo energético protéico	43,23	39,71
Óleo de soja	-	3,93
Uréia	0,53	0,86
Sulfato de amônia	0,06	0,10
Sal comum	0,32	0,30
Calcário calcítico	0,14	0,11
Fosfato bicálcico	0,53	0,49
Suplemento mineral	0,08	0,07
	----- Composição química, % -----	
Matéria orgânica	90,90	94,12
FDN	37,35	36,74
FDA	21,31	21,32
Proteína bruta	16,48	16,12
Extrato etéreo	2,44	6,19

<sup>1</sup> nos tratamentos com monensina sódica: adicionada a 33 ppm no concentrado

Os animais foram mantidos confinados e alimentados duas vezes ao dia (08:00 h e 15:30 h) em igual proporção, sendo a alimentação fornecida individualmente em cochos com controle eletrônico individual tipo “Calan Gate” (Calan Data Ranger<sup>®</sup>). As sobras

foram retiradas e pesadas diariamente no período de coleta para formar uma amostra composta e imediatamente congeladas para posterior análise. O nível de oferta foi ajustado para manter-se 10% de sobras. Os animais foram ordenhados às 05:00 e 15:00 horas diariamente.

O período experimental consistiu de 18 dias de adaptação à dieta e três dias de coletas. Para o ensaio de digestibilidade, foram utilizados óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e FDA indigestível (FDAi) como indicadores externo e interno, respectivamente. Dez dias antes do início e durante o período de avaliação, dez gramas de óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) foram colocados via cânula ruminal, sempre quatro horas após a alimentação da manhã. Durante o período de avaliação, além da adição de óxido crômico, amostras de fezes foram coletadas na manhã do dia 19, e no início e final da tarde dos dias 20 e 21. Estas amostras foram homogeneizadas, formando uma amostra composta e congeladas.

Nos dois últimos dias do período experimental foram coletadas amostras de digesta omasal, de acordo com a metodologia descrita por Leão (2002), em horários intercalados de três em três horas até perfazerem a avaliação de 24 horas do dia. As coletas foram realizadas nos seguintes horários: às 8:00 horas (antes da alimentação), 14:00; 20:00; 02:00; 05:00; 11:00; 17:00; e 23:00 horas. Estas amostras foram secas em estufa de ar forçado ( $60^\circ\text{C}$ ), moídas em moinho “de bola”, homogeneizadas, e retirada uma alíquota de cada tempo de coleta para formar uma amostra composta do dia.

Nas amostras de alimento oferecido, sobras, digesta omasal e fezes foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio total (Kjehldal), cinzas e extrato etéreo (EE) no aparelho Soxhlet, de acordo com as metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos pelos

métodos descritos por Van Soest et al. (1991), utilizando-se  $\alpha$ -amilase e sem a adição de sulfito de sódio na determinação do FDN. Em função da baixa recuperação do resíduo do extrato etéreo das amostras de digesta omasal, utilizou-se a técnica modificada e descrita por Sukhija & Palmquist (1988), onde se empregou uma mistura de 10 % de ácido acético glacial, 45% de éter etílico e 45% de éter de petróleo como solventes no aparelho Soxhlet. A quantificação de cromo nas fezes foi realizada de acordo com a técnica de Williams et al. (1962), descrita por Silva & Queiroz (2002).

Para a determinação do FDAi, as amostras dos alimentos ofertados, sobras, fezes e da digesta de omaso foram incubadas por um período de 144 horas no rúmen de vacas alimentadas com relação 60:40 de volumoso e concentrado, em sacos Ankom (Ankom<sup>®</sup> filter bag nº57), segundo adaptação da técnica descrita por Cochran et al. (1986). O resíduo da incubação presente nos sacos Ankom foi submetido à extração com detergente ácido, lavado em água destilada fervente e acetona, e após a secagem definitiva, o material resultante foi considerado como FDAi.

Os carboidratos totais (CHO) foram obtidos a partir da equação sugerida por Sniffen et al. (1992), onde  $CHO = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$ , e os carboidratos não-fibrosos (CNF) foram obtidos pela diferença entre CHO e FDN.

Para a determinação da concentração de amônia (N-NH<sub>3</sub>), pH e AGV do líquido ruminal, foram obtidas amostras, manualmente, em cinco pontos diferentes do rúmen e filtrado em pano de algodão. As coletas de líquido de rúmen foram simultâneas às coletas de digesta omasal. Para a leitura imediata do pH do líquido ruminal, utilizou-se um potenciômetro portátil. Nas amostras do líquido ruminal para a análise de AGV foram adicionados 1,0 mL de ácido meta-fosfórico a 25% para cada 5,0 mL de líquido ruminal coletados e 10,0 mL de líquido ruminal foram amostrados para a concentração de amônia. As amostras foram imediatamente congeladas após a coleta. No laboratório,

alíquotas de 2,0 mL de todas as amostras de líquido ruminal foram transferidas para tubos *ependorf* e centrifugadas duas vezes por 15 minutos a 12.500 g. A concentração de amônia foi quantificada pelo método colorimétrico de Chaney & Marbach (1962). Os AGV foram determinados em um cromatógrafo HPLC marca HP-1050, provido de um integrador HP-1047A e coluna de sílica fundida de 300 mm x 7,8 mm. O tempo de corrida foi de 20 minutos.

A estimativa da síntese microbiana foi realizada a partir da quantificação dos derivados de purina excretados na urina e leite, de acordo com a metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003), considerando-se a absorção de purinas (Pabs) a partir da fórmula sugerida por Verbic et al. (1990):  $Pabs = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$ , onde X é excreção total dos derivados de purina. A amostra *spot* de urina foi obtida por micção espontânea, quatro horas após a alimentação dos animais, coletando-se 10 mL de urina, e adicionados 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N. Da amostra *spot* foi determinada a concentração de alantoína a partir dos métodos colorimétricos descritos por Chen & Gomes (1992), e a concentração de ácido úrico e de creatinina a partir de “kits” comerciais (Labtest<sup>®</sup>). O volume urinário foi determinado a partir da concentração de creatinina na urina, considerando-se uma excreção diária de 28,9 mg/kgPV/dia, observados por Valadares et al. (1999).

Os dados foram submetidos à análise de variância segundo o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + O_j + OM_{ij} + V_k + P_l + \rho_{ijkl},$$

onde  $Y_{ijkl}$  é a variável dependente,  $\mu$  é a média das observações,  $M_i$  é o  $i$ -ésimo efeito da monensina,  $O_j$  é o  $j$ -ésimo efeito do óleo,  $OM_{ij}$  é o  $ij$ -ésimo efeito da interação,  $V_k$  é o  $k$ -ésimo efeito da vaca,  $P_l$  é o  $l$ -ésimo efeito do período e  $\rho_{ijkl}$ , o erro experimental. Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa SAS (1999). A análise estatística das variáveis pH e N-NH<sub>3</sub> foi realizada a partir dos estudos de regressão e

comparação de médias, incluído no modelo os efeitos da regressão, tempos de coleta e da interação (tempo de coleta \* tratamentos).

## Resultados

A Tabela 2 apresenta os resultados médios dos consumos de MS e de FDN, em quilogramas e em relação ao peso vivo, o consumo de NDT e da produção de leite (PL). Não foi verificada interação entre óleo e monensina e efeito de monensina para estas variáveis ( $P>0,05$ ). A presença de óleo de soja na dieta reduziu o CMS, CMSP e CMSTM, em média, em 13,8%, o que concorda com as indicações do NRC (2001), em que a adição de lipídios pode limitar o consumo por efeitos sobre a fermentação ruminal ou efeitos de ordem metabólica.

Tabela 2 – Consumo de matéria seca por dia (CMS), por 100 kg de PV (CMSP) e por unidade de tamanho metabólico (CMSTM), teor e consumo de NDT (CNDT), consumo de FDN diário e por 100 kg de PV (CFDN e CFDNP) e a produção de leite (PL) de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina

Itens	Tratamentos				Desvio padrão	Efeitos Óleo		Óleo	
	mon (-) óleo (-)	mon (+) óleo (-)	mon (-) óleo (+)	mon (+) óleo (+)		P>F	DP	Sem	Com
CMS <sup>1</sup>	17,8	17,2	15,3	14,7	0,560	0,006	0,396	17,5 <sup>a</sup>	15,1 <sup>b</sup>
CMSP <sup>2</sup>	3,02	2,96	2,64	2,52	0,095	0,005	0,068	2,99 <sup>a</sup>	2,58 <sup>b</sup>
CMSTM <sup>3</sup>	0,149	0,145	0,130	0,124	0,005	0,003	0,003	0,147 <sup>a</sup>	0,127 <sup>b</sup>
NDT <sup>3</sup>	66,2	67,5	76,0	74,0	1,057	0,0002	0,075	66,7	75,3
CNDT <sup>1</sup>	11,76	11,56	11,83	10,94	0,327	ns	-	-	-
CFDN <sup>1</sup>	6,55	6,49	5,54	5,19	0,192	0,001	0,135	6,52 <sup>a</sup>	5,37 <sup>b</sup>
CFDNP <sup>2</sup>	1,114	1,113	0,936	0,886	0,036	0,013	0,025	1,114 <sup>a</sup>	0,911 <sup>b</sup>
PL <sup>1</sup>	22,4	22,5	20,3	19,2	0,596	0,0042	0,421	22,4 <sup>a</sup>	19,8 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> em kg/dia; <sup>2</sup> em kg/100 kg PV; <sup>3</sup> em kg/PV<sup>0,75</sup>; <sup>3</sup> NDT=(CNDT/CMS), em %

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey ( $P<0,05$ ); ns – não significativo ( $P>0,05$ )

Ainda na Tabela 2, verifica-se que o consumo de NDT não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos, embora a combinação de óleo de soja e de monensina tenha

propiciado um consumo de NDT 6,97% menor em relação à ausência destes ingredientes. A adição de lipídios inibiu o CFDN e CFDNP em 18,7 e 18,3%, respectivamente. Da mesma forma, a produção de leite foi reduzida em 11,6% pela presença de óleo.

A Tabela 3 apresenta as médias das digestibilidades aparentes totais e parciais da MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e CHO. Os diferentes indicadores utilizados não diferiram entre si para a estimativa da produção fecal, sendo de 4,77 e 4,75 kg/dia (DP = 0,172; P=0,9415) para Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e FDAi, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os observados por Rennó (2003) e Ítavo (2001), que recomendam o FDAi como um adequado indicador para estimar o fluxo de matéria seca no abomaso e nas fezes. Desta forma, os resultados observados para digestibilidade aparente total e ruminal, expressos na Tabela 3, foram obtidos utilizando-se FDAi como indicador interno.

A digestibilidade aparente total não foi influenciada pelo óleo de soja ou pela monensina, também não foi observada interação significativa entre estes tratamentos (P>0,05) para as digestibilidades aparentes da MS, MO, FDN, CNF e CHO. Observou-se efeito de óleo (P=0,0006) para a digestibilidade aparente total do EE, sendo maior na presença de óleo de soja (86,18 vs. 77,06%; DP=1,06). Embora a técnica de estimativa dos ácidos graxos pela extração em éter seja imprecisa, pois há a contaminação de outras substâncias solúveis em éter, como ceras e pigmentos (Van Soest, 1994), a maior digestibilidade verificada na presença de óleo pode ser atribuída ao efeito de diluição destas substâncias e à maior digestibilidade dos ácidos graxos pela ação do ácido oléico ao solubilizar os sabões de cálcio da digesta, auxiliando os sais biliares na formação da micela (Palmquist, 1994).

A digestibilidade aparente ruminal da MS, MO, PB, EE e CHO não foi influenciada pelos tratamentos. A digestibilidade ruminal dos CNF foi maior na

presença de óleo de soja (86,96 vs. 72,63%; DP=2,03), indicando que este aumenta a digestão ruminal dos CNF no rúmen e nas dietas que não contém óleo, proporcionalmente há maior digestão intestinal deste nutriente, possivelmente em função do maior CMS.

Tabela 3 – Valores médios da digestibilidade aparente total e ruminal da matéria seca (MS), matéria orgânica, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), FDN, carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos totais (CHO) das dietas de vacas alimentadas com a combinação de óleo e monensina

Variáveis	Tratamentos				Desvio padrão
	mon (-) óleo (-)	mon (+) óleo (-)	mon (-) óleo (+)	mon (+) óleo (+)	
----- Digestibilidade total, % -----					
MS	69,87	71,75	72,34	70,02	1,26
MO	70,71	72,09	73,60	71,37	1,17
PB	74,26	76,35	76,83	75,90	0,78
EE <sup>3</sup>	75,35	78,77	86,63	87,01	1,50
FDN	54,74	56,80	55,01	52,98	1,74
CNF	85,68	86,30	87,84	84,22	1,48
CHT	69,70	70,85	71,46	68,94	1,28
----- Digestibilidade ruminal, % <sup>1</sup> -----					
MS	41,00	44,56	43,66	41,43	1,61
MO	50,65	52,97	54,42	51,78	1,56
PB	30,82	31,79	31,86	32,01	2,24
EE	6,01	9,90	12,50	7,85	4,56
CNF <sup>4</sup>	70,93	74,34	81,59	80,32	2,92
CHT	50,48	53,05	53,48	51,68	1,14

<sup>1</sup>- % em função do total ingerido

<sup>2</sup> - interação mon\*óleo (P=0,0335)

<sup>3</sup>- efeito óleo (P=0,0006)

<sup>4</sup>- efeito óleo (P=0,0006)

Observou-se interação significativa (P=0,0335) entre óleo de soja e monensina sobre a digestibilidade da FDN no rúmen (Tabela 4), embora a digestibilidade total da FDN tenha sido similar entre os tratamentos, indicando haver compensação no restante do trato gastrointestinal na digestão da FDN (Bateman & Jenkins, 1998). A

digestibilidade ruminal da FDN não diferiu entre presença ou ausência de óleo quando não havia monensina na dieta. Quando na presença de monensina, o óleo de soja reduziu a digestibilidade ruminal da FDN de 45,71 para 39,75%. Nas dietas sem óleo, a monensina aumentou (43,68 vs 45,71%) e, por outro lado, nas dietas com óleo a monensina reduziu a digestibilidade da fibra (45,08 vs 39,75%).

Tabela 4 – Valores médios observados para a interação entre óleo de soja e monensina sobre a digestibilidade ruminal aparente da FDN

	Sem Monensina	Com Monensina
Sem Óleo	43,68 <sup>Aa</sup>	45,71 <sup>Ab</sup>
Com Óleo	45,08 <sup>Aa</sup>	39,75 <sup>Bb</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem, Tukey (P<0,05)

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

O pH ruminal não foi influenciado pela presença de monensina ou óleo na dieta, sendo 6,35 em média (Tabela 5). O modelo matemático que melhor descreveu o pH ruminal ao longo do dia foi:  $pH = 6,62 - 0,071T + 0,003T^2$ , onde T é o tempo após a alimentação da manhã, expresso em horas. Assim, o pH mínimo calculado foi de 6,2 para as 11,8 horas após a alimentação (Figura 1).

Observou-se interação significativa entre óleo e monensina sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen (P=0,048), e a distribuição diária das concentrações em relação ao tempo após a alimentação da manhã está representada na Figura 2. Na Tabela 6 são apresentadas as médias da concentração de nitrogênio amoniacal e a interação entre os tratamentos. O óleo de soja reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal tanto na ausência (12,30 vs 9,41 mg/dL) como na presença de monensina na dieta (11,66 vs 10,79 mg/dL). Por outro lado, enquanto a monensina reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal nas dietas sem óleo (12,30 vs 11,66 mg/dL), quando o óleo esteve presente, a concentração aumentou de 9,41 para 10,79 mg/dL.

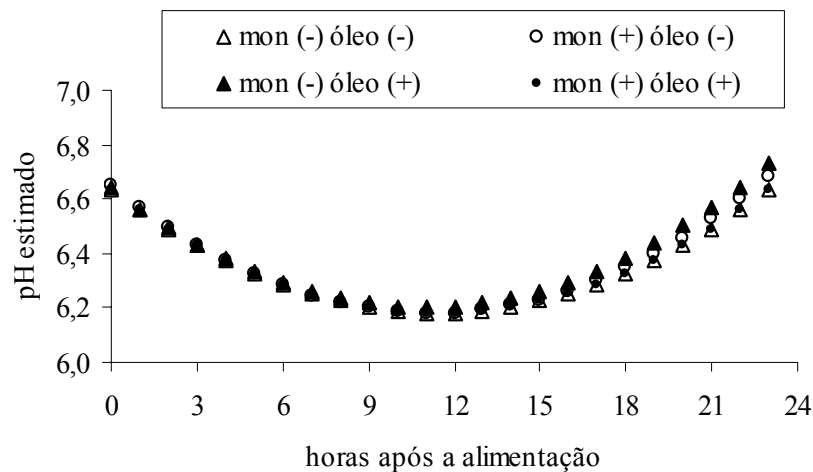


Figura 1 – Variação diária do pH ruminal em função do tempo (T, em horas) após a alimentação da manhã ( $\text{pH} = 6,62 - 0,071T + 0,003T^2$ ,  $\text{CV}=2,45$ ;  $r^2=0,4457$ )

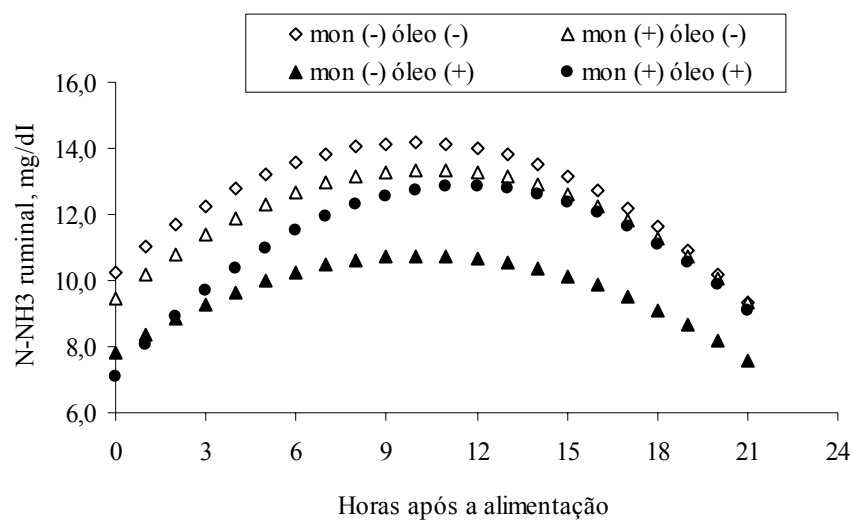


Figura 2 – Variação diária das concentrações ruminiais de  $\text{N-NH}_3$  em função do tempo após a alimentação da manhã (T, em horas)

$$\diamond \text{N-NH}_3 = 10,2619 - 0,7888T + 0,0397T^2, \text{ CV}=32,2; r^2=0,1632;$$

$$\triangle \text{N-NH}_3 = 9,4487 - 0,7517T + 0,0361T^2, \text{ CV}=26,8; r^2=0,2001;$$

$$\blacklozenge \text{N-NH}_3 = 7,8454 - 0,5651T + 0,0275T^2, \text{ CV}=34,5; r^2=0,1185;$$

$$\bullet \text{N-NH}_3 = 7,1142 - 0,9896T + 0,0426T^2, \text{ CV}=28,9; r^2=0,2835;$$

O total de AGV não foi influenciado pelos tratamentos, sendo de 99,43 mM em média (Tabela 5). Isoladamente, tanto óleo como monensina aumentaram as proporções molares de propionato e reduziram a relação acetato propionato (A:P). A proporção de butirato não foi influenciada pela monensina, mas foi reduzida na presença de óleo de soja. A proporção de acetato foi reduzida tanto pelo óleo como pela monensina e efeito

de interação entre os tratamentos foi verificado com  $P=0,1044$  (Tabela 6), onde isoladamente óleo e monensina reduziram a proporção de acetato, mas a monensina na presença de óleo não apresentou este efeito.

Tabela 6 – Médias observadas da interação entre óleo de soja e monensina sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen, proporção de acetato no total de AGV e síntese microbiana (Nmic)

	Sem Monensina	Com Monensina
	----- N-NH <sub>3</sub> , mg/dL -----	
Sem Óleo	12,30 <sup>Aa</sup>	11,66 <sup>Ab</sup>
Com Óleo	9,41 <sup>Ba</sup>	10,79 <sup>Bb</sup>
	----- Acetato, mMol % -----	
Sem Óleo	71,7 <sup>Aa</sup>	67,9 <sup>Ab</sup>
Com Óleo	69,4 <sup>Ba</sup>	67,7 <sup>Ab</sup>
	----- Nmic, g/dia -----	
Sem Óleo	231,9 <sup>Aa</sup>	227,1 <sup>Aa</sup>
Com Óleo	203,1 <sup>Ba</sup>	178,6 <sup>Bb</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem, Tukey ( $P<0,05$ )

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey ( $P<0,05$ )

A síntese de nitrogênio microbiano foi influenciada pela monensina ( $P=0,0302$ ), pelo óleo ( $P=0,0005$ ) e a interação entre estes tratamentos ( $P=0,1016$ ), apresentados nas Tabelas 5 e 6. Na interação, a presença de óleo inibiu a síntese microbiana tanto nas dietas com (227,1 vs 178,6 g/dia) ou sem monensina (231,9 vs 203,1). Nas dietas sem óleo, a síntese microbiana não foi influenciada pela monensina, mas nas dietas com óleo, a síntese foi reduzida de 203,1 para 178,6 g/dia quando na presença de monensina.

Embora os tratamentos tenham influenciado o crescimento e síntese de nitrogênio microbiano, a eficiência de síntese microbiana (EfSM), expressa em gramas de nitrogênio por unidade de matéria orgânica degradada no rúmen (g N/kg MODR) não foi influenciada pelos tratamentos, observando-se em média de 24,89 g N/kg MODR.

Tabela 5 – Efeitos de dietas contendo a combinação de monensina e óleo de soja sobre o pH ruminal, a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e de ácidos graxos voláteis (AGV) no líquido de rúmen, proporção molar de acetato (A), propionato (P) e butirato (B), e relação acetato:propionato no total de AGV, síntese de nitrogênio microbiano (NMic) e eficiência de síntese microbiana (EfSM)

Item	Tratamentos				DPM <sup>1</sup>	Efeitos (P>F)			Monensina <sup>1</sup>		Óleo <sup>1</sup>	
	mon (-) óleo (-)	mon (+) óleo (-)	mon (-) óleo (+)	mon (+) óleo (+)		Mon	Óleo	M*O	Sem	Com	Sem	Com
pH	6,34	6,35	6,38	6,35		ns	ns	ns	-	-	-	-
N-NH <sub>3</sub> , mg/dL	12,30	11,66	9,41	10,79	0,512	ns	0,0003	0,048	-	-	-	-
AGV, mM	106,6	97,8	100,5	92,8	7,663	ns	ns	ns	-	-	-	-
	Proporção molar de ácidos graxos, mMol %								-	-	-	-
Acetato (A)	71,7	67,9	69,4	67,7	0,573	0,0033	0,0670	0,104	-	-	-	-
Propionato (P)	22,4	25,5	25,3	26,8	0,834	0,0337	0,0430	ns	23,8 <sup>A</sup>	26,1 <sup>B</sup>	23,9 <sup>a</sup>	26,0 <sup>b</sup>
Butirato	5,90	6,60	5,32	5,46	0,318	ns	0,0356	ns	-	-	6,25 <sup>a</sup>	5,39 <sup>b</sup>
Rel. A:P	3,21	2,70	2,79	2,56	0,103	0,0115	0,0338	ns	3,00 <sup>A</sup>	2,63 <sup>B</sup>	2,96 <sup>a</sup>	2,68 <sup>b</sup>
	Síntese microbiana											
NMic, g/dia	231,9	227,1	203,1	178,6	4,534	0,0302	0,0005	0,102	-	-	-	-
EfSM, g N/kg MODR	25,9	26,0	24,2	25,4	0,918	ns	ns	ns	-	-	-	-

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05); <sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05); <sup>1</sup> DPM – desvio padrão da média

## Discussão

O consumo de matéria seca nas diferentes formas de expressão decresceu na presença de óleo de soja (Tabela 2), o que concorda com as afirmações de Allen (2000). A literatura tem abordado as limitações do consumo sob o ponto de vista de diferentes teorias e são resultados de complexas relações entre a dieta, o animal e as condições de alimentação e clima (Mertens, 1994).

As teorias existentes baseiam-se no enchimento do retículo-rúmen (Mertens, 1994), fatores de regulação metabólica (Illius e Jessop, 1996) e consumo de oxigênio (Ketelaars & Tolkamp, 1996), entre outras. Isoladamente, uma única teoria não explica todas as variações possíveis sobre o consumo, assim, o NRC (2001) sugere que em muitas situações há um estímulo aditivo que regula o consumo voluntário.

O consumo de CFDNP (média de 1,11 kg FDN/100 kg PV, Tabela 2) nas dietas que não continham óleo aproximou-se do consumo máximo de FDN de 1,2% do PV, valores sugeridos por Mertens (1994) para que vacas lactantes apresentem consumo ótimo de MS.

A presença de óleo elevou a concentração de NDT das dietas (75,30 vs 66,7%) o que fez com que, apesar da redução no consumo, a quantidade de NDT ingerida fosse semelhante entre os tratamentos. Poderia ser sugerido que o consumo das dietas contendo óleo tivesse sido limitado pelo incremento energético do óleo, associado ao baixo CFDNP (0,911 kg FDN/100 kg PV), o que segundo Mertens (1994), caracterizaria a regulação fisiológica. No entanto, a produção de leite com as dietas contendo óleo foi menor (22,4 vs 19,8 kg/dia), indicando um menor aporte de nutrientes na glândula mamária ou o direcionamento destes para outras funções metabólicas. Neste sentido, Illius & Jessop (1996) indicam que o desequilíbrio de nutrientes pode limitar o

consumo, sendo caracterizado como a assincronia de nutrientes à microbiota ruminal ou nos tecidos, em relação aos nutrientes absorvidos e metabolizados.

Os principais efeitos da adição de óleo sobre a redução do consumo estão relacionados à alteração da fermentação ruminal (Palmquist, 1994). A redução da digestibilidade da fibra no rúmen implica em um maior enchimento ruminal, aumentando o tempo de retenção da FDN no rúmen. Com exceção do EE, os tratamentos não influenciaram a digestibilidade total dos nutrientes (Tabela 3). Entretanto, as diferentes combinações de monensina e óleo de soja apresentaram comportamento diferente sobre a digestibilidade ruminal da FDN.

Nas dietas sem óleo, a monensina estimulou a digestão da fibra, e poucos trabalhos na literatura têm reportado este efeito (Shelling, 1984), podendo ser explicado pela redução das contrações ruminais na presença de monensina, aumentando o tempo de retenção (Russel & Strobel, 1989), e a ação do ionóforo sobre o controle de lactato no rúmen (Nagaraja et al., 1997). A simples presença de óleo não interferiu na fermentação da fibra em relação à monensina, o que concorda com os resultados de Bateman & Jenkins (1998), que avaliaram a inclusão de até 8% de óleo de soja em dietas contendo 50% de volumoso.

A maior redução na digestibilidade ruminal da FDN observada na combinação de óleo e monensina sugere um efeito direto sobre a população celulolítica ou sua atividade (Cant et al., 1997). Enquanto muitas das bactérias celulolíticas são sensíveis à monensina (Shelling, 1984), a digestibilidade ruminal da FDN na presença do ionóforo não é inibida, sendo proposto que uma população celulolítica diferenciada, isto é, selecionada pela capacidade de resistência ou tolerância à monensina, consegue manter a atividade celulolítica no rúmen (Russel & Strobel, 1989). Cant et al. (1997) e Clary et al. (1993) observaram que a presença de gordura aumentou a tolerância da população

microbiana ao ionóforo e este mesmo mecanismo foi também sugerido por Lana & Russel (1996) ao observarem a depleção do potássio intracelular em experimentos *in vitro*.

Não foi verificado efeito de óleo ou monensina sobre o pH ruminal (Figura 1), o que concorda com as observações de Nagaraja et al. (1997). No entanto, o tempo em que o pH apresentou-se baixo pode ter influenciado a digestibilidade da fibra. A partir das equações de regressão de cada tratamento, calculou-se o tempo em que o pH permaneceu abaixo de 6,2, sendo de: 4,8; 5,1; 1,7 e 5,7 horas, respectivamente para as dietas: óleo e monensina ausentes, presença de monensina, presença de óleo e combinação óleo e monensina. De acordo com de Veth et al. (2001), a digestibilidade da FDN é reduzida quando o pH ruminal permanece quatro horas em valores abaixo de 6,0 e a síntese microbiana é reduzida quando o pH permanece 12 horas abaixo deste valor. Isto indica que não somente a média do pH é importante, mas as flutuações diárias deste influenciam a atividade microbiana.

O maior tempo verificado com pH menor que 6,2 na combinação de óleo e monensina pode indicar um maior efeito sobre a população de protozoários, já que estes regulam o pH ruminal à medida que engolfam grânulos de amido, reduzindo a quantidade de substrato para a fermentação (Nagaraja et al., 1997). A literatura reporta efeito defaunatório quando gorduras insaturadas são adicionadas às dietas, principalmente aquelas ricas em linoléico e linolênico (Doreau & Chilliard, 1997).

Doreau & Ferlay (1995) reportam que uma característica principal da defaunação é a diminuição da concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen, devido à redução da atividade proteolítica dos protozoários. A interação observada para N-NH<sub>3</sub> entre óleo e monensina (P= 0,0048) indica o efeito defaunatório do óleo, mas a maior concentração de N-NH<sub>3</sub> quando este foi associado à monensina (9,41 vs 10,79 g/dL) pode indicar o menor

aproveitamento do nitrogênio amoniacal pelas bactérias celulolíticas (Tabela 6 e Figura 2) e à redução da síntese microbiana em relação à dieta com óleo somente.

A eficiência de síntese microbiana (EfSM, Tabela 6) não foi afetada pelos tratamentos, entretanto, a síntese microbiana (Nmic) apresentou interação entre óleo e monensina ( $P=0,104$ ). A presença de óleo reduziu a síntese microbiana, e quando associado à monensina, a síntese foi ainda mais reduzida, indicando um efeito sinérgico negativo entre a gordura e o ionóforo. A diferença na síntese microbiana na presença de óleo pode ser explicada pela substituição de carboidratos fermentáveis no concentrado para a inclusão do óleo (Nagaraja et al., 1997), além disso, deve ser considerado o efeito direto do óleo sobre a permeabilidade da membrana microbiana, que prejudica o funcionamento da célula e, portanto, reduz a síntese protéica (Doreau & Ferlay, 1995). Possivelmente, o efeito defaunatório do óleo permitiu valores de EfSM similares entre os tratamentos, à medida que, havendo diminuição no número de protozoários provavelmente há aumento do número de células bacterianas, devido à redução da predação de bactérias pelos protozoários (Jenkins, 1993).

A concentração de AGV no líquido ruminal não foi afetada pelos tratamentos, entretanto, a proporção molar dos produtos finais de fermentação foi alterada, indicando alteração na população microbiana (Tabela 5). A proporção molar de acetato foi reduzida na presença de monensina ou de óleo, com maior magnitude de depressão para a monensina (Tabela 6). A associação de óleo e monensina diminuiu a concentração de acetato em relação ao óleo, mas não diferiu da monensina, sugerindo que a população microbiana sensível à monensina não é a mesma daquela sensível ao óleo de soja, ou também, que a microbiota ruminal apresente diferentes graus de sensibilidade em relação ao ionóforo ou ao óleo de soja. Resultados semelhantes foram observados por Zinn (1988) utilizando graxa amarela e monensina.

Isoladamente, óleo e monensina aumentaram a proporção molar de propionato e diminuíram a relação acetato:propionato (Tabela 5). A proporção molar de butirato foi reduzida na presença de óleo, o que indica redução no número ou na atividade de protozoários, sugerindo novamente efeito defaunatório (Nagaraja et al., 1997). Os valores observados para butirato estão próximos aos de Ikwuegbu & Sutton (1982) quando verificaram efeito linear para a inclusão de até 40 mL/dia de óleo de linhaça na dieta de ovinos.

Enquanto a proporção molar de propionato aumentou às custas de acetato, quando na presença de monensina, o propionato aumentou tanto pela diminuição de acetato como de butirato na presença de óleo de soja. Clary et al. (1993), citando Richardson et al. (1976) relatam que a energia bruta disponível ao animal aumentou em 5,6% quando a relação entre acetato, propionato e butirato alterou de 60:30:10 para 52:40:8, embora estas alterações nos produtos finais da fermentação nem sempre representem maior desempenho animal. Neste sentido, a associação de óleo e monensina, embora tenha alterado a proporção entre os AGV, reduziu a produção de leite, sugerindo com isto, que houve efeito sinérgico negativo, concordando com as afirmações de Illius & Jessop (1996) a respeito do desequilíbrio de nutrientes.

O consumo de matéria seca é determinado pelo conjunto de informações e sinais enviados aos centros da saciedade do cérebro (Allen, 2000). Este autor sugere que o propionato apresenta efeito supressor sobre o consumo, à medida que estimula a síntese e liberação de insulina no sangue, observando ainda que os hepatócitos de ruminantes apresentam alta atividade de propionil-CoA sintetase e baixa de acetil-CoA sintetase, o que poderia explicar a falta de resposta no consumo quando acetato foi infundido no sistema porta (Allen, 2000). No entanto, a modificação dos produtos finais da fermentação ruminal nas dietas com óleo, com aumento da proporção molar de

propionato, não é suficiente para justificar a redução do consumo, pois a ingestão de matéria seca não foi reduzida na dieta com monensina somente. Associado a isto, Bateman & Jenkins (1998) e Clary et al. (1993) não verificaram alteração na taxa de passagem de fluídos, taxa de *turnover* de fluidos ou na taxa de diluição, quando gordura foi adicionada à dieta.

Palmquist (1994) sugeriu que a depressão no consumo pode ser devido ao desbalanço de nutrientes utilizados no metabolismo ao invés do efeito sobre a digestibilidade da fibra ou ao atendimento das necessidades energéticas. Neste sentido, Shauff et al. (1992) observaram redução linear no consumo quando até 9,0% de gordura foi suplementada na forma de sabões de cálcio, não interferindo sobre os padrões de fermentação ruminal ou sobre a digestibilidade da FDN. Para Palmquist (1994), nos níveis intermediários de suplementação (3-6%), a redução no consumo seria explicada pelo atendimento das exigências energéticas, enquanto nos níveis mais altos de suplementação com sabões de cálcio (9%) seria consequência do desbalanço. Poderia também ser explorado que estes sabões podem ter se dissociado no rúmen, formando intermediários da bio-hidrogenação ruminal.

A redução do consumo de dietas ricas em gordura tem sido atribuída a fatores metabólicos envolvidos, como o estímulo à secreção de colecistoquinina (CCK), oxidação de ácidos graxos no fígado e a síntese intestinal da apolipoproteína A-IV, relacionada como um sinalizador de saciedade em ratos. Embora alguns resultados tenham sido obtidos com monogástricos, é possível que estes efeitos ocorram em ruminantes (Palmquist, 1994).

Para Allen (2000), a proteção dos ácidos graxos à bio-hidrogenação ruminal pode afetar o consumo através do maior acesso ao duodeno de ácidos graxos insaturados, que seriam absorvidos e metabolizados mais rapidamente no fígado, estimulando a liberação

de CCK e de equivalentes redutores, que os ácidos graxos saturados resultantes da bio-hidrogenação ruminal.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com as observações de Allen (2000), pois utilizando tratamentos semelhantes e considerando que o perfil da gordura do leite seja similar ao dos ácidos graxos absorvidos no duodeno, Eifert (2004, Capítulo 3) verificou aumentos nas proporções dos ácidos graxos insaturados e dos isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> do leite quando na presença de monensina e de óleo, sendo que o consumo foi reduzido como neste trabalho. Este autor também observou aumentos nas concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e redução no teor de gordura proporcional às concentrações deste ácido graxo. *Trans*-10 C<sub>18:1</sub> está envolvido com a redução do teor de gordura e inibição de enzimas chave na síntese *de novo*, e em altas concentrações, a produção de leite e o consumo é reduzido (Bell & Kennelly, 2003). Assim, Allen (2000) tem sugerido que ácidos graxos insaturados de cadeia longa e os isômeros gerados na bio-hidrogenação ruminal podem influenciar o consumo, sugerindo a realização de experimentos com infusão abomasal para observar os efeitos de isômeros puros C<sub>18:1</sub> e C<sub>18:2</sub> sobre o consumo de matéria seca.

### **Conclusões**

A fermentação ruminal é alterada quando monensina ou óleo de soja são adicionados nas dietas. A combinação destes dois aditivos aparentemente altera a população microbiana ou sua atividade de forma diferente que quando óleo ou monensina são utilizados em separado, mostrando efeitos inibitórios sobre a fermentação da fibra.

A limitação no consumo pelo efeito de enchimento ruminal, a partir da redução da digestibilidade da FDN, ou a limitação do consumo pelo incremento energético, não justificam sozinhos a redução no consumo de matéria seca nas dietas com óleo, indicando que fatores metabólicos podem estar envolvidos.

## Literatura citada

- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1598–1624, 2000.
- BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2451–2458, 1998.
- BELL, J.A.; KENNELLY, J.J. Short communication: postruminal infusion of conjugated linoleic acids negatively impacts milk synthesis in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1321–1324, 2003.
- CANT, J.P.; FREDEEN, A.H.; MacINTYRE, T. et al. Effect of fish oil on milk composition in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, p. 125-131, 1997.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p. 130-2, 1962.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p., 1992.
- CLARY, E.M.; BRANDT JR., R.T.; HARMONT, D.L. et al. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3115-3123, 1993.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- de VETH, M.J.; KOLVER, E.S. Diurnal variation in pH Reduces Digestion and Synthesis of Microbial Protein when Pasture is Fermented in Continuous Culture. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.2066–2207, 2001.
- DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v.78, Suppl. 1, p. S15-S35, 1997.
- DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on the ruminal metabolism in the rumen: a review. **Livestock Production Science**, v. 43, p. 97-110, 1995.
- EIFERT, E.C. **Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- ÍTAVO, L.C.V. **Consumo, digestibilidade e eficiência microbiana de novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado, utilizando diferentes indicadores e períodos de coleta**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 100 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- ILLIUS, A.W.; JESSOP, N.S. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3052-3062, 1996.

- IKWUEGBU, O.A.; SUTTON, J.D. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 48, p. 365-375, 1982.
- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3851-3863, 1993.
- KETELAARS, J.J.H.M.; TOLKAMP, B.J. Oxygen efficiency and the control of energy flow in animals and humans. **Journal of Animal Science**, v. 74, 3036- 3051, 1996.
- LANA, R.P., RUSSELL, J.B. Use of potassium depletion on growth to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. **Applied Environmental Microbiology**, v.56, p.1588-1593, 1996.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte, MG:UFMG, 2002. 57 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C., (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. American Society of Agronomy. NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, 1994. p.450-493.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J., et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic & Professional, 2<sup>o</sup> edition, Great Britain. p.524-632, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: National Academy, 2001. 381p.
- PALMQUIST, D.L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. Conference: regulating lipids metabolism to increase productive efficiency. **Journal of Nutrition**, v. 124, p.1377S-1382S, 1994.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG:UFV, 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1–6, 1989.
- SAS / STAT. User's guide, Version 6.12 Fourth Edition, vol. 1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. February, 890 p., 1997.
- SHAUFF, D.J.; CLARK, J.H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2990-3002, 1992.
- SCHELLING, G.T. Monensin: mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1518-1527, 1984.
- SILVA, D.J, QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002. 235p.

- 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, p.3562-3577, 1992.
- SUKHIJA, P.S.; PALMQUIST, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 36, p. 1202-1206, 1988.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. **Journal of Dairy Science**, v.82,p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.
- ZINN, R.A. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with or without monensin. **Journal of Animal Science**, v.66, p.213-227, 1988.

## **Efeito da Combinação de Óleo de Soja e de Monensina na Dieta sobre a Produção e Composição do Leite de Vacas Lactantes**

**Resumo:** O trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de monensina sódica combinada com óleo de soja na dieta de vacas lactantes sobre o consumo, produção e composição do leite. Foram utilizadas 12 vacas multíparas cruzadas (7/8 Holandês Gir), com 45 dias em lactação e 557 kg de peso. Os animais foram dispostos em três quadrados latinos (4x4), em um arranjo fatorial do tipo 2x2 (presença ou ausência de monensina e presença ou ausência de óleo de soja). Os tratamentos consistiram de um tratamento controle (CT); adição de monensina a 33 ppm (MN); dieta com 4% de óleo de soja (OL) e a combinação de óleo e monensina (OM). Os animais foram confinados e alimentados duas vezes ao dia, com 53,1% de silagem de milho e 46,9% de concentrado. O consumo de matéria seca foi reduzido na presença de óleo (19,3 vs 17,1 kg/dia) e de monensina (18,8 vs 17,6 kg/dia), embora não tenha sido verificada interação significativa, a combinação de óleo e monensina reduziu o consumo em 20% em relação ao CT. O consumo de FDN e a síntese microbiana não foram influenciados por óleo ou por monensina, entretanto, o tratamento OM apresentou redução numérica da ordem de 23% para a produção de nitrogênio microbiano. As únicas interações observadas foram para o pH ruminal e produção de leite. A produção de leite não foi alterada pela monensina (25,8 kg/dia), mas diminuiu na presença de óleo (24,0 kg/dia), sendo que esta redução foi ainda maior na combinação óleo e monensina (23,2 kg/dia). Tanto óleo como monensina diminuíram os teores de gordura (3,41 vs 2,86% e 3,35 vs 2,92%) e sua produção (0,876 vs 0,718 kg/dia e 0,834 vs 0,718 kg/dia), e a produção de proteína do leite (0,764 vs 0,707 kg/dia e 0,746 vs 0,723 kg/dia). Em função da alteração da composição do leite, a concentração de energia no leite diferiu na presença de monensina ou na presença de óleo. A monensina aumentou em 6,5% a eficiência alimentar e a combinação de óleo e monensina, em 8,5%. Tanto óleo como monensina alteram a composição do leite e os maiores reflexos são observados quando estes dois ingredientes estão em conjunto na dieta, indicando que a monensina altera a população microbiana no sentido de formar *trans*-10 C<sub>18:1</sub> como intermediário da bio-hidrogenação e assim, reduz o teor de gordura do leite. A combinação de monensina e óleo de soja na dieta promoveu maior redução no consumo e na produção de leite que em dietas contendo estes ingredientes isoladamente.

Palavras-chave: ionóforos, lipídios, parâmetros ruminais, síntese microbiana

## Introdução

Um dos principais objetivos da pesquisa em nutrição animal é criar informações a respeito dos eventos dietéticos que permitam gerar produtos com rentabilidade econômica, que apresentem alta qualidade nutricional para a população e que não tenham efeitos negativos sobre a saúde animal, reprodução e ao ambiente (Erasmus et al., 1999).

Em relação às qualidades nutricionais, nos últimos anos parte da pesquisa tem direcionado sua atenção no sentido de manipular o perfil da gordura do leite, envolvendo a adição de lipídios na dieta e tentativas do controle da bio-hidrogenação no rúmen (Chilliard et al., 2000). Fatores que alteram a fermentação ruminal e a população microbiana no rúmen são as chaves no controle da bio-hidrogenação ruminal. Entretanto, a interação entre a composição da dieta e a utilização de aditivos pode acarretar em sinais que afetam o consumo e a produção de leite (Allen, 2000). Neste sentido, os efeitos da combinação entre ionóforos e lipídios insaturados no desempenho de vacas lactantes têm sido pouco estudados.

A monensina sódica é um aditivo alimentar que tem sido empregado com o objetivo de alterar os padrões de fermentação ruminal e aumentar a eficiência ou a taxa de ganho de peso em bovinos (Lana & Russell, 1997). A monensina inibe as bactérias gram-positivas, assim, a concentração ruminal de acetato, lactato e de amônia é reduzida, enquanto a concentração de propionato é aumentada. Associado a isto, há menor produção de metano, menor desaminação de proteína e aumento da digestibilidade, resultando em um incremento da eficiência energética (McGuffey et al., 2001).

Embora a alteração dos padrões de fermentação ruminal esteja bem definida (Erasmus et al., 1999), as respostas envolvendo os aspectos produtivos de vacas

lactantes tratadas com ionóforos são inconsistentes (Phipps et al., 1999). Para Ipharraguerre & Clark (2003), a falta de resposta em algumas situações é devido à interação do ionóforo com fatores como a fase de lactação, estado corporal do animal e diferentes situações dietéticas, além do tipo de ionóforo avaliado. Mesmo que os autores ainda sugiram mais estudos com ionóforos, estes indicam que em dietas ricas em volumoso pode-se esperar menor redução no consumo e maior incremento na produção de leite (9,4%) que nas dietas ricas em concentrado, onde o consumo não é alterado e a produção de leite aumenta somente em 1,5%, embora as respostas na produção sejam dependentes da fase de lactação em que se inicia o tratamento (Van Der Werf et al., 1999).

Óleos insaturados também inibem as bactérias gram-positivas e produzem alterações no modelo de fermentação ruminal semelhante aos ionóforos em vários aspectos (Nagaraja et al., 1997). Para o NRC (2001), a resposta para a suplementação com gordura em relação à produção de leite é curvilínea, reduzindo à medida que mais gordura é adicionada à dieta, sendo ainda dependente do grau de insaturação da gordura (Clary et al., 1993). Grummer (1994) sumarizou experimentos com diferentes fontes de gorduras e concluiu que o incremento na produção de leite de vacas suplementadas com óleos vegetais foi menor (0,1 kg/dia) que quando alimentadas com gordura animal (1,0 kg/dia). A modificação da fermentação ruminal está relacionada com interferências na digestibilidade ruminal da fibra e redução no consumo (Jenkins, 1993). Conseqüentemente, apesar de aumentar a concentração energética da dieta com a inclusão de gorduras, o consumo total de energia pode ser reduzido (Clary et al., 1993).

Estudos envolvendo a combinação de ionóforos e óleos vegetais para vacas leiteiras são raros. Johnson et al. (1988) observaram que a inclusão simultânea de amendoim em grão, como fonte de lipídios, e lasalocida na dieta reduziram o consumo

em 21% em relação ao tratamento com gordura somente. Ambos, lasalocida e gordura reduziram o consumo em 8,6%, sendo difícil para estes autores determinarem qual o tratamento apresentou maior efeito sobre o consumo. Cant et al. (1997) observaram que monensina e óleo de peixe apresentaram interação sobre o consumo. Monensina e óleo de peixe reduziram a ingestão alimentar e sua combinação reduziu ainda mais o consumo, indicando haver efeito sinérgico negativo. Os autores não observaram diferenças significativas na produção de leite, embora monensina e óleo de peixe em conjunto tenham apresentado valor numericamente menor. A redução no consumo e a manutenção da produção indicam que esta combinação pode acarretar em maior eficiência alimentar, embora Lana & Fox (2001) tenham verificado que a combinação de óleo e monensina reduziram a eficiência alimentar em bovinos de corte.

Isoladamente, monensina (Ipharraguerre & Clark, 2003) e gorduras vegetais (Chilliard et al., 2000) alteram a composição do leite, principalmente teor de gordura e de proteína. Enquanto a produção de gordura e proteína não é influenciada pela monensina por um efeito de diluição em relação à produção de leite (Ipharraguerre & Clark, 2003), óleos vegetais reduzem a produção de gordura por efeitos metabólicos associados (Griinari et al., 1998).

Em função da falta de trabalhos envolvendo óleos vegetais combinados com ionóforos, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da associação de monensina e óleo de soja sobre o consumo, produção e composição do leite de vacas lactantes.

### **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco – EMBRAPA Gado de Leite, no período entre maio e junho de 2002. As análises

laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizadas 12 vacas  $\frac{7}{8}$  Holandês-Gir, multíparas, com 45 dias em lactação, com peso médio de 557 kg, sendo quatro vacas fistuladas no rúmen. Os animais foram dispostos em três quadrados latinos (4x4), em um arranjo fatorial 2x2: presença ou não de monensina sódica (33 ppm) e presença ou não de óleo de soja (4,0%). Os tratamentos estão assim denominados: a) dieta controle: sem óleo e sem monensina (CT); b) sem óleo, com monensina (MN); c) com óleo, sem monensina (OL); d) com óleo, com monensina (OM).

As dietas foram formuladas para atender ou exceder as recomendações do NRC (2001) para vacas produzindo acima de 25 kg de leite ao dia. A proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica estão apresentadas na Tabela 1. Em média, a alimentação foi composta por 53,1% de silagem de milho e 46,9% de concentrado, e totalizaram 34,3% de FDN, 21,5% de FDA e 16,9% de PB. As dietas sem óleo continham 2,84% de EE e as dietas com óleo, 6,14%. O óleo de soja substituiu parcialmente o núcleo protéico energético do concentrado e, juntamente com a monensina sódica (Rumensin<sup>®</sup>, Elanco CO.), foram misturados ao concentrado.

Os animais foram mantidos confinados e alimentados duas vezes ao dia (08:00 h e 15:30 h) em igual proporção, sendo a alimentação fornecida individualmente em cochos com controle eletrônico individual, tipo “Calan Gate” (Calan Data Ranger<sup>®</sup>). As sobras foram pesadas e retiradas diariamente no período de coleta para formar uma amostra composta e imediatamente congelada para posterior análise. O nível de oferta foi ajustado para manter-se 10% de sobras. Os animais foram ordenhados às 05:00 e 15:00 horas diariamente.

O período experimental consistiu de 14 dias de adaptação à dieta e sete dias de coletas das amostras. No último dia do período de avaliação, foram realizadas coletas de líquido ruminal, de três em três horas até completarem o total de 24 horas, para a leitura do pH. Embora se tenham coletado amostras para a determinação de AGV e nitrogênio amoniacal, estas foram descartadas por problemas de armazenagem.

Tabela 1 – Ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingredientes <sup>1</sup>	Dietas	
	Sem óleo	Com óleo
	----- Ingredientes, % -----	
Silagem de milho	53,54	52,73
Concentrado	46,46	47,27
Núcleo energético protéico	44,74	41,27
Óleo de soja	-	3,76
Uréia	0,54	0,90
Sulfato de amônia	0,05	0,10
Sal comum	0,65	0,76
Calcário calcítico	0,12	0,11
Fosfato bicálcico	0,30	0,30
Suplemento mineral	0,08	0,07
	----- Composição química, % -----	
Proteína bruta	16,61	17,22
Extrato etéreo	2,84	6,14
FDN	34,64	33,96
FDA	21,73	21,27

<sup>1</sup> nos tratamentos com monensina sódica: adicionada a 33 ppm no concentrado

Nas amostras de silagem, concentrado e sobras foram determinados os teores de matéria seca (MS), cinzas, nitrogênio total (Kjehldal) e extrato etéreo (EE), de acordo com as metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25. Os teores de

fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos pelos métodos descritos por Van Soest et al. (1991), utilizando-se  $\alpha$ -amilase e sem a adição de sulfito de sódio na determinação do FDN.

A estimativa da síntese microbiana foi realizada a partir da quantificação dos derivados de purina excretados na urina e leite, de acordo com a metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003), considerando-se a absorção de purinas (Pabs) a partir da fórmula sugerida por Verbic et al. (1990):  $Pabs = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$ , onde X é excreção total dos derivados de purina. A amostra *spot* de urina foi obtida por micção espontânea quatro horas após a alimentação dos animais, coletando-se 10 mL de urina, e adicionados 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N. Da amostra *spot* foi determinada a concentração de alantoína a partir dos métodos colorimétricos descritos por Chen & Gomes (1992), e a concentração de ácido úrico e creatinina a partir de “kits” comerciais (Labtest®). O volume urinário foi determinado a partir da concentração de creatinina na urina, considerando-se uma excreção diária de 28,9 mg/kgPV/dia, observados por Valadares et al. (1999).

A produção leiteira foi medida diariamente e amostras do leite de dois dias de ordenha consecutivos foram retiradas para a avaliação da composição do leite. A composição do leite foi obtida no Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA Gado de Leite através da análise por espectrometria na faixa do infravermelho em um aparelho Bentley 2000. Para o cálculo da produção de leite corrigida para 3,5 % de gordura (Plcorr) utilizou-se a fórmula citada por Leiva et al. (2000),  $PL_{corr} = (12,82 * P_{gord}) + (7,13 * P_{ptn}) + (0,323 * PL)$ , onde: PL = produção de leite, kg/dia; P<sub>gord</sub> = produção de gordura, kg/dia e P<sub>ptn</sub> = produção de proteína, kg/dia. A partir da equação sugerida pelo AFRC (1993), calculou-se a concentração energética do leite,

conforme a fórmula: EL (Mcal/kg) = (0,0929\*G) + (0,0547\*PB) + (0,0395\*Lact), onde G, PB e Lac são as percentagens de gordura, proteína e lactose do leite.

Os dados foram submetidos à análise de variância segundo o modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + M_i + O_j + OM_{ij} + V_k + P_l + Q_m + \rho_{ijklm},$$

onde  $Y_{ijkl}$  é a variável dependente,  $\mu$  é a média das observações,  $M_i$  é o  $i$ -ésimo efeito da monensina,  $O_j$  é o  $j$ -ésimo efeito do óleo,  $OM_{ij}$  é o  $ij$ -ésimo efeito da interação,  $V_k$  é o  $k$ -ésimo efeito da vaca,  $P_l$  é o  $l$ -ésimo efeito do período,  $Q_m$  é o  $m$ -ésimo efeito do quadrado e  $\rho_{ijkl}$ , o erro experimental. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SAS (1999), utilizando o comando Prog GLM. Para a variável pH, foi realizada análise de comparação de médias e regressão, incluindo no modelo os efeitos do horário de coleta. Nas tabelas, os valores médios observados estão representados como a variação percentual em relação ao tratamento CT. Para a discussão dos resultados, adotou-se como 5 % o nível de significância.

## Resultados e discussão

Na Tabela 2 estão expressos os resultados observados e os efeitos de óleo e de monensina sobre o consumo de matéria seca, o consumo de FDN e a estimativa de síntese microbiana. Enquanto o consumo de FDN não foi afetado pelos tratamentos, os consumos diários de matéria seca (CMS), em relação ao peso vivo (CMSP) ou em relação ao tamanho metabólico (CMSTM) foram reduzidos tanto na presença de monensina como na presença de óleo. A monensina tem reduzido o consumo em outros trabalhos (Phipps et al., 2000; Lana & Fox, 2001). O menor consumo pode ser explicado pela redução nas perdas da fermentação ruminal, aumentos na disponibilidade

energética e maior tempo de retenção da fração sólida no rúmen (Ipharraguerre & Clark, 2003).

A diminuição no consumo em vacas lactantes pela inclusão de óleos vegetais tem sido observada, mas sua causa ainda não está bem estabelecida. Frequentemente a explicação é relacionada à interferência dos lipídios na fermentação ruminal, inibindo a atividade das bactérias celulolíticas (Nagaraja et al., 1997), conseqüentemente, aumentando o efeito de enchimento ruminal e reduzindo o consumo (Jenkins, 1993). Entretanto, Bateman & Jenkins (1998) indicam que a interferência sobre a fermentação ruminal é mínima em dietas com adequado nível de FDN, ao fornecerem até 8 % de óleo de soja para vacas.

Tabela 2 – Consumos diários de matéria seca e de FDN diário e produção de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina

Itens	Tratamentos <sup>x</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
CMS, kg/dia	19,8	-5,9	-11,9	-20,0	0,281	18,8 <sup>A</sup>	17,6 <sup>B</sup>	19,27 <sup>a</sup>	17,10 <sup>b</sup>
CMSP, % PV	3,57	-6,6	-10,5	-19,0	0,045	3,40 <sup>A</sup>	3,17 <sup>B</sup>	3,46 <sup>a</sup>	3,11 <sup>b</sup>
CMSTM, kg/ PV <sup>0,75</sup>	0,173	-6,1	-10,9	-19,3	0,002	0,164 <sup>A</sup>	0,154 <sup>B</sup>	0,168 <sup>a</sup>	0,150 <sup>b</sup>
CFDN, kg/dia	6,10	2,1	0,5	-5,0	0,234	6,12	6,01	6,17	5,97
CFDNP, % PV	1,11	0,0	0,0	-4,7	0,046	1,11	1,09	1,11	1,09
Nmic, g N/dia	228,2	-2,6	-6,6	-21,3	10,09	221,1	205,4	225,3 <sup>a</sup>	201,1 <sup>b</sup>

<sup>x</sup>CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina;

<sup>x</sup> variação percentual em relação ao tratamento CT

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

Isoladamente, a dieta contendo monensina (MN) reduziu em 5,9% o consumo em relação à dieta CT, o que concorda com os valores reportados nas revisões de McGuffey et al. (2001) e Ipharraguerre & Clark (2003). A dieta OL reduziu o consumo em 11,9%, mas na combinação de óleo e monensina houve efeito negativo ainda maior sobre o

consumo, reduzindo-o em 20%. Os efeitos combinados de gordura e ionóforo na redução do consumo têm sido reportados por Johnson et al. (1988) e Cant et al. (1997). Estes autores justificam que a gordura aumenta a sensibilidade das bactérias ruminais aos ionóforos, através de mecanismos de alteração da permeabilidade da membrana. No entanto, Eifert (2004, primeiro capítulo) conclui que a alteração na fermentação ruminal e a redução na digestibilidade ruminal da FDN nas dietas contendo OM não explicam totalmente a queda no consumo, pois o consumo diário de NDT não diferiu entre os tratamentos. Assim, possivelmente fatores relacionados ao metabolismo animal estejam envolvidos. Allen (2000) considera sobre a possibilidade da participação de alguns ácidos graxos intermediários da bio-hidrogenação ruminal.

Os efeitos observados dos tratamentos sobre o pH ruminal e na estimativa da síntese microbiana indicam alteração no padrão de fermentação ruminal. Enquanto a monensina não afetou a síntese microbiana, o óleo de soja reduziu a síntese de nitrogênio microbiano em 12%. Tendo sido observando ainda uma tendência de interação entre os tratamentos ( $P=0,1304$ ).

Freqüentemente, o fornecimento de óleos vegetais acarreta em aumentos na eficiência de síntese microbiana, não pelo aumento de energia fermentável no rúmen, mas pela menor predação devido ao efeito defaunatório do óleo (Dewhurst et al., 2000). Ao observarem-se as médias na Tabela 2, OL em relação à CT reduziu a síntese em 6,6%, enquanto no tratamento OM foi reduzida em 21,3%. Embora se desconheça o modo como óleos vegetais alteram a permeabilidade da membrana (Nagaraja et al., 1997), a monensina tem levado a um aumento do custo de manutenção das bactérias ruminais pela alteração do fluxo de íons (Dewhurst et al., 2000), assim, ainda que efeito defaunatório seja provável, as respostas possivelmente estejam relacionadas a efeitos aditivos diretos sobre as bactérias do rúmen.

Na Tabela 3 estão expressos os valores observados para a interação ( $P < 0,05$ ) entre óleo de soja e de monensina sobre o pH ruminal e na Figura 1 está a representação da variação do pH diário. A monensina permitiu pH mais elevado ao longo do dia quando na ausência de óleo (6,36 vs 6,25). Embora não seja característica marcante nas dietas suplementadas com lipídios, o pH foi maior na dieta na presença de óleo (6,32 vs 6,25), enquanto que na presença de monensina, o pH reduziu (6,36 vs 6,28).

Tabela 3 – Valores médios observados de pH ruminal para as dietas contendo óleo de soja e monensina

Óleo de soja	Monensina	
	0 ppm	33 ppm
0 %	6,25 <sup>Aa</sup>	6,36 <sup>Ab</sup>
4 %	6,32 <sup>Ba</sup>	6,28 <sup>Ba</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem, Tukey ( $P < 0,05$ )

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey ( $P < 0,05$ )

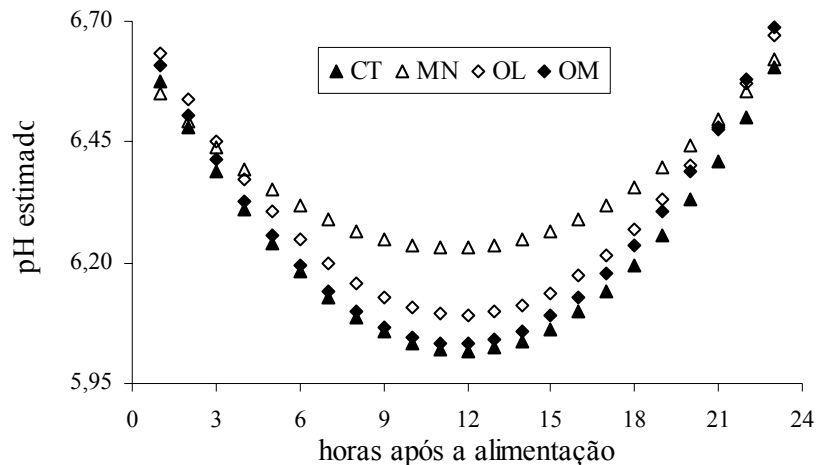


Figura 1 – Variação diária do pH ruminal em função da alimentação dos animais (t, em horas)

$$CT - pH = 6,84 - 0,1124t + 0,0047t^2; r^2 = 0,4950; cv = 3,64; P = 0,0001;$$

$$MN - pH = 6,62 - 0,0673t + 0,0029t^2; r^2 = 0,4055; cv = 2,42; P = 0,0007;$$

$$OL - pH = 6,74 - 0,1092t + 0,0046t^2; r^2 = 0,4961; cv = 3,48; P = 0,0001;$$

$$OM - pH = 6,72 - 0,1187t + 0,0051t^2; r^2 = 0,5372; cv = 3,47; P = 0,0001;$$

O maior pH verificado na dieta MN possivelmente seja devido ao controle das concentrações de lactato no rúmen (McGuffey et al., 2001), e talvez a sua combinação

ao óleo tenha afetado negativamente a população de *Selenomonas ruminantium* e de *Megasphaera elsdenii*, envolvidas na degradação do lactato, mantendo baixo o pH. A mesma variação diária do pH não foi observada por Eifert (2004, Capítulo 1) para os mesmos tratamentos, possivelmente em função dos animais estarem em diferentes fases de lactação, afetando o consumo.

No que se refere à produção de leite, observou-se interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre óleo e monensina (Tabela 4). A presença de monensina não alterou a produção de leite quando o óleo esteve ausente na dieta, sendo em média de 25,8 kg/dia. O óleo de soja reduziu a produção em 6,7% e quando a monensina foi associada ao óleo, a produção de leite diminuiu ainda mais, em 10,3%.

Tabela 4 – Valores médios observados para a interação entre óleo de soja e monensina sobre a produção de leite (em kg/dia)

Óleo de soja	Monensina	
	0 ppm	33 ppm
0 %	25,6 <sup>Aa</sup>	25,9 <sup>Aa</sup>
4 %	24,0 <sup>Ba</sup>	23,2 <sup>Bb</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem, Tukey ( $P < 0,05$ )

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey ( $P < 0,05$ )

A redução na produção de leite concorda com outras pesquisas em que óleos vegetais foram adicionados na dieta (Eastridge et al., 1988; Chilliard, 1993) e refletem a magnitude do consumo de matéria seca. O óleo também reduziu a concentração de lactose (Tabela 6), principal constituinte e determinante do volume do leite, o que reforça o efeito negativo do óleo sobre a produção de leite. O aumento na produção de leite do tratamento MN em relação ao CT foi de 1,2%, inferior aos reportados por Van Der Werf et al. (1999) e Phipps et al. (2000). A marcante redução na produção de leite do tratamento OM em relação ao CT (10,3%) são consistentes com as observações de

Johnson et al. (1988) e de Cant et al. (1997) ao combinarem gordura e ionóforos na dieta.

Tabela 5 –Produção de leite corrigida para gordura e proteína (PLcorr), concentração (EL) e secreção de energia líquida do leite (ELd), eficiência bruta alimentar (EfPL) e eficiência alimentar corrigida (EfPLc) de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina

Variável	Tratamentos <sup>x</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
Plcorr <sup>1</sup>	25,8	-6,6	-15,7	-26,5	0,445	24,0 <sup>A</sup>	22,3 <sup>B</sup>	25,0 <sup>a</sup>	21,3 <sup>b</sup>
EL <sup>2</sup>	0,697	-8,1	-10,3	-15,8	0,011	0,665 <sup>A</sup>	0,623 <sup>B</sup>	0,671 <sup>a</sup>	0,616 <sup>b</sup>
ELd <sup>3</sup>	17,8	-7,2	-17,1	-28,1	0,319	16,5 <sup>A</sup>	15,3 <sup>B</sup>	17,2 <sup>a</sup>	14,6 <sup>b</sup>
EfPL <sup>4</sup>	1,30	+6,5	+5,1	+8,5	0,024	1,33 <sup>A</sup>	1,40 <sup>B</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,39 <sup>b</sup>
EfPLc <sup>5</sup>	1,31	1,30	1,26	1,25	0,018	1,28	1,27	1,30 <sup>a</sup>	1,25 <sup>b</sup>

<sup>x</sup> variação percentual em relação ao tratamento CT;

<sup>x</sup>CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina;

<sup>1</sup> em kg/dia; <sup>2</sup> em Mcal/kg; <sup>3</sup> em Mcal/dia; <sup>4</sup> EfPL=PL/CMS; <sup>5</sup> EfPLc=PLcorr/CMS;

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05)

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05)

O aumento na eficiência bruta alimentar (EfPL) é uma das características da utilização da monensina (McGuffey et al., 2001), confirmando o aumento de 6,5 % no presente trabalho. Este efeito também foi verificado para as dietas contendo óleo, justificando-se não somente pela drástica redução no consumo, mas também pela maior eficiência de utilização da energia metabolizável dos ácidos graxos pelo animal (Chilliard, 1993). Entretanto, a eficiência alimentar tem sido questionada (McGuffey et al., 2001).

A produção de leite corrigida (PLc), o conteúdo de energia do leite (EL) e a excreção diária de energia no leite (ELd) foram reduzidos tanto pela monensina como pelo óleo de soja. Entretanto, a eficiência calculada a partir da produção de leite corrigido (PLcorr), ajustando os valores para a mesma base calórica, somente apresentou efeito para óleo, sendo este efeito negativo. Isto indica que houve um desvio da energia consumida, outrora para lactação, para outras atividades metabólicas nas

dietas com óleo. Para monensina, os efeitos sobre a produção e o consumo compensaram a menor densidade energética do leite, sugerindo um efeito de diluição (Ipharraguerre & Clark, 2003).

Tabela 6 –Produção e teores de gordura (G) e de proteína (P), relação proteína:gordura (RPG), teores de lactose (Lact) e de extrato seco (ES), e N-uréia do leite (NUR) de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina

Item	Tratamentos				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
G, %	3,68	-16,8	-21,5	-37,3	0,106	3,35 <sup>A</sup>	2,92 <sup>B</sup>	3,41 <sup>a</sup>	2,86 <sup>b</sup>
G, Kg/dia	0,937	-15,1	-28,2	-50,9	0,028	0,834 <sup>A</sup>	0,718 <sup>B</sup>	0,876 <sup>a</sup>	0,676 <sup>b</sup>
P, %	3,04	-3,8	-1,3	-0,7	0,041	3,02	2,97	2,99	3,01
P, Kg/dia	0,774	-2,7	-7,9	-11,2	0,010	0,746 <sup>A</sup>	0,723 <sup>B</sup>	0,764 <sup>a</sup>	0,707 <sup>b</sup>
RPG	0,83	+11,7	+17,8	+27,2	0,035	0,92 <sup>A</sup>	1,04 <sup>B</sup>	0,89 <sup>a</sup>	1,07 <sup>b</sup>
Lact, %	4,79	+1,4	-0,8	-1,1	0,031	4,77	4,80	4,82 <sup>a</sup>	4,74 <sup>b</sup>
ES, %	12,45	-5,2	-8,0	-8,9	0,143	11,99	11,63	12,14	11,48 <sup>b</sup>
NUR <sup>2</sup>	15,8	+4,8	+0,6	+1,9	0,895	15,8	16,4	16,2	16,0

<sup>1</sup> variação percentual em relação ao tratamento CT

<sup>1</sup>CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina;

<sup>2</sup> em mg/dL

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05)

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

Os tratamentos alteraram de forma marcante a composição do leite (Tabela 6), e o teor de gordura e sua produção foi o componente mais influenciado por óleo. Enquanto o teor de proteína foi similar para os tratamentos, a produção de proteína foi reduzida tanto pelo óleo e como monensina, porém, as reduções foram de 3,2 e 8,1 % respectivamente, para a monensina e o óleo, discordando das observações de Ipharraguerre & Clark (2003), onde a menor concentração de proteína do leite foi compensada por uma maior produção de leite. A redução na produção de proteína do leite dos tratamentos contendo óleo pode ter sido causada pela menor produção de leite destes tratamentos.

A concentração de N-uréia do leite não foi influenciada pelos tratamentos. Em função da drástica redução do conteúdo de gordura do leite, a relação proteína gordura

foi aumentada tanto pelo óleo como pela monensina, sendo o tratamento OM que apresentou o maior impacto (27,2%). O aumento desta relação tem sido fator importante para a indústria de laticínios e para regiões em que se utilizam cotas de gordura do leite. As dietas com óleo produziram leite com menor conteúdo de extrato seco, resultante da menor concentração de gordura.

Óleo e monensina reduziram o teor de gordura do leite e sua produção diária. Embora não tenha sido observada interação entre os tratamentos, as médias apresentadas na Tabela 6 mostram que a monensina na presença de óleo teve maior impacto sobre o teor de gordura (-37,3%). Isto está de acordo com as observações de Johnson et al. (1988) e de Cant et al. (1997), quando associaram gordura a ionóforos na dieta de vacas lactantes. A literatura tem reportado diminuição no teor de gordura do leite quando monensina ou lasalocida é fornecida à vacas lactantes (McGuffey et al., 2001; Ipharraguerre & Clark, 2003).

Recentemente, Jenkins et al. (2003) observaram em ensaios *in vitro*, que a monensina, promove um marcante aumento das concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> como principal intermediário da bio-hidrogenação ruminal, e o aparecimento deste ácido graxo é potencializado quando o óleo de soja é associado à monensina. Griinari et al. (1998) associaram este ácido graxo e seus correlatos à redução da gordura do leite, inibindo enzimas associadas com a síntese *de novo*, acetil CoA carboxilase e ácido graxo sintetase. Eifert (2004, Capítulo 3) observou que a combinação de óleo e monensina interagiram no sentido de aumentar a concentração de *trans* 10 C<sub>18:1</sub>, em nível mais que elevado que quando estes ingredientes foram fornecidos em separado, o que pode justificar, no presente trabalho, as diferentes magnitudes de redução de gordura do leite nas dietas MN, OL e OM.

Bell & Kennelly (2003) infundiram altas quantidades de CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> e verificaram que o teor de gordura, proteína, lactose e a produção de leite foram drasticamente afetados em relação a outras fontes de ácidos graxos adicionados no abomaso. Estes autores, frente aos resultados negativos sobre a composição e produção do leite, sugerem que altas doses de CLA sintético ou que a ocorrência deste ácido graxo ou seus correlatos no leite, podem induzir sinais de finalização da lactação no úbere. Da mesma forma, talvez esta possa ser uma explicação para a redução na produção de leite na dieta contendo óleo e monensina.

### **Conclusões**

Tanto óleo como monensina alteram a composição do leite e os maiores reflexos são observados quando estes dois ingredientes estão em conjunto na dieta.

A combinação de monensina e óleo de soja na dieta promovem maior redução no consumo e na produção de leite que em dietas contendo estes ingredientes isoladamente, resultando em maior eficiência alimentar.

## Literatura citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH (AFRC). **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford, U.K., CAB International. 1993.
- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1598–1624, 2000.
- BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2451–2458, 1998.
- BELL, J.A.; KENNELLY, J.J. Short communication: postruminal infusion of conjugated linoleic acids negatively impacts milk synthesis in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1321–1324, 2003.
- CANT, J.P.; FREDEEN, A.H.; MacINTYRE, T. et al. Effect of fish oil on milk composition in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, p. 125-131, 1997.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21 p., 1992.
- CHILLIARD, T. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3897-3931, 1993.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 181-205, 2000.
- CLARY, E.M.; BRANDT JR., R.T.; HARMONT, D.L. et al. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3115-3123, 1993.
- DEWHURST, R.J.; DAVIES, D.R.; MERRY, R.J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p. 1-21, 2000.
- EASTRIDGE, M.L.; CUNNINGHAM, M.D.; PATTERSON. J.A. Effect of dietary energy source and concentration on performance of dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2959-2971, 1988.
- EIFERT, E.C. **Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- ERASMUS, L.J.; SMITH, I.; MULLER, A. et al. Effects of lasalocid on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1817-1823, 1999.
- 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.

- IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p39-57, 2003.
- JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science**, v.86. p.324-330, 2003
- JENKINS, T.C. Feeding fats to dairy cattle. **Proceedings Dairy Herd management Conference**. University of Georgia, Athens, GA., p. 100-109, 1994.
- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3851-3863, 1993.
- JOHNSON, J.C. JR.; UTLEY, P.R.; MULLINIX, B.G. et al. Effects of adding fat and lasalocida to diets of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2151-2165, 1988.
- LANA, R.P.; FOX, D.G. Interações entre monensina sódica, óleo de soja e fontes de nitrogênio no desempenho de novilhos Aberdeen Angus em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 247-253, 2001.
- 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.
- LEIVA, E.; HALL, M.B.; Van HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as source of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v.83, p. 2866-2875, 2000.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, Suppl. E, p. E194-E203.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J., et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic & Professional, 2<sup>o</sup> edition, Great Britain. 1997, p. 524-632.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: National Academy, 2001. 381p.
- PALMQUIST, D.L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. Conference: regulating lipids metabolism to increase productive efficiency. **Journal of Nutrition**, v. 124, p.1377S-1382S, 1994.
- PHIPPS, R.H.; WILKINSON, J.I.D.; JONKER, L.J. et al. Effect of monensin on milk production of Holstein–Friesian dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2789–2794, 2000.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG:UFV, 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- SAS. SAS-STAT. **The SAS system for windows version 8.0**. Nashville: SAS Institut, 1999. CD-ROOM. 1999.

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002. 235p.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN DER WERF, J.H.J.; JONKER, L.J.; OLDENBROEK, J.K. Effect of monensin on milk production by Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p. 427-433, 1998.
- VAN HAMBURG, M.E. Effect of ionophores on growth and lactation in cattle. **Proceedings Cornell Nutrition Conference**, 1999, p. 93-103.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.

## Perfil de Ácidos Graxos e Conteúdo de CLA no Leite de Vacas Alimentadas com Dietas Contendo a Combinação de Óleo de Soja e Monensina

**Resumo:** O trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de monensina sódica combinada com óleo de soja na dieta de vacas lactantes sobre o perfil de ácidos graxos e conteúdo de CLA do leite. Foram utilizadas quatro vacas multíparas cruzadas (7/8 Holandês Gir), com 47 dias em lactação e 528 kg de peso. Os animais foram dispostos em um quadrado latino 4x4, em um arranjo fatorial do tipo 2x2 (presença ou ausência de monensina e presença ou ausência de óleo de soja). Os tratamentos consistiram de um tratamento sem monensina ou óleo, chamado controle (CT); com a adição de monensina a 33 ppm (MN); dieta com 4% de óleo de soja (OL) e a combinação de óleo e monensina (OM). Os animais foram confinados e alimentados duas vezes ao dia, com 53,1% de silagem de milho e 46,9% de concentrado. A análise cromatográfica indicou que mais de 97% dos ácidos graxos foram recuperados. Não foi verificada interação entre óleo de soja e monensina para os principais ácidos graxos (AG) avaliados. A monensina não influenciou os AG de cadeia curta, cadeia média ou cadeia longa, mas a presença de óleo reduziu os AG de cadeia curta (10,5 vs 6,81 g/100 g) e média (52,6 vs 35,2 g/100 g) e aumentou os AG de cadeia longa (34,03 vs 54,90 g/100 g). A monensina aumentou os AG insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados em 8,1, 4,2 e 32,7 %, respectivamente. O óleo apresentou maior impacto sobre estes AG, aumentando-os 41% em média. Todos os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> foram aumentados tanto pelo óleo como pela monensina (43,7 e 42,8%), exceto o *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, que não foi influenciado pelos tratamentos. Observou-se interação para os AG *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> e *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, onde as concentrações destes AG foram aumentadas tanto pelo óleo como pela monensina, mas a combinação destes indicou efeito aditivo. O teor de gordura do leite correlacionou-se negativamente com a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> (r=-0,7239; P=0,0015). Embora com diferenças numéricas (0,54 vs 0,80 g/100 g), o CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> não foi influenciado pelos tratamentos, e a atividade da  $\Delta^9$ -desaturase foi reduzida pelo óleo. Assim, sugere-se que os aumentos de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> inibem a síntese endógena de CLA e de AG de cadeia média e curta. Os efeitos mais drásticos sobre o perfil de AG do leite são observados quando a monensina e o óleo são fornecidos em conjunto na dieta de vacas lactantes.

Palavras-chave: ácidos graxos *trans*, bio-hidrogenação, ionóforos, síntese *de novo*.

## Introdução

Intensas pesquisas têm sido realizadas nos últimos anos envolvendo os ácidos graxos *trans* e o ácido linoléico conjugado (CLA) no leite. As razões incluem o conhecimento dos efeitos benéficos à saúde humana, como a prevenção do câncer, inibição da aterosclerose e modulação do sistema imune (Parodi, 1999). Também, as controvérsias a respeito dos efeitos provocados pelos isômeros *trans* do leite ou das margarinas hidrogenadas sobre aumentos das concentrações plasmáticas de LDL e redução de HDL em humanos (Precht & Molketin, 1996; Bessa et al., 2000). Do ponto de vista da nutrição animal, têm-se sugerido que o CLA e alguns isômeros *trans* desempenham papel importante na inibição da atividade de enzimas envolvidas com a síntese *de novo* e à redução do teor de gordura do leite (Griinari et al., 1998).

Os ruminantes produzem CLA de duas maneiras. Primeiro, bactérias ruminais produzem o CLA como o principal dieno na bio-hidrogenação do ácido linoléico. Segundo, o CLA *trans-9 cis-11 C<sub>18:2</sub>* pode ser sintetizado por via endógena através da ação da enzima  $\Delta^9$ -desaturase sobre o *trans-11 C<sub>18:1</sub>* nos tecidos da glândula mamária (Bauman et al., 1999). *Trans-11 C<sub>18:1</sub>* é um intermediário comum da bio-hidrogenação dos ácidos linoléico,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -linolênico (Chilliard et al., 2000). Como a velocidade de redução do CLA *trans-9 cis-11 C<sub>18:2</sub>* é alta, há um acúmulo de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* no rúmen (Harfoot & Hazlewood, 1997), sendo indicado em alguns estudos que a maioria do CLA depositado no leite seja decorrente da ação da  $\Delta^9$ -desaturase endógena sobre este ácido graxo absorvido (Corl et al., 2001).

Para Chilliard et al. (2000), os maiores aumentos nas concentrações de CLA são obtidos quando o ácido linoléico é fornecido na dieta. Eifert (2004, Capítulo 5) e Dhiman et al. (2000) observaram um aumento de 230 e 237 % no conteúdo de CLA do

leite quando 2,25 e 4,0% de óleo de soja foram adicionados na dieta, respectivamente. Embora sejam experimentos diferentes, a mesma resposta observada para níveis de óleo tão distintos indicam haver outros fatores que envolvem a bio-hidrogenação ruminal e o depósito de CLA no leite (Chilliard et al., 2000).

Aumentos nas concentrações dos isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> no duodeno podem aumentar a quantidade de substrato para a  $\Delta^9$ -desaturase (Bessa et al., 2000). Bateman & Jenkins (1998) observaram um aumento de *trans*-C<sub>18:1</sub> no conteúdo ruminal quando a dose de óleo de soja foi aumentada para até 8% da matéria seca, o que concorda com Fellner et al. (1995), que verificaram aumento na concentração de isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub>, redução na bio-hidrogenação e redução na formação de C<sub>18:0</sub> quando aumentaram o ácido linoléico em meio de cultura.

Em experimentos *in vitro*, a monensina tem propiciado aumentos na concentração de isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> e redução nas taxas de hidrólise dos ácidos graxos, assim como a velocidade e a extensão da bio-hidrogenação (Van Nevel & Demeyer, 1995). Fellner et al. (1997) observaram que a adição de ácido linoléico em cultura contínua aumentou o teor de CLA no total de ácidos graxos com concomitante acúmulo de isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> e os ionóforos monensina, nigericina e tetronasina triplicaram o efeito sobre a concentração de CLA.

São raros os trabalhos com ruminantes envolvendo simultaneamente monensina e fontes de lipídios e os resultados têm sido controversos. Por exemplo, embora não tenham estimado diretamente o CLA, Cant et al. (1997) somente observaram aumentos nos totais de C<sub>18:2</sub> (n-6) quando óleo de peixe esteve presente na dieta, não sendo afetado pela monensina. Por outro lado, efeitos aditivos sobre o conteúdo de CLA foram verificados entre a associação de farinha de peixe e de monensina (Dhiman et al., 1999).

Recentemente, Jenkins et al. (2003) observaram em fermentadores de fluxo contínuo, que a interação óleo de soja e monensina apresentou efeitos aditivos sobre todos os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub>, exceto *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, que mostrou resposta maior que os efeitos individuais dos tratamentos. Estes autores também observaram que a fonte de carboidrato da dieta influencia na bio-hidrogenação ruminal, verificando maiores efeitos sobre as concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, quando a cevada foi a fonte de carboidrato em relação ao milho.

Griinari et al. (1998) mostraram que uma incompleta bio-hidrogenação foi associada com alterações no ambiente ruminal provocado por dietas com baixa fibra e alto concentrado, verificando aumento proporcional na concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, sendo este AG associado com a redução no teor de gordura do leite.

As publicações acima citadas sugerem uma tendência de que a associação de monensina e óleos vegetais reduzam o teor de gordura do leite devido a alterações da população microbiana provocada pelo ionóforo e por óleo, além de possibilitar aumentos no CLA. Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o perfil de ácidos graxos, incluindo os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub>, e o conteúdo de CLA no leite de vacas alimentadas com a combinação de monensina e de óleo de soja na dieta.

### **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco – EMBRAPA Gado de Leite, no período entre maio e junho de 2002. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. As análises cromatográficas e o processo de transesterificação dos ácidos graxos do leite foram realizados no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da ESALQ-USP.

Foram utilizadas quatro vacas  $\frac{7}{8}$  Holandês-Gir, múltiparas, com 47 dias em lactação, com peso vivo médio de 528 kg. Os animais foram dispostos em três quadrados latinos 4x4, em um arranjo fatorial 2x2: presença ou não de monensina sódica (33 ppm) e presença ou não de óleo de soja (4,0%). Os tratamentos foram assim denominados: a) dieta controle: sem óleo e sem monensina (CT); b) sem óleo, com monensina (MN); c) com óleo, sem monensina (OL); d) com óleo, com monensina (OM) .

Tabela 1 – Ingredientes e composição química das dietas experimentais (em % da MS)

Itens <sup>1</sup>	Dietas	
	Sem óleo	Com óleo
	----- Ingredientes, % -----	
Volumoso	53,54	52,73
Concentrado	46,46	47,27
Núcleo energético protéico	44,74	41,27
Óleo de soja	-	3,76
Uréia	0,54	0,90
Sulfato de amônia	0,05	0,10
Sal comum	0,65	0,76
Calcário calcítico	0,12	0,11
Fosfato bicálcico	0,30	0,30
Suplemento mineral	0,08	0,07
	----- Composição química, % -----	
FDN	34,64	33,96
FDA	21,73	21,27
Proteína bruta	16,61	17,22
Extrato etéreo	2,84	6,14

<sup>1</sup> nos tratamentos com monensina sódica: adicionada a 33 ppm no concentrado

As dietas foram formuladas para atender as recomendações do NRC (2001) para vacas produzindo acima de 25 kg de leite ao dia. A proporção dos ingredientes e a

composição químico-bromatológica estão apresentadas na Tabela 1. Em média, a alimentação foi composta por 53,1% de silagem de milho e 46,9% de concentrado, e totalizaram 34,3% de FDN, 21,5% de FDA e 16,9% de PB. As dietas sem óleo continham 2,84% de EE e as dietas com óleo, 6,14%. O óleo de soja substituiu parcialmente o núcleo protéico energético do concentrado e, juntamente com a monensina sódica (Rumensin<sup>®</sup>, Elanco CO.), foram misturados ao concentrado. A composição dos ácidos graxos das dietas está presente na Tabela 2.

Tabela 2 –Composição dos ácidos graxos das dietas experimentais, em g/100 g

Ácidos graxos	Silagem de milho <sup>1</sup>	Concentrado		Dietas	
		Sem óleo	Com óleo	Sem óleo	Com óleo
C <sub>12:0</sub>	4,56	0,01	0,02	2,45	2,41
C <sub>14:0</sub>	0,45	0,06	0,10	0,27	0,28
C <sub>16:0</sub>	15,63	15,26	11,92	15,46	13,88
C <sub>16:1</sub>	0,6	0,10	0,01	0,37	0,32
C <sub>18:0</sub>	2,83	2,34	2,96	2,60	2,89
C <sub>18:1</sub>	17,81	23,50	22,83	20,45	20,18
C <sub>18:2</sub>	49,75	43,11	50,96	46,47	50,32
C <sub>18:3</sub>	2,06	2,18	4,39	2,12	3,16
outros	11,32	13,51	6,93	12,34	9,24

<sup>1</sup> adaptado de Bremmer et al. (1998)

O período experimental consistiu de 14 dias de adaptação à dieta e sete dias de coletas das amostras. Os animais foram mantidos confinados e alimentados duas vezes ao dia (08:00 h e 15:30 h) em igual proporção, sendo a alimentação fornecida individualmente em cochos com controle eletrônico individual, tipo “Calan Gate” (Calan Data Ranger<sup>®</sup>). As sobras foram pesadas e retiradas diariamente no período de coleta para formar uma amostra composta e imediatamente congelada para posterior análise. O nível de oferta foi ajustado para manter-se 10% de sobras. Os animais foram ordenhados às 05:00 e 15:00 horas diariamente.

A produção de leite foi medida diariamente durante o período de coletas e amostras do leite de dois dias de ordenha consecutivos foram retiradas para a avaliação da composição do leite. A composição do leite foi obtida no Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA Gado de Leite através da análise por espectrometria do infravermelho em um aparelho Bentley 2000.

Uma alíquota de 2% da produção de leite foi retirada e congelada para a posterior análise do perfil de ácidos graxos do leite. A extração da gordura foi baseada no método descrito por Nourooz-Zadeh & Appelqvist (1988). Para tal, 17 mL de leite (em duplicata) foram transferidos para um funil de separação, com acréscimo de 30 ml de isopropanol. Após agitação, foram acrescentados 22,5 ml de hexano, agitado por mais três minutos. A mistura foi centrifugada a 2520 g por 5 minutos na temperatura de 5°C. A camada superior foi transferida para outro funil de separação. A camada inferior foi extraída mais duas vezes com 22,5 ml de hexano, e esses extratos foram adicionados ao primeiro. A água foi retirada dos extratos com a adição de 15 ml de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,47 M. A camada de hexano foi coletada em frasco, e evaporada a 50°C no evaporador rotativo sob fluxo de nitrogênio contínuo. O resíduo foi dissolvido em 50 ml de clorofórmio e seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro.

A transesterificação dos ácidos graxos foi realizada conforme descrito por Christie (1982). O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa utilizando uma coluna capilar de 100 m de sílica fundida (SP-2560) e detector de ionização de chama (FID). A corrida teve uma duração de 70 minutos, utilizando-se nitrogênio como gás de arraste a um fluxo de 40 ml/minuto. Uma manteiga padrão (CRM 164; Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium) foi utilizada para determinar os fatores de recuperação para os ácidos graxos, cujas concentrações foram expressas em g/100g de ácidos graxos totais.

Os dados foram submetidos à análise de variância segundo o modelo:

$Y_{ijkl} = \mu + M_i + O_j + OM_{ij} + V_k + P_l + \rho_{ijkl}$ , onde  $Y_{ijkl}$  é a variável dependente,  $\mu$  é a média das observações,  $M_i$  é o  $i$ -ésimo efeito da monensina,  $O_j$  é o  $j$ -ésimo efeito do óleo,  $OM_{ij}$  é o  $ij$ -ésimo efeito da interação,  $V_k$  é o  $k$ -ésimo efeito da vaca,  $P_l$  é o  $l$ -ésimo efeito do período e  $\rho_{ijkl}$ , o erro experimental. Os cálculos foram realizados através do comando Proc GLM do programa estatístico SAS (1999).

### Resultados e discussão

A Tabela 3 apresenta os valores médios observados para o consumo de matéria seca, a produção de leite, o teor e produção de gordura diária de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina.

Tabela 3 – Consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), teor (%) e produção de gordura (PG) de vacas alimentadas com dietas contendo a combinação de óleo de soja e monensina

Variável	Tratamentos <sup>x</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
CMS <sup>1</sup>	18,5	17,9	17,2	15,8	0,713	17,9 <sup>A</sup>	16,8 <sup>B</sup>	18,2 <sup>a</sup>	16,5 <sup>b</sup>
PL <sup>1*</sup>	23,7	24,7	23,4	22,3	0,563	23,5	23,5	24,2 <sup>a</sup>	22,8 <sup>b</sup>
G%	3,77	3,25	3,20	2,66	0,234	3,48 <sup>A</sup>	2,95 <sup>B</sup>	3,51 <sup>a</sup>	2,93 <sup>b</sup>
PG <sup>1</sup>	0,892	0,796	0,762	0,592	0,064	0,827 <sup>A</sup>	0,694 <sup>B</sup>	0,844 <sup>a</sup>	0,677 <sup>b</sup>

<sup>x</sup>CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina ;  
<sup>1</sup> em kg/dia; <sup>2</sup> em kg/100 kg PV; <sup>3</sup> em kg/PV<sup>0,75</sup>; <sup>3</sup> NDT=(CNDT/CMS), em %; <sup>4</sup> em g N/dia;

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem Tukey (P<0,05)

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

Em resumo, tanto óleo como monensina reduziram o consumo de matéria seca, o teor de gordura do leite e sua produção. Foi verificada interação entre os tratamentos para a produção de leite, onde na ausência de óleo, a monensina não influenciou a produção, mas na presença de óleo, a monensina teve efeito sinérgico ao diminuir a produção de leite. A discussão a respeito destas variáveis foi realizada anteriormente

(Eifert, 2004, Capítulo 2), e ainda que numericamente os resultados tenham divergido, os efeitos verificados foram semelhantes.

A Tabela 4 apresenta as médias e os efeitos dos tratamentos sobre os principais grupos de ácidos graxos do leite. A monensina não apresentou efeitos sobre o comprimento da cadeia dos ácidos graxos do leite, mas a adição de óleo de soja reduziu os ácidos graxos de cadeia curta (C<sub>4</sub>-C<sub>10</sub>) e média (C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>) em 54,2 e 49,1%, respectivamente. Para Palmquist et al. (1993), redução nas concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta e média podem ser decorrentes do efeito do óleo sobre a fermentação ruminal, reduzindo os precursores da síntese *de novo*, β-hidroxibutirato e acetato, ou então, devido à direta inibição do complexo enzimático envolvido com a síntese *de novo* pela ação dos ácidos graxos de cadeia longa dos óleos vegetais.

Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina, em g/100 g

Variável	Tratamentos <sup>1</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
AGCC <sup>2</sup>	10,51	10,50	7,62	6,00	0,516	9,07	8,25	10,50 <sup>a</sup>	6,81 <sup>b</sup>
AGCM <sup>3</sup>	53,23	51,90	36,00	34,49	1,242	44,61	43,19	52,56 <sup>a</sup>	35,24 <sup>b</sup>
AGCL <sup>4</sup>	33,16	34,90	54,19	55,61	1,139	43,67	45,26	34,03 <sup>a</sup>	54,90 <sup>b</sup>
AGCI <sup>5</sup>	3,44	3,87	2,65	2,52	0,199	3,04	3,20	3,66 <sup>a</sup>	2,58 <sup>b</sup>
AGS <sup>6</sup>	72,71	70,47	61,56	57,19	0,702	67,13 <sup>A</sup>	63,83 <sup>B</sup>	71,59 <sup>a</sup>	59,37 <sup>b</sup>
AGI <sup>7</sup>	25,53	28,08	37,35	39,90	0,867	31,44 <sup>A</sup>	33,99 <sup>B</sup>	26,80 <sup>a</sup>	38,63 <sup>b</sup>
MUFA <sup>8</sup>	23,96	25,36	34,59	36,54	0,589	29,71 <sup>A</sup>	30,95 <sup>B</sup>	24,66 <sup>a</sup>	35,56 <sup>b</sup>
PUFA <sup>9</sup>	1,88	2,99	3,14	3,67	0,423	2,51 <sup>A</sup>	3,33 <sup>B</sup>	2,43 <sup>a</sup>	3,40 <sup>b</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>1</sup> CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina ;

<sup>2</sup> AGCC = ácidos graxos de cadeia curta,  $\sum C_4 - C_{10}$ ; <sup>3</sup> AGCM = ácidos graxos de cadeia média  $\sum C_{12} - C_{16}$ ;

<sup>4</sup> AGCL = ácidos graxos de cadeia longa  $\sum C_{17} - C_{20}$ ; <sup>5</sup> AGCI = ácidos graxos de cadeia ímpar  $\sum C_{11}, C_{13}, C_{15}, C_{17}$ ;

<sup>6</sup> ácidos graxos saturados; <sup>7</sup> ácidos graxos insaturados; <sup>8</sup> ácidos graxos monoinsaturados; <sup>9</sup> ácidos graxos poliinsaturados;

Em relação aos ácidos graxos de cadeia curta, especial atenção tem sido dada ao butirato (C<sub>4:0</sub>) devido ao potencial efeito anticarcinogênico (Parodi, 1999). Apesar da monensina não ter apresentado efeito sobre os AG de cadeia curta, observa-se na Tabela

5 que C<sub>4:0</sub>, C<sub>6:0</sub> e C<sub>8:0</sub> foram negativamente afetados pelo ionóforo e pelo óleo. Eifert (2004, Capítulo 1) observou que tanto óleo como monensina reduziram as concentrações de acetato e butirato, e estas alterações são condizentes com a redução nos ácidos graxos de cadeia curta do leite. No entanto, os AG de cadeia média (C<sub>12:0</sub> a C<sub>16:0</sub>) somente foram reduzidos pelo óleo e nenhum destes AG foi afetado pela monensina, indicando a pouca influência da alteração das proporções dos AGV sobre estes ácidos graxos sintetizados *de novo*. Assim, pode-se sugerir que os dois mecanismos atuam de forma associada na redução da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta e média. Concomitante à redução do teor dos ácidos graxos de cadeia curta e média, a presença de óleo de soja aumentou a participação dos ácidos graxos de cadeia longa em 40%, em média, refletindo a composição do óleo de soja, que é composta por cerca de 90% de AG de cadeia longa.

Os ácidos graxos de cadeia ímpar (AGCI, Tabela 4) são originários dos lipídios microbianos que são sintetizados a partir da utilização de propionato e valerato como “primers” (Mansbridge & Blake, 1997). O óleo apresentou efeito redutor sobre as concentrações dos AG de cadeia ímpar, o que concorda com os resultados obtidos por Eifert (2004, Capítulo 2), quando o óleo de soja inibiu a síntese microbiana. A monensina somente apresentou efeito sobre C<sub>17:0</sub>, mas não no total de ácidos graxos de cadeia ímpar. Por outro lado, Demeyer & Doreau (1999) indicam que na presença de altas quantidades de lipídios dietéticos, bactérias e protozoários podem incorporar ácido linoléico e outros AG em sua estrutura de membrana, inibindo a síntese *de novo* microbiana, corroborando a menor produção de ácidos de cadeia ímpar nas dietas com óleo.

Tabela 5 – Perfil dos ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina, em g/100g

Variável	Tratamentos <sup>1</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
C <sub>4:0</sub>	3,25	3,07	3,03	2,44	0,162	3,14 <sup>A</sup>	2,76 <sup>B</sup>	3,16 <sup>a</sup>	2,73 <sup>b</sup>
C <sub>6:0</sub>	2,41	2,32	1,72	1,37	0,104	2,06 <sup>A</sup>	1,85 <sup>B</sup>	2,36 <sup>a</sup>	1,54 <sup>b</sup>
C <sub>8:0</sub>	1,48	1,49	0,93	0,72	0,078	1,20 <sup>A</sup>	1,10 <sup>B</sup>	1,49 <sup>a</sup>	0,82 <sup>b</sup>
C <sub>10:0</sub>	3,37	3,61	1,96	1,48	0,212	2,67	2,54	3,49 <sup>a</sup>	1,72 <sup>b</sup>
C <sub>10:1</sub>	0,27	0,26	0,12	0,09	0,013	0,20	0,18	0,27 <sup>a</sup>	0,11 <sup>b</sup>
C <sub>12:0</sub>	3,88	4,24	2,31	1,81	0,233	3,09	3,02	4,06 <sup>a</sup>	2,06 <sup>b</sup>
C <sub>12:1</sub>	0,25	0,28	0,14	0,10	0,0180	0,19	0,19	0,26 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>
C <sub>14:0</sub>	12,32	12,75	8,73	7,79	0,194	10,52	10,27	12,53 <sup>a</sup>	8,26 <sup>b</sup>
C <sub>14:1</sub> C <sub>9</sub>	1,66	1,74	1,13	1,21	0,097	1,39	1,43	1,70 <sup>a</sup>	1,17 <sup>b</sup>
C <sub>16:0</sub>	32,12	29,38	21,45	21,47	1,174	26,78	25,41	30,73 <sup>a</sup>	21,46 <sup>b</sup>
C <sub>16:1</sub> C <sub>9</sub>	0,81	0,89	0,55	0,58	0,082	0,68	0,73	0,85	0,56 <sup>b</sup>
C <sub>11:0</sub>	0,13	0,14	0,06	0,06	0,020	0,09	0,10	0,13 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>
C <sub>13:0</sub>	0,14	0,16	0,10	0,09	0,008	0,12	0,12	0,15 <sup>a</sup>	0,09 <sup>b</sup>
C <sub>15:0</sub>	2,15	2,35	1,55	1,38	0,115	1,85	1,86	2,25 <sup>a</sup>	1,46 <sup>b</sup>
C <sub>17:0</sub>	0,93	1,13	0,82	0,93	0,049	0,87 <sup>A</sup>	1,03 <sup>B</sup>	1,02 <sup>a</sup>	0,88 <sup>b</sup>
C <sub>17:1</sub>	0,36	0,40	0,35	0,28	0,033	0,35	0,34	0,38	0,31 <sup>b</sup>
C <sub>18:0</sub>	10,37	9,71	18,69	17,49	1,100	14,53	13,60	10,04 <sup>a</sup>	18,09 <sup>b</sup>
C <sub>18:1</sub>	20,24	21,44	31,84	33,86	0,565	26,04 <sup>A</sup>	27,65 <sup>B</sup>	20,84 <sup>a</sup>	32,85 <sup>b</sup>
C <sub>18:2</sub>	1,68	2,76	2,90	3,83	0,406	2,29 <sup>A</sup>	3,07 <sup>B</sup>	2,22 <sup>a</sup>	3,14 <sup>b</sup>
C <sub>18:3</sub>	0,19	0,22	0,23	0,28	0,017	0,21 <sup>A</sup>	0,25 <sup>B</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,26 <sup>b</sup>
> C <sub>18</sub>	0,26	0,24	0,33	0,30	0,036	0,29	0,27	0,25 <sup>a</sup>	0,31 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina ;

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Considerando que o óleo de soja contém cerca de 50% de ácido linoléico, 6% de linolênico e 24% de oléico (Tabela 2), a sua inclusão na dieta proporcionou aumentos na insaturação do leite em 44,1%, e redução dos ácidos graxos saturados em 20,6 %. O aumento na insaturação do leite correspondeu ao acréscimo de MUFA e PUFA, respectivamente, de 56,7 e 39,9% nas dietas contendo óleo. A monensina permitiu um pequeno, mas significativo aumento da insaturação (8,1%) e redução dos AG saturados do leite (5,2%), com concomitante aumento de 4,2 e 32,7% para MUFA e PUFA. Sauer

et al. (1998) também observaram aumentos nestes ácidos graxos quando monensina foi ofertada, sugerindo que este efeito foi devido à redução na extensão da bio-hidrogenação ruminal.

Os ácidos graxos insaturados  $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$  e  $C_{18:3}$  foram aumentados tanto por óleo como pela monensina (Tabela 5). Possivelmente uma forte bio-hidrogenação do ácido linoléico, associado à baixa eficiência de absorção do ácido linoléico pela glândula mamária tenha ocorrido, como observado por Demeyer & Doreau (1999). No presente trabalho, a quantidade calculada dos totais do ácido linoléico fornecida pelo óleo de soja foi da ordem de 334 g/dia, enquanto que a incorporação deste foi de apenas 21 g/dia. Para Kalscheuer et al. (1997), a extensão da bio-hidrogenação é mais intensa quanto mais insaturada torna-se a dieta.

Embora os AG do leite apresentem alta correlação com os AG no intestino delgado, a estimativa acima citada foi realizada a partir dos AG do leite, possivelmente sofrendo influência do processo de dessaturação. A bio-hidrogenação ruminal é dada pela proporção dos ácidos oléico, linoléico e linolênico que chegam ao intestino delgado em relação à quantidade ingerida dos mesmos (Demeyer & Doreau, 1999). Assim, Chilliard et al. (2000) citam valores entre 80 e 92% para a bio-hidrogenação do ácido linoléico. Duckett et al. (2002) reportam que a bio-hidrogenação foi maior para os ácidos linolênico (91%), intermediária para o ácido linoléico (80%) e menor para o ácido oléico (70%), quando 2,4% de óleo de milho foi adicionado às dietas.

A concentração do ácido esteárico foi aumentada na presença do óleo, possivelmente em consequência do maior consumo deste ácido graxo e pela maior extensão da bio-hidrogenação. Apesar da monensina não ter apresentado efeito significativo, a concentração de  $C_{18:0}$  foi numericamente menor quando comparados os tratamentos CT em relação à MN (10,37 vs 9,71 g/100 g) e OL em relação à OM (18,69

vs 17,49 g/100 g), o que indica que a monensina pode ter inibido o último passo da bio-hidrogenação ruminal, concordando com as observações de Fellner et al. (1997) para a monensina em trabalho *in vitro*.

Tabela 6 – Perfil dos ácidos graxos *cis* e *trans* octadecenóicos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina (g/100 g)

Variável	Tratamentos <sup>1</sup>				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
	----- Isômeros C <sub>18:1</sub> -----								
<i>cis</i>	18,39	18,68	27,16	27,29	0,705	22,77	22,98	18,53 <sup>a</sup>	27,22 <sup>b</sup>
<i>trans</i>	1,86	2,77	4,69	6,58	0,468	3,27	4,67 <sup>B</sup>	2,31 <sup>a</sup>	5,63 <sup>b</sup>
<i>trans</i> -6-8*	0,22	0,26	0,52	0,76	0,033				
<i>trans</i> -9	0,13	0,21	0,35	0,57	0,059	0,24 <sup>A</sup>	0,39 <sup>B</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,46 <sup>b</sup>
<i>trans</i> -10*	0,48	0,70	1,55	2,73	0,169				
<i>trans</i> -11	0,59	1,01	1,39	1,39	0,344	0,99	1,20	0,79	1,39
<i>trans</i> -12	0,23	0,32	0,46	0,64	0,034	0,34 <sup>A</sup>	0,48 <sup>B</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,55 <sup>b</sup>
<i>trans</i> -16	0,21	0,28	0,43	0,49	0,017	0,32 <sup>A</sup>	0,39 <sup>B</sup>	0,24 <sup>a</sup>	0,46 <sup>b</sup>
<i>cis</i> -9	17,65	17,89	26,16	26,09	0,799	21,90	21,99	17,77 <sup>a</sup>	26,12 <sup>b</sup>
<i>cis</i> -11	0,49	0,53	0,65	0,52	0,104	0,57	0,53	0,51	0,59
<i>cis</i> -12	0,13	0,15	0,18	0,37	0,030	0,16 <sup>A</sup>	0,26 <sup>B</sup>	0,14 <sup>a</sup>	0,27 <sup>b</sup>
<i>cis</i> -13	0,02	0,065	0,063	0,132	0,015	0,04 <sup>A</sup>	0,10 <sup>B</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>
<i>cis</i> -15	0,02	0,05	0,10	0,19	0,017	0,06 <sup>A</sup>	0,11 <sup>B</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4 % de óleo de soja; OM = 4 % de óleo + 33 ppm monensina ;  
<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05) .  
<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).  
interação Monensina vs Óleo (P<0,05).

Diversos trabalhos têm indicado o acúmulo de *trans*-C<sub>18:1</sub> no leite como característica de uma incompleta bio-hidrogenação dos AG no rúmen (Mansbridge & Blake, 1997). A concentração de *trans*-C<sub>18:1</sub> tem sido aumentada em situações como altas quantidades de lipídios insaturados na dieta (Bateman & Jenkins, 1998), baixo pH ruminal (Kalscheuer et al., 1997) e presença de ionóforos (Cant et al., 1997; Sauer et al., 1998). Para Bessa et al. (2000), a população microbiana é muito sensível aos fatores acima citados e a maior produção ruminal de isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> nestas situações é um mecanismo de defesa da microbiota, permitindo às bactérias manter a integridade da

membrana celular, uma vez que ácidos graxos *trans* são menos tóxicos que os de configuração *cis*.

A monensina não influenciou a concentração de isômeros *cis*-C<sub>18:1</sub> (Tabela 6), enquanto que a adição de óleo de soja aumentou a concentração destes isômeros em 46,9%, possivelmente, resultante do maior consumo de ácidos graxos insaturados da dieta e da atividade da atividade da  $\Delta^9$ -desaturase. Individualmente, *cis*-9 C<sub>18:1</sub> foi o isômero *cis*-C<sub>18:1</sub> mais abundante e, enquanto a monensina aumentou a concentração de *cis*-12, *cis*-13 e *cis*-15 C<sub>18:1</sub>, o óleo de soja elevou a concentração de todos os isômeros *cis*-C<sub>18:1</sub>, exceto *cis*-11 C<sub>18:1</sub>.

Tanto óleo como monensina aumentaram a concentração dos isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> no leite (Tabela 6), e embora não se tenha observado interação significativa ( $P>0,05$ ), a adição de monensina amplificou a concentração dos isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> no leite, independentemente se a dieta continha ou não óleo de soja.

A clássica rota da bio-hidrogenação ruminal do ácido linoléico envolve a formação do CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e sua redução até *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, antes da completa saturação até o ácido esteárico, C<sub>18:0</sub> (Harfoot & Hazlewood, 1997). Devido à essa rota metabólica microbiana, 80 % do CLA encontrado no leite apresenta a configuração *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub>, sendo o *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, o principal isômero intermediário detectado (Bauman & Griinari, 2001). Entretanto, Griinari et al. (1998) sugerem que dependendo do ambiente ruminal, a rota da bio-hidrogenação ruminal pode ser desviada, promovendo a formação de outros isômeros do CLA e seus *trans*-C<sub>18:1</sub> correspondentes. No presente trabalho, tanto a monensina como o óleo aumentaram a concentração de todos os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub>, exceto *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, embora a sua concentração tenha sido aumentada em 71,2% (CT vs MN) e 235,6% (CT vs OL e OM).

*Trans*-11 C<sub>18:1</sub> foi o principal isômero *trans*-C<sub>18:1</sub> e sua proporção nos AG *trans* foi alterada em relação à monensina e ao óleo, sendo os valores de 31,7, 36,5, 29,6 e 21,1%, respectivamente para CT, MN, OL e OM. Os isômeros *trans*-9, *trans*-12 e *trans*-16 C<sub>18:1</sub> apresentaram comportamento similar, o que reforça a possibilidade de diferentes rotas de bio-hidrogenação. Além disto, foi observada interação significativa (P<0,05) entre óleo e monensina para as concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> (Tabela 7). Para Loor & Herbein (2003), *trans*-6-8 e *trans*-9 C<sub>18:1</sub> são os principais intermediários durante a isomeração do ácido oléico (*cis*-9 C<sub>18:1</sub>) e intermediários menores da bio-hidrogenação do ácido linoléico.

Tabela 7 – Valores médios observados para a interação entre óleo de soja e monensina sobre as concentrações de *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> e *trans*-10 C<sub>18:1</sub> na gordura do leite (em g/100 g)

Óleo de soja	Monensina	
	0 ppm	33 ppm
	----- <i>trans</i> -6-8 C <sub>18:1</sub> -----	
0 %	0,22 <sup>Aa</sup>	0,26 <sup>Aa</sup>
4 %	0,52 <sup>Ba</sup>	0,76 <sup>Bb</sup>
	----- <i>trans</i> -10 C <sub>18:1</sub> -----	
0 %	0,48 <sup>Aa</sup>	0,70 <sup>Aa</sup>
4 %	1,55 <sup>Ba</sup>	2,73 <sup>Bb</sup>

<sup>A,B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem, Tukey (P<0,05)

<sup>a,b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem, Tukey (P<0,05)

A Tabela 7 indica o mesmo comportamento de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e *trans*-6-8 C<sub>18:1</sub> em relação aos tratamentos, embora com diferentes magnitudes. Na ausência de óleo, a monensina não apresentou efeito sobre a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub>; o óleo aumentou a participação deste AG, mas na presença do ionóforo, a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> foi ainda mais aumentada. Jenkins et al. (2003) também observaram interação entre óleo de soja e monensina sobre a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> em

ensaio *in vitro*, onde o comportamento deste AG foi similar ao observado no presente trabalho, muito embora tenham verificado maior magnitude na formação de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> quando a cevada foi comparada ao milho como fonte de carboidrato.

A presença de ionóforos na dieta de ruminantes altera os padrões de fermentação ruminal, aumentando a proporção molar de propionato, reduzindo a de acetato e, conseqüentemente, a relação acetato:propionato. A monensina tem efeito inibitório sobre a população bacteriana gram-positiva e a alteração nos padrões de fermentação é conseqüência dos produtos de fermentação da população remanescente. Quando óleo de soja é combinado com a monensina, possivelmente aumenta-se a sensibilidade da população microbiana ao ionóforo (Eifert, Capítulo 1). As bactérias responsáveis pela formação do *trans*-11 C<sub>18:1</sub> quando na rota mais freqüente da bio-hidrogenação, são *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Ruminococcus* sp., que são gram-positivas e, portanto, sensíveis à monensina (Nagaraja et al., 1997). Por conseguinte, a população selecionada pelo ionóforo pode levar à formação de outros isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> e outros isômeros do CLA, justificando os resultados obtidos para os AG *trans*, principalmente *trans*-10 C<sub>18:1</sub>. A este respeito, Lawson et al. (2001) cita que Verhulst et al. (1985) isolaram cepas de *Clostridium* sp., gram-positivas, que produziram *trans*-10 C<sub>18:1</sub> como principal intermediário da bio-hidrogenação do ácido linoléico. *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Ruminococcus* necessitam de menor dose de monensina para controle de 50% da população que *Clostridium* (Nagaraja et al., 1997), assim, possivelmente a população de *Clostridium*, entre outras presentes no rúmen dos animais avaliados, não foi alterada pela monensina, justificando os aumentos em *trans*-10 C<sub>18:1</sub>.

Grinari et al. (1998) promoveram alteração na fermentação ruminal através de dietas ricas em carboidratos e baixas em fibra, selecionando uma população microbiana que elevou a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> no leite, refletindo na redução do teor de

gordura. Estes autores indicam que *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> estão associados com os mecanismos que causam a síndrome da baixa gordura do leite (Bauman & Griinari, 2001). Outros estudos sugerem que a ligação *trans* no carbono 10 é a responsável por tal alteração e além do *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub>, outros isômeros apresentam potencial para desencadear tal síndrome, entre eles *cis*-8 *trans*-10 C<sub>18:2</sub>, *cis*-8 *trans*-10 *cis* 12 C<sub>18:3</sub> e *trans*-10 *cis*-12 *cis*-15 C<sub>18:3</sub> (Chouinard et al., 1999, Loor & Herbein, 2003).

Ainda não foram sintetizados isômeros puros do *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, mas infusões no abomaso de apenas 3,5 g de CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> mostram redução no teor da gordura do leite em 25 % (Baumgard et al., 2001), resultando em aumento dos ácidos graxos de cadeia longa e redução dos ácidos graxos de cadeia média e curta no leite. A magnitude da redução da gordura foi correspondente à inibição de enzimas relacionadas com a síntese *de novo*, à abundância de mRNA que codifica genes envolvidos com a absorção e transporte dos AG, à atividade da  $\Delta^9$ -desaturase e à formação de triglicerídios (Piperova et al., 2000, Baumgard et al., 2002). No presente trabalho, a redução no teor de gordura do leite (Tabela 3) foi consistente com aumentos na concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> ( $r=-0,7239$ ;  $P=0,0015$ ). O óleo de soja permitiu aumentar a participação dos AG de cadeia longa em 40 % com concomitante redução dos AG oriundos da síntese *de novo* em mais de 50%.

Embora os tratamentos tenham permitido grandes diferenças nas concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, não foi detectado no leite seu precursor na bio-hidrogenação, o CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> (Tabela 8). Isto se deve, possivelmente, à intensa bio-hidrogenação ruminal deste ácido graxo e à baixa eficiência de absorção deste CLA pela glândula mamária (Chilliard et al., 2000, Loor & Herbein, 2003).

Tanto óleo como monensina foram eficientes ao elevar as concentrações do ácido linoléico (*cis-9 cis-12* C<sub>18:2</sub>) no leite, muito embora os valores observados sejam baixos principalmente em relação à quantidade de óleo fornecido nas dietas. Para Chilliard et al. (2000), as baixas concentrações de ácido linoléico no leite são devidas à baixa eficiência de incorporação quando altas quantidades deste ácido são fornecidas na dieta, à fase de lactação e à extensão da bio-hidrogenação ruminal. Além destas, os tecidos de reservas parecem ter maior prioridade pelo ácido linoléico que a glândula mamária (Chilliard et al., 2000).

Tabela 8 – Isômeros do ácido linoléico e estimativa da atividade da enzima  $\Delta^9$  desaturase nos ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e monensina, em g/100g

Variável	Tratamentos				Desvio padrão	Monensina		Óleo	
	CT	MN	OL	OM		0	33 ppm	0	4 %
----- Isômeros C <sub>18:2</sub> n-6 -----									
<i>cis-9 cis-12</i>	1,47	1,90	2,06	2,48	0,170	1,76 <sup>A</sup>	2,19 <sup>B</sup>	1,69 <sup>a</sup>	2,27 <sup>b</sup>
<i>trans-11 cis-15</i>	nd	0,03	0,07	0,10	0,019	0,03	0,07	0,02 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>
<i>cis-9 trans-11</i>	0,54	0,82	0,77	0,81	0,131	0,65	0,81	0,68	0,79
<i>trans-10 cis-12</i>	nd <sup>2</sup>	nd	nd	nd	-	-	-	-	-
----- Atividade da $\Delta^9$ desaturase -----									
$\Delta^9$ CLA <sup>3</sup>	1,14	1,18	1,81	1,61	0,264	1,48	1,39	1,16 <sup>a</sup>	1,71 <sup>b</sup>
$\Delta^9$ C <sub>18:1</sub> <sup>4</sup>	0,59	0,54	0,72	0,67	0,035	0,65	0,61	0,57 <sup>a</sup>	0,69 <sup>b</sup>
$\Delta^9$ C <sub>16:1</sub> <sup>5</sup>	40,11	35,60	45,63	39,11	4,183	42,87	37,36	37,85	42,37
$\Delta^9$ C <sub>14:1</sub> <sup>6</sup>	7,57	7,51	7,88	6,49	0,524	7,72	7,00	7,54	7,18
$\Delta^9$ C <sub>12:1</sub> <sup>7</sup>	16,04	15,92	16,92	18,22	1,206	16,48	17,07	15,98	17,57

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05);

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05);

<sup>1</sup> CT= óleo e monensina ausentes; MN= 33 ppm de monensina; OL = 4% de óleo de soja; OM = 4% de óleo + 33 ppm monensina ;

<sup>2</sup> não detectado; <sup>3</sup> *trans-11/ cis-9 trans-11*; <sup>4</sup> C<sub>18:0/cis-9</sub>; <sup>5</sup> C<sub>16:0/C16:1</sub>; <sup>6</sup> C<sub>14:0/C14:1</sub>; <sup>7</sup> C<sub>12:0/C12:1</sub>.

As dietas contendo óleo proporcionaram aumentos nas concentrações de *trans-11 cis-15* C<sub>18:2</sub>, possivelmente por este ser um intermediário da bio-hidrogenação do ácido linolênico, justificando-se seus baixos valores. O CLA *cis-9 trans-11* C<sub>18:2</sub> não foi

influenciado pelos tratamentos, embora se tenha verificado aumentos em relação ao CT da ordem de 34,2, 29,9 e 33,3%, respectivamente para MN, OL e OM. A falta de resposta estatística pode ser devido ao alto coeficiente de variação verificado (35%), o que concorda com as observações de Solomon et al. (2000) a respeito da distribuição heterogênea do CLA em seu trabalho.

Corl et al. (2001) observaram que a principal forma de incorporação do CLA é a partir da dessaturação do *trans*-11 C<sub>18:1</sub> pela  $\Delta^9$ -desaturase. O óleo inibiu a atividade desta enzima, estimando-se sua atividade a partir da relação precursor:produto, onde aumentos em seu valor indicam inibição. A incorporação no leite de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> foi de 16,2 e 11,8 g/dia, respectivamente para OL e OM. Tais valores são considerados altos quando comparados às doses de CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> utilizadas nos trabalhos de Piperova et al. (2000) e Baumgard et al. (2001). Para a falta de resposta no CLA, também se questiona um efeito residual dos tratamentos em relação à troca das dietas no quadrado latino, situação também questionada por Cant et al. (1997).

Por outro lado, *cis*-12 *trans*-14 C<sub>18:2</sub>, *cis*-8 *trans*-10 C<sub>18:2</sub>, *cis*-11 *trans*-13 C<sub>18:2</sub>, e outros isômeros do CLA tem sido determinados, sendo que *trans*-7 *cis*-9 C<sub>18:2</sub> é considerado com o segundo CLA em abundância (Chilliard et al., 2000), assim, é possível que outros isômeros do CLA sejam formados em rotas alternativas ainda desconhecidas da bio-hidrogenação ruminal ou ainda, que os padrões utilizados na análise cromatográfica não tenham sido específicos o suficiente para a sua detecção.

## Conclusões

A utilização de monensina implica em maior grau de insaturação do leite porque provavelmente promove alteração na bio-hidrogenação ruminal, com pequeno aumento do CLA. A redução na gordura do leite está correlacionada à maior concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> nas dietas suplementadas com ionóforos.

A presença de óleo de soja nas dietas permite alterar o perfil da gordura do leite, elevando a concentração de AG insaturados e de ácidos graxos de cadeia longa em detrimento aos ácidos graxos saturados oriundos da síntese *de novo*, o que melhora a qualidade nutricional do leite.

A associação de óleo de soja e monensina não aumenta o conteúdo de CLA do leite, e esta combinação determina efeitos mais drásticos sobre o perfil de AG do que quando óleo e ionóforo são fornecidos isoladamente. A população ruminal selecionada por estes dois ingredientes possivelmente leva à modificação da bio-hidrogenação ruminal, aumentando de forma aditiva os isômeros *trans*-C<sub>18:1</sub> no leite.

## Literatura citada

- BAUMAN, D.E., GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In: **Proceedings of the American Society of Animal Science**. 2000. Disponível em: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- BAUMGARD, L.H.; SANGSTER, J.K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Nutrition**, v. 131, p.1764–1769, 2001.
- BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A. et al. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155–2163, 2002.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.M.R. et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, p.201-211, 2000.
- BREMMER, D.R.; RUPPERT, L.D.; CLARK, J.H. et al. Effects of chain length and unsaturation of fatty acid mixtures infused into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 176-188, 1998.
- CANT, J.P.; FREDEEN, A.H.; MacINTYRE, T. et al. Effect of fish oil on milk composition in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, p. 125-131, 1997.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 181-205, 2000.
- CHOUINARD, P.Y.; CORNEAU, L.; SAEBO, A. et al. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2737–2745, 1999.
- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072, 1982.
- CORL, B.A.; BAUMGARD, L.H.; DWYER, D.A. et al. The role of 9-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11 CLA. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p. 622–630, 2001.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 593-607, 1999.
- DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. et al. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1016–1027, 2000.
- DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D. et al. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2146–2156, 1999.

- DUCKETT, S.K.; ANDRAE, J.G.; OWENS, F.N. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal Animal Science**, v. 80, p. 3353-3360, 2002.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermentors **Journal of Dairy Science**, v.80. p. 921–928, 1997.
- FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1815-1823, 1995.
- EIFERT, E.C. **Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina sódica para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- 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.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3244-3257, 1991.
- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: **The rumen microbial ecosystem**. Ed. Hobson, P.N., Stewart, C.S. Blackie Academic & Professional, Great Britain. 1997. p. 467-491.
- JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on *trans* fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science**, v.86. p. 324-330, 2003
- KALSCHEUR, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S. et al. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C<sub>18:1</sub> and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 2115-2126, 1997.
- LAWSON, R.E.; MOSS, A.R.; GIVENS, D.I. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acids to man's diet: a review. **Nutrition Research Reviews**, v. 14, p. 153-172, 2001.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Reduced fatty acids synthesis and desaturation due to exogenous *trans*-10, *cis*-12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. **Journal of Dairy Science**, v.86, p. 1354-1369, 2003.
- MANSBRIDGE, R.J.; BLAKE, J.S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v.78, Suppl. 1, p.S37-S47, 1997.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J., et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic & Professional, 2<sup>o</sup> edition, Great Britain. p. 524-632, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 2001. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. National Academic Press. Washinton, D.C. 381p.

- NOUROOZ-ZADEH, J.; APPELQVIST, L.A. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 74-87, 1988.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1753-1771, 1993.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1339–1349, 1999.
- PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I. et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p. 2568-2574, 2000.
- PRECHT., D.; MOLKETIN, J. Rapid analysis of the isomers of trans-octadecenoic acid in milk fat. **International Dairy Journal**, v. 6, p. 791-809, 1996.
- SAS / STAT. User's guide, Version 6.12 Fourth Edition, vol. 1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. February, 890 p., 1999.
- SAUER, F.D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R. et al. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 906-914, 1998.
- SOLOMON, R.; CHASE, L.E.; BEN-GHEDALIA D. et al. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1322–1329, 2000.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D.I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen *in vitro*: Inhibition by antimicrobials. **Journal of Dairy Science**, v.78, p. 2797–2806, 1995.

## **Consumo, Produção e Composição do Leite de Vacas Alimentadas com Óleo de Soja e Diferentes Fontes de Carboidratos na Dieta**

**Resumo:** O trabalho foi realizado no Setor de Bovinos de Leite da UFV utilizando-se 12 vacas lactantes holandês cruzadas, em quatro quadrados latinos 3x3, avaliando-se os efeitos sobre o consumo, produção de leite e composição do leite de dietas formuladas com diferentes fontes de carboidratos no concentrado, associadas ou não à suplementação com óleo de soja. Os tratamentos consistiram de concentrados formulados com milho como fonte energética (MI), ou sua total substituição por farelo de trigo (FT) ou polpa cítrica (PC), estando associados ou não à inclusão de óleo de soja (0 e 2,25%), em um delineamento fatorial (3x2). Os animais foram selecionados aos pares, de acordo com a produção, estágio de lactação e número de parições prévias, onde cada qual foi alojado em um quadrado latino com e outro sem óleo na dieta. Não foi verificada interação significativa entre a presença de óleo e a fonte de carboidratos em qualquer variável avaliada. O consumo de matéria seca (18,4 kg/dia) e a produção de leite (23,5 kg/dia) não diferiram entre MI, FT ou PC, mas as dietas com FT proporcionaram maior consumo de FDN e menor digestibilidade aparente total deste nutriente. As dietas com FT também apresentaram menor digestibilidade da MO, FDN e CHOT e menor teor de lactose. A síntese microbiana não foi influenciada pela fonte de carboidrato ou pelo óleo, sendo em média, de 239,4 g N/dia. Os animais das dietas contendo óleo apresentaram menor consumo de matéria seca (19,0 vs 17,8 kg/dia), menor teor de lactose (4,49 vs 4,33%) e gordura no leite (3,34 vs 3,13%), mas não diferiram na produção de leite, no teor de proteína, digestibilidade dos nutrientes e síntese microbiana. A presença de óleo proporcionou maior eficiência alimentar (1,23 vs 1,35) e aumentou a relação proteína:gordura do leite (0,94 vs 1,00). Assim, em funções econômicas, para vacas com produção até 24 kg/dia, PC e FT podem substituir totalmente o milho no concentrado. O óleo na dieta diminui o consumo e mantém o nível de produção, aumentando a eficiência alimentar, além de alterar a composição do leite.

Palavras-chave: bio-hidrogenação, farelo de trigo, lipídios, polpa cítrica, síntese microbiana

## Introdução

O tipo e a quantidade de concentrado fornecido nas dietas de bovinos podem influenciar a produção e a rentabilidade do sistema. Tradicionalmente, os concentrados são compostos por milho e, com o objetivo de reduzir os custos de alimentação, subprodutos da indústria alimentícia ou do processamento de grãos têm sido empregados como substitutos parciais ou totais do milho no concentrado. A polpa cítrica (PC) e o farelo de trigo (FT) são exemplos destes subprodutos.

A polpa cítrica e o farelo de trigo diferem dos grãos, como o milho, por apresentar reduzidas concentrações de amido. O farelo de trigo apresenta cerca de 30% de carboidratos não estruturais, 45% de hemicelulose e celulose (Durand et al, 1988). A polpa cítrica apresenta 60% de CNF, 12,5-40,2% de açúcares solúveis e 25,2-43,7% de pectina (Hall, 2001). Os padrões de fermentação destes carboidratos diferem daqueles do amido do milho, podendo resultar em diferentes valores de pH ruminal, em função da proporção dos AGV formados e da velocidade da fermentação (Bem-Ghedalia et al., 1989; Leiva et al., 2000).

Leiva et al. (2000) observaram que a fermentação da pectina da polpa proporcionou um pH mais elevado que as dietas contendo milho. Bem-Ghedalia et al. (1989) verificaram que a polpa permitiu maior pH e maior síntese de proteína microbiana que o amido de cevada. O farelo de trigo não influenciou no pH de animais em pastejo quando comparado à suplementação com milho, mas foi aumentada a relação acetato: propionato e a concentração de acetato no fluido ruminal. Neste sentido, Van Soest (1987) sugere que a fermentação da pectina, apesar de rapidamente fermentável no rúmen, gera acetato como produto final, assim como ocorre com a fermentação da celulose. Desta maneira, a substituição do milho por polpa pode trazer efeitos benéficos, principalmente em relação ao ambiente ruminal, devido à alteração da fermentação

lática pela acética e ao efeito tamponante da pectina, resultando em melhores condições para a digestão da fibra da forragem.

Embora o NRC (2001) indique diferenças no valor energético destas fontes, sugerindo valores de NDT de 79,8 e 71,5%, respectivamente, para polpa cítrica e farelo de trigo, valores inferiores aos do fubá de milho (88,7%), estas fontes têm substituído o milho na dieta de vacas lactantes com relativa eficiência. Para vacas de média produção (20 kg/dia), Assis (2001) não observou diferenças sobre o consumo e produção quando a polpa cítrica substituiu até 100 % do milho e Soares (2002) concluiu que o farelo de trigo pode substituir totalmente o milho no concentrado.

Sutton et al. (1987) observaram que concentrados fibrosos (polpa cítrica, polpa de beterraba açucareira e farelo de trigo) foram menos efetivos que os concentrados amiláceos (cevada, trigo e mandioca) em manter os rendimentos de leite, proteína e lactose. Para vacas com alta produção, acima de 30 kg/dia, Solomon et al. (2000) encontraram que o consumo de matéria seca (CMS), o conteúdo de proteína do leite e produção de proteína eram maiores em vacas alimentadas com concentrado com 2/3 de milho laminado e 1/3 de polpa cítrica que em vacas alimentadas com 1/3 de milho laminado e 2/3 de polpa. Leiva et al. (2000) também observaram que o conteúdo de proteína do leite e seu rendimento foram deprimidos em dietas com altas concentrações de polpa, apesar de não observarem nenhuma mudança no CMS. Os resultados de Broderick et al. (2002) também são consistentes com os anteriores, quando espigas de milho com alta umidade (EMAU) foram comparadas com dietas contendo 50 % EMAU e 50% de polpa cítrica. A presença de polpa reduziu o CMS, produção de leite, proteína e lactose.

Para Leiva et al. (2000), a maior produção de acetato originado pela fermentação da pectina tende a produzir metabólitos lipogênicos, enquanto o propionato, obtido a

partir da fermentação do amido, tende a produzir metabólitos glicogênicos. Assim, alterações na produção e composição do leite poderiam ser uma consequência da modificação do suprimento de nutrientes metabolizáveis ao animal.

Gorduras e óleos têm sido adicionados às dietas de ruminantes com o objetivo de aumentar a concentração energética da dieta e aumentar a participação de determinados ácidos graxos no leite e na carne. O principal problema em relação à utilização de gorduras insaturadas na dieta de ruminantes é o efeito sobre o consumo e, conseqüentemente, na produção de leite (Allen, 2000).

Embora a concentração energética seja maior nos lipídios que em carboidratos e proteínas, elevadas quantidades de lipídios podem reduzir o consumo e refletir em menores quantidades de energia ingerida (NRC, 2001). Allen (2000) sugere que fatores metabólicos estejam relacionados à redução no consumo, já que a digestibilidade ruminal da fração fibrosa pouco é afetada com o uso de lipídios insaturados quando a dieta apresenta até 50% de forragem (Bateman & Jenkins., 1998).

Os suplementos lipídicos insaturados apresentam, em doses elevadas, efeito tóxico sobre as bactérias Gram-positivas do rúmen, principalmente sobre a população celulolítica (Nagaraja et al., 1997), alterando a relação acetato:propionato, com produção de propionato às custas de acetato, redução da produção de metano e diminuição da amônia ruminal (Jenkins, 1993). A eficiência da síntese microbiana por vezes é aumentada à medida que os lipídios substituem parte do concentrado na dieta. Por exemplo, observa-se efeito defaunatório com o uso de óleo de soja, que viabiliza um maior crescimento bacteriano em virtude da menor predação (Nagaraja et al., 1997).

O objetivo do presente trabalho de investigar os possíveis efeitos associativos sobre o consumo, a produção e a composição do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de carboidratos no concentrado, quando associados ao óleo de soja.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Pesquisa e Ensino em Gado de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período compreendido entre dezembro de 2001 e março de 2002.

Foram utilizadas 12 vacas multíparas lactantes, 7/8 Holandês Gir, com 86 dias em lactação, dispostas em quatro quadrados latinos 3x3. Os animais foram escolhidos aos pares e estes um alojados em cada um dos quadrados, de acordo com o histórico prévio de produção de leite, estágio de lactação e número de partições.

Os tratamentos consistiram da substituição total do milho no concentrado (MI) por farelo de trigo (FT) ou polpa cítrica (PC), associados ou não ao óleo de soja (0 e 2,25% de óleo de soja). Assim, o delineamento foi um ensaio fatorial 3x2, com dois níveis de óleo e três fontes de carboidratos.

O período experimental teve duração de 17 dias, sendo 10 para adaptação e sete dias de coleta das amostras. Os animais foram alojados em baias individuais, tipo 'tie-stall', alimentados e ordenhados duas vezes ao dia, com controle diário de oferta e sobras dos alimentos. As dietas continham 55,2% de silagem de milho e 44,8% de concentrado, e em média, 15,5% de PB e 39,3% de FDN (Tabela 1). As dietas foram formuladas a partir do NRC (2001) para atender as necessidades de vacas produzindo 20 kg/dia de leite.

A coleta de amostras de fezes para determinação das digestibilidades aparentes dos nutrientes foi realizada nos últimos sete dias do período experimental e a excreção fecal foi estimada utilizando FDA<sub>i</sub> como indicador interno. Para a determinação do FDA<sub>i</sub>, as amostras dos alimentos ofertados, sobras e fezes foram incubadas por um período de 144 horas no rúmen de vacas alimentadas com relação 60:40 de volumoso e

concentrado, em sacos Ankom (Ankom<sup>®</sup> filter bag n°57), segundo adaptação da técnica descrita por Cochran et al. (1986).

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais (em % da MS)

Item	Fonte de carboidratos					
	MI		FT		PC	
			Óleo de soja			
	0%	2,25%	0%	2,25%	0%	2,25%
	----- Proporção dos ingredientes -----					
Silagem de milho	55,19	55,04	55,36	55,10	55,27	55,05
Farelo de soja	19,78	20,35	14,09	15,37	21,45	21,88
Fubá de milho	23,28	20,61	-	-	-	-
Farelo de trigo	-	-	28,99	25,71	-	-
Polpa cítrica	-	-	-	-	21,81	19,34
Calcário calcítico	0,77	0,77	0,95	0,95	-	-
Fosfato bicálcico	0,36	0,36	-	-	0,86	0,86
Sal comum	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
Óleo de soja <sup>1</sup>	-	2,25	-	2,25	-	2,25
	----- Composição bromatológica -----					
MO	93,06	93,24	93,36	93,53	94,03	94,12
PB	14,70	14,98	15,73	15,92	15,58	15,78
EE	2,80	4,93	2,81	4,95	2,42	4,60
FDN	35,28	35,05	45,40	43,99	38,24	37,65
FDA	20,34	20,25	25,96	25,22	22,57	22,21
CNF	40,28	38,28	29,42	28,67	38,73	36,09
NDT <sup>2</sup>	72,96	75,09	68,51	71,18	71,12	73,50

<sup>1</sup> óleo de soja foi misturado ao concentrado

<sup>2</sup> NDT calculado a partir do NRC (2001)

Nas amostras de sobras, ofertado e fezes foram determinados os teores de matéria seca, cinzas, nitrogênio total (Kjehldal) e extrato etéreo no aparelho Soxhlet, de acordo com as metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos

pelos métodos descritos por Van Soest et al. (1991), utilizando-se  $\alpha$ -amilase sem a adição de sulfito de sódio na determinação da FDN. Os carboidratos totais (CHOT) foram obtidos a partir da equação sugerida por Sniffen et al. (1992), onde  $CHOT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$ . Os carboidratos não-fibrosos (CNF) foram obtidos pela diferença entre CHOT e FDN.

A estimativa da síntese microbiana foi realizada a partir da quantificação dos derivados de purina excretados na urina e leite, de acordo com a metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003), considerando-se a absorção de purinas (Pabs) a partir da fórmula sugerida por Verbic et al. (1990):  $Pabs = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$ , onde X é excreção total dos derivados de purina. A amostra *spot* de urina foi obtida por micção espontânea quatro horas após a alimentação dos animais, coletando-se 10 mL de urina, e adicionados 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N. Da amostra *spot* foi determinada a concentração de alantoína a partir dos métodos colorimétricos descritos por Chen & Gomes (1992), e a concentração de ácido úrico e creatinina a partir de “kits” comerciais (Labtest®). O volume urinário foi determinado a partir da concentração de creatinina na urina, considerando-se uma excreção diária de 28,9 mg/kgPV, observados por Valadares et al. (1999).

A produção leiteira foi medida diariamente e amostras do leite de dois dias de ordenha consecutivos foram retiradas para a avaliação da composição do leite. Esta foi determinada no Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA Gado de Leite, através da análise do infravermelho em um aparelho Bentley 2000. Para o cálculo da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLcor) utilizou-se a fórmula citada por Leiva et al. (2000),  $PLcorr = (12,82 * Pgord) + (7,13 * Pptn) + (0,323 * PL)$ , onde: PL = produção de leite, kg/dia; Pgord = produção de gordura, kg/dia e Pptn = produção de proteína, kg/dia. A partir da equação sugerida pelo AFRC (1993), calculou-se a

concentração energética do leite, conforme a fórmula:  $EL \text{ (Mcal/kg)} = (0,0929 \cdot G) + (0,0547 \cdot PB) + (0,0395 \cdot Lact)$ , onde G, PB e Lact são as percentagens de gordura, proteína e lactose do leite.

Os dados foram submetidos à análise estatística com o auxílio do programa estatístico SAS (1999), avaliando-se os efeitos da fonte de carboidratos, óleo e a interação; além dos efeitos de animal, quadrado, animal dentro de quadrado e período. Adotou-se o nível de significância de 10% na comparação dos resultados.

### **Resultados e discussão**

Os valores médios observados para os consumos de matéria seca, de NDT e de FDN, nas diferentes formas de expressão estão presentes na Tabela 2. Não foi verificada interação significativa ( $P > 0,10$ ) entre a fonte de carboidrato e a presença de 2,25% de óleo de soja para estas variáveis. A fonte de carboidrato não influenciou ( $P > 0,10$ ) o consumo de matéria seca diário (CMS), em relação ao peso vivo (CMSP) ou em relação ao tamanho metabólico (CMSTM), em média de 18,4 kg/dia, 3,57 kg MS/100 kg PV e 0,170 g/PV<sup>0,75</sup>, respectivamente.

Em virtude da maior concentração de FDN nos ingredientes do concentrado (Tabela 1) e de consumos de matéria seca similares entre as fontes, verificou-se maior consumo de FDN diário (CFDN) para a dieta contendo FT e menor para MI, sendo a dieta com PC intermediária entre as demais. Assim, o consumo de FDN apresentou o mesmo comportamento, sendo maior para FT e menor para MI, respectivamente de 1,42 e de 1,17% PV, e a dieta com PC foi intermediária (1,28%). O consumo diário de NDT foi em média de 12,87 kg/dia, não diferindo entre os tratamentos, embora a dieta PC tenha apresentado maior teor de NDT (Tabela 2). O consumo diário de NDT não foi

alterado pela presença de óleo na dieta. No entanto, a presença de óleo reduziu o CMS, CMSTM, CFDN e CFDNP em 6,7, 6,1, 7,8 e 7,2%, respectivamente ( $P < 0,10$ ). O CFDNP observado nas dietas contendo FT está próximo aos valores de 1,2% PV relatados por Mertens (1994) para que haja o máximo consumo de matéria seca para vacas em lactação.

Tabela 2 – Consumos de matéria seca, de NDT e de FDN diário de vacas alimentadas com diferentes carboidratos no concentrado combinado com óleo de soja

Item	Fonte de carboidratos <sup>1</sup>				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0 %	2,25 %	P>F
CMS, kg/dia	18,4	18,3	18,4	0,9911	19,0 <sup>a</sup>	17,8 <sup>b</sup>	0,0668
CMS, %PV	3,59	3,55	3,59	0,9660	3,68	3,47	0,1321
CMS, kg/PV <sup>0,75</sup>	0,171	0,169	0,171	0,9717	0,175 <sup>a</sup>	0,165 <sup>b</sup>	0,1000
CFDN, kg/dia	6,00 <sup>B</sup>	7,35 <sup>A</sup>	6,55 <sup>AB</sup>	0,0010	6,88 <sup>a</sup>	6,38 <sup>b</sup>	0,0637
CFDN, %PV	1,17 <sup>B</sup>	1,42 <sup>A</sup>	1,28 <sup>AB</sup>	0,0034	1,34 <sup>a</sup>	1,25 <sup>b</sup>	0,1029
CNDT, kg/dia	12,69	12,71	13,22	0,5175	12,92	12,82	0,7935

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,10$ )

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,10$ )

<sup>1</sup> MI = milho; FT = farelo de trigo; PC = polpa citrica

Mertens (1994) sugere que o consumo é regulado, entre outros fatores, em função das características dos alimentos. Para dietas ricas em FDN e menores concentrações energéticas, o consumo é mais elevado até que o animal atinja sua necessidade energética, sendo o limite para o efeito de enchimento físico do rúmen, o valor de 1,2% PV.

Em dietas ricas em energia, o consumo é interrompido antes do efeito do enchimento ruminal, ao atender os requerimentos de produção. Isto pode justificar a redução de 6,7% no consumo de matéria seca ( $P < 0,0668$ ) observado para as dietas contendo óleo de soja, pois a presença de 2,25% de óleo na dieta permitiu consumos

similares de NDT (12,87 kg/dia). A redução do consumo de matéria seca em dietas contendo suplementos lipídicos tem sido bastante relatada na literatura (Jenkins, 1993). São sugeridos como causas da redução do consumo os efeitos da adesão do óleo sobre as partículas fibrosas no rúmen, a alteração da permeabilidade da membrana das bactérias gram-positivas, principalmente as celulolíticas (Nagaraja et al., 1997) e outros efeitos metabólicos (Allen, 2000).

Os valores observados para o consumo de matéria seca estão de acordo com os observados por Assis (2001) e Soares (2002) ao trabalharem, respectivamente com PC e FT em substituição total ao milho no concentrado de vacas lactantes. Embora não apresentando regressão significativa, os dados de Soares (2002) mostram diminuição crescente quando o FT substituiu o milho em 0, 33, 66 e 100% do concentrado, possivelmente por ter utilizado 30% de concentrado na dieta e o FT ter apresentado maior efeito de enchimento ruminal em relação à quantidade de FDN na dieta com este ingrediente. Broderick et al. (2002) observaram que a substituição parcial de milho laminado ou espigas de milho de alta umidade por polpa cítrica proporcionou redução no consumo de matéria seca de vacas de alta produção, o que poderia ser justificado, de acordo com Solomon et al. (2000), se houvesse uma menor extensão de digestão ou taxa de digestão no rúmen da matéria orgânica nas dietas contendo polpa.

Os valores observados para a estimativa de síntese microbiana, teores de NDT e digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes estão presentes na Tabela 3, e não foi observada interação significativa ( $P > 0,10$ ) entre óleo e fonte de carboidrato. A presença de óleo na dieta não influenciou a digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, com exceção da digestibilidade aparente do extrato etéreo, em que foi maior na presença de óleo, o que pode ser justificado pela maior presença de ácidos graxos monoinsaturados, que auxiliam na formação da micela no duodeno durante o processo

digestivo (Palmquist, 1994). A inclusão de óleo de soja nas dietas não influenciou ( $P>0,10$ ) a digestibilidade aparente total da FDN, indicando que a população microbiana Gram-positiva foi pouco alterada pela presença do óleo, possivelmente pelo nível de óleo de soja utilizado.

Tabela 3 – Valores médios da digestibilidade aparente total da matéria seca (DMS), da matéria orgânica (DMO), da proteína bruta (PB), da fibra em detergente neutro (DFDN), do extrato etéreo (DEE), dos carboidratos não fibrosos (DCNF), dos carboidratos totais (DCHOT) e NDT observado de vacas alimentadas com diferentes carboidratos no concentrado combinado com óleo de soja

Item	Fonte de carboidratos <sup>1</sup>				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0 %	2,25 %	P>F
DMS, %	69,87	68,29	71,25	0,1520	69,93	69,68	0,8326
DMO, %	70,10 <sup>AB</sup>	68,96 <sup>A</sup>	72,34 <sup>B</sup>	0,0659	70,85	70,09	0,4986
DPB, %	74,16	75,93	74,82	0,5831	74,66	75,28	0,6658
DEE, %	76,07	80,59	79,56	0,1112	75,30 <sup>a</sup>	82,17 <sup>b</sup>	0,0008
DFDN, %	49,13 <sup>B</sup>	53,36 <sup>AB</sup>	56,23 <sup>A</sup>	0,0170	54,04	51,78	0,2332
DCNF, %	84,42	83,16	85,48	0,2349	84,18	84,53	0,7463
DCHOT, %	68,74 <sup>B</sup>	67,91 <sup>B</sup>	71,30 <sup>A</sup>	0,0399	69,61	69,02	0,5742
Nmic, g N/dia	253,4	226,5	237,5	0,1265	234,8	244,0	0,3953
NDTo, %	69,12 <sup>A</sup>	69,66 <sup>AB</sup>	72,23 <sup>B</sup>	0,0506	68,50 <sup>a</sup>	72,17 <sup>b</sup>	0,0015

<sup>1</sup> MI = milho; FT = farelo de trigo; PC = polpa cítrica;

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ( $P<0,10$ );

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ( $P<0,10$ ).

Os tratamentos envolvendo as fontes de carboidratos apresentaram valores similares ( $P>0,10$ ) para a digestibilidade da MS, proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos. Maiores valores de digestibilidade da MO e CHOT foram obtidos com a dieta contendo PC em relação ao FT ( $P<0,10$ ), sendo MI intermediário entre os demais. A digestibilidade da FDN foi maior em PC que no MI (56,2 vs 49,1%) e FT apresentou valores intermediário (53,4%), não diferindo do milho.

Bernard & McNeill (1991) observaram redução nas digestibilidades da MS e FDN quando comparam dietas contendo milho, farelo de trigo ou casca de soja, outro ingrediente rico em pectina. Os resultados coincidem com os do presente trabalho, com menor digestibilidade da MS para o farelo de trigo e milho e maior para o subproduto rico em pectina, embora tenham observado que a redução na digestibilidade tenha vindo acompanhada por uma redução no consumo da dieta contendo farelo de trigo. A menor digestibilidade da MO poderia ser explicada pela menor concentração de carboidratos não fibrosos na dieta com FT. De acordo com Ipharraguerre et al. (2002), a taxa de passagem pelo rúmen pode ter aumentado para manter o consumo e, embora a dieta contendo FT não tenha diferido entre as demais em relação a digestibilidade da FDN, pode ter ocorrido fermentação microbiana compensatória da FDN no intestino grosso. Com a exceção de alguns oligossacarídeos, amido e açúcares são passíveis de digestão e absorção no duodeno, enquanto sacarídeos não amiláceos, como pectina, hemicelulose e celulose, somente são digeridas por enzimas microbianas, o que pode também parcialmente explicar a menor digestibilidade dos CHOT da dieta FT.

A menor digestibilidade da FDN verificada na dieta com milho pode ser explicada pelo maior concentração de CNF na dieta (Tabela 1). Batajoo & Shaver (1994) observaram que a menor digestibilidade da FDN nas dietas com alto conteúdo de CNF foi associada ao menor pH, maior concentração de AGV e menor taxa acetato:propionato, quando variou o conteúdo da dieta de 24 a 42% de CNF. Isto também sugere que tenha ocorrido maior pH, maior proporção de acetato e menor de propionato nas dietas contendo polpa e farelo de trigo.

A produção de nitrogênio microbiano não foi alterada em função da presença de óleo, embora tenha apresentado valor 4,0% maior. Observaram-se tendência ( $P=0,12$ ) para maior síntese microbiana na dieta com MI em relação à dieta com FT (253,4 vs

226,5 g N/dia) e PC foi intermediário às duas (237,5 g N/dia), justificando-se pela diferença entre os conteúdos de CNF nas dietas e à diferente composição dos carboidratos do concentrado. Hall (2001) sugere que o crescimento microbiano é diferente dependendo do perfil dos carboidratos disponíveis à fermentação, como amido, pectina e açúcares, indicando que tanto a qualidade como a quantidade de proteína microbiana que chega ao duodeno pode ser alterada.

A partir dos ensaios de digestibilidade calculou-se o valor do NDT observado das dietas, apresentando valores médios de 68,5 e 72,2%, respectivamente, para as dietas sem e com óleo.

A produção de leite e a produção de leite corrigida para proteína e gordura respectivamente 23,5 e 22,6 kg/dia (Tabela 4), não apresentaram resposta em relação à fonte de carboidrato ou à presença de óleo de soja. Em outros experimentos (Bernard & MacNeill, 1991; Assis, 2001; Soares, 2002), a substituição do milho por polpa cítrica ou farelo de trigo não apresentou diferenças na produção de leite ou produção corrigida em vacas de média produção. Entretanto, aqueles subprodutos não têm assegurado a mesma produção de leite quando estes substituem o milho na dieta de vacas de alta produção (Sutton et al., 1987; Solomon et al., 2000; Broderick et al., 2002).

Em relação ao óleo, a literatura tem divergido quanto às respostas com a suplementação de lipídios para vacas de leite, e depende da fase da lactação, da fonte e do nível utilizado, além da possibilidade do maior aporte de energia na dieta ser direcionado a outras funções fisiológicas, como a manutenção dos tecidos ou a reprodução (Palmquist, 1994). Embora não tenha apresentado diferenças sobre a produção, a redução no consumo permitiu que as dietas com óleo apresentassem maior eficiência alimentar (9,8%), não se observando efeito para as fontes de carboidratos.

Tabela 4 – Produção de leite corrigida (PLcorr) ou não (PL), eficiência da produção de leite (EfPL, kg leite/CMS), percentagens e produção de gordura e de proteína, percentagens de lactose e de extrato seco desengordurado (ESD), relação proteína:gordura (RPG) e concentração de energia líquida no leite de vacas alimentadas com diferentes carboidratos no concentrado combinado com óleo de soja

Item	Fonte de carboidratos <sup>1</sup>				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0 %	2,25 %	P>F
PL, kg/dia	24,0	23,0	23,7	0,8114	23,2	23,8	0,7587
PLcorr, kg/dia	23,0	22,0	22,8	0,8085	22,7	22,5	0,8836
EfPL	1,31	1,27	1,31	0,7899	1,23 <sup>b</sup>	1,35 <sup>a</sup>	0,1026
Gordura, %	3,25	3,24	3,22	0,9025	3,34 <sup>a</sup>	3,13 <sup>b</sup>	0,0052
em kg/dia	0,780	0,740	0,760	0,7823	0,778	0,742	0,4525
Proteína, %	3,08	3,13	3,19	0,2140	3,13	3,13	0,8944
em kg/dia	0,740	0,715	0,752	0,7898	0,728	0,744	0,7274
RPG	0,95	0,97	1,00	0,3797	0,94 <sup>b</sup>	1,00 <sup>a</sup>	0,0298
Lactose, %	4,37 <sup>AB</sup>	4,34 <sup>B</sup>	4,53 <sup>A</sup>	0,0497	4,49 <sup>a</sup>	4,33 <sup>b</sup>	0,0166
ESD, %	11,69	11,64	11,83	0,4181	12,05 <sup>a</sup>	11,31 <sup>b</sup>	0,0001
EL, Mcal/kg	0,643	0,644	0,652	0,5398	0,659 <sup>a</sup>	0,633 <sup>b</sup>	0,0011
EL, Mcal/dia	15,44	14,71	15,42	0,7549	15,25	15,04	0,7435

<sup>1</sup> MI = milho; FT = farelo de trigo; PC = polpa cítrica;

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,10);

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

As percentagens e produção de proteína e gordura não foram influenciadas pela fonte de carboidrato. No entanto, o teor de gordura do leite de dietas contendo óleo foi reduzido, indicando a formação do isômero *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e seu CLA correlato durante a bio-hidrogenação dos ácidos graxos no rúmen (Eifert, 2003, Capítulo 5). O CLA *trans* 10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> e o *trans*-10 C<sub>18:1</sub> são formados no rúmen a partir da bio-hidrogenação ruminal do ácido linoléico e estão relacionados à inibição da síntese *de novo* na glândula mamária por reduzir a atividade de enzimas chave, como a acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase (Baumgard et al., 2002).

Nas dietas contendo óleo, a redução na gordura do leite foi acompanhada por um pequeno acréscimo na produção de leite (23,8 vs 23,2 kg/dia), permitindo similares produções de gordura entre os tratamentos com e sem óleo. A presença de óleo também aumentou a relação proteína:gordura, o que é interessante para a indústria alimentícia na fabricação de derivados do leite e em regiões onde existem cotas para gordura.

A concentração de lactose e de ESD foi reduzida nas dietas contendo óleo. Lactose também diminuiu em relação à fonte de carboidrato utilizado, com FT apresentando menor conteúdo em relação à PC. Lactose é o mais importante constituinte osmótico do leite, por estar associado com a secreção de água e ao volume de leite produzido e é dependente de glicose para sua síntese. Glicose pode ser originada a partir do propionato do rúmen, do amido absorvido no intestino ou da formação de glicose a partir da gliconeogênese. O menor conteúdo de lactose nas dietas com FT sugere a deficiência de precursores de glicose, confirmando a tendência à menor produção de leite que as demais dietas.

Em razão das diferentes proporções dos constituintes do leite, a concentração de energia líquida no leite e a sua excreção diária não foram alteradas pela fonte de carboidrato. Por outro lado, as menores concentrações de lactose e de gordura verificadas no leite das vacas das dietas com óleo proporcionaram um leite com menor concentração calórica, embora não tenham diferido entre si na excreção total de EL por dia, o que sugere que houve efeito de diluição, e que apesar da pequena resposta, a redução na concentração energética foi compensada com uma maior produção de leite.

## **Conclusões**

O milho pode ser substituído pela polpa cítrica ou pelo farelo de trigo na composição do concentrado de vacas de média produção, sem influenciar o consumo e a produção do leite. Entretanto, em virtude das menores taxas de digestão, síntese microbiana e proporção de lactose, o farelo de trigo deve ser recomendado com cautela para a inclusão como o principal ingrediente no concentrado para vacas de alta produção.

A utilização de óleo de soja em baixos níveis na dieta reduz o consumo alimentar permitindo maior eficiência na produção de leite. A inclusão de óleo de soja altera a composição do leite, principalmente sobre a concentração de gordura e a relação proteína:gordura.

## Literatura citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH (AFRC). **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford, U.K., CAB International. 1993.
- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1598–1624, 2000.
- ASSIS, A.J. **Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação**. Viçosa, MG:UFV, 2001. 41 p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- BATAJOO, K.K.; SHAVER, R.D. Impact of nonfiber carbohydrate on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1580-1588, 1994.
- BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2451–2458, 1998.
- BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A. et al. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155–2163, 2002.
- BERNARD, J.K.; MCNEILL, W.W. Effect of high fiber energy supplements on nutrient digestibility and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 991–995, 1991.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p., 1992.
- BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J. et al. The effects of starch and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 24, p. 289-298, 1989.
- BRODERICK, G.A.; MERTENS, D.R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1767-1776, 2002.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- DURAND, M.; DUMAY, C.; BEAUMATIN, P. et al. Use of the rumen simulation technique (rusitec) to compare microbial digestion of various by-products. **Animal Feed Science and Technology**, v.21, p. 197-204, 1988.
- EIFERT, E.C. **Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina sódica para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- HALL, M.B. Recentes avanços em carboidratos não fibrosos na alimentação de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE

- LEITE: NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.149-159.
- HESS, B.W.; KRYSL, L.J.; JUDKINS, M.B. et al. Supplemental cracked corn or wheat bran for steers grazing endophyte-free fescue pasture: effects on live weight gain, nutrient quality, forage intake, particulate and fluid kinetics, ruminal fermentation, and digestion. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1116–1125, 1996.
- IPHARRAGUERRE, I.R.; IPHARRAGUERRE, R.R.; CLARK, J.H. Performance of lactating dairy cows fed varying amounts of soyhulls as a replacement for corn grain. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2905–2912, 2002.
- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3851-3863, 1993.
- LEIVA, E.; HALL, M.B.; Van HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as source of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v.83, p. 2866-2875, 2000.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C., (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. American Society of Agronomy. NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION, 1994. p.450-493.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J., et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic & Professional, 2º edition, Great Britain. p.524-632, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: National Academy, 2001. 381p.
- PALMQUIST, D.L. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. Conference: regulating lipids metabolism to increase productive efficiency. **Journal of Nutrition**, v. 124, p.1377S-1382S, 1994.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG:UFV, 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- SAS / STAT. User's guide, Version 6.12 Fourth Edition, vol. 1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. February, 890 p., 1999.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002. 235p.
- 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, p.3562-3577, 1992.
- SOARES, C.A. **Utilização do farelo de trigo em substituição ao fubá de milho na dieta de vacas em lactação**. Viçosa, MG:UFV, 2002. 41 p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- SOLOMON, R.; CHASE, L.E.; BEN-GHEDALIA D. et al. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of

- conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1322–1329, 2000.
- SUTTON, J. D.; BINES, J.A.; MORANT, J.D. et al. A comparison of starchy and fibrous concentrates for milk production, energy utilization and hay intake by Friesian cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 375–386, 1987.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. **Journal of Dairy Science**, v.82,p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. Soluble carbohydrates and the non-fiber components of feeds. **Large Animal Veterinary**, v. 40, p. 44-46, 1987.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.

## Perfil de Ácidos Graxos e Conteúdo de CLA no Leite de Vacas Alimentadas com a Combinação de Óleo de Soja e Fontes de Carboidratos na Dieta

**Resumo:** O trabalho foi realizado no Setor de Bovinos de Leite da UFV utilizando-se 12 vacas lactantes holandês cruzadas, em quatro quadrados latinos 3x3, avaliando-se os efeitos de diferentes dietas sobre o perfil dos ácidos graxos (AG) e o conteúdo de CLA no leite. Os tratamentos consistiram de concentrados formulados com milho (MI), ou sua total substituição por farelo de trigo (FT) ou polpa cítrica (PC), estando associados ou não à inclusão de óleo de soja (0 e 2,25%), perfazendo um delineamento fatorial 3x2. Os animais foram selecionados aos pares, de acordo com o histórico de produção, estágio de lactação e número de parições, onde cada qual foi alojado em um quadrado latino com e outro sem óleo na dieta. A análise cromatográfica indicou que mais de 95% dos ácidos graxos foram recuperados. Não foi verificada interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre a presença de óleo e a fonte de carboidratos em qualquer variável avaliada, com exceção das concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e a proporção de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> nos totais *trans*-C<sub>18:1</sub> do leite. A fonte de carboidrato utilizada não influenciou o perfil de ácidos graxos do leite ou o teor de CLA. A inclusão de óleo de soja aumentou a insaturação do leite em 35% e reduziu os AG saturados em 14%, principalmente sobre os AG de cadeia curta (9,66 vs 7,59 g/100 g) e os AG de cadeia média (51,80 vs 40,86 g/100 g). O óleo aumentou os AG de cadeia longa (32,17 vs 46,47 g/100 g), principalmente C<sub>18:0</sub> (13,63 vs 9,44 g/100 g), C<sub>18:1</sub> (20,28 vs 29,74 g/100 g) e C<sub>18:2</sub> (2,16 vs 2,92 g/100 g). A concentração de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> foi aumentada em 230 % (0,46 vs 1,06 g/100 g) na presença de óleo. A concentração dos AG *cis* e *trans*-C<sub>18:1</sub> também foi aumentada, e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> foi o principal isômero *trans*, embora *trans*-10 C<sub>18:1</sub> tenha se elevado de 0,28 para 1,11 g/100 g na presença de óleo, sendo dependente da fonte de carboidrato. MI, FT e PC apresentaram conteúdos deste isômero semelhantes, mas na presença de óleo, MI e FT apresentaram valores muito superiores à PC, indicando diferentes rotas de bio-hidrogenação. Os conteúdos de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> são coerentes com a redução no teor de gordura do leite.

Palavras-chave: bio-hidrogenação, composição do leite, farelo de trigo, lipídios, polpa cítrica, síntese *de novo*.

## Introdução

É crescente o número de informações a respeito da influência da gordura do leite e da carne de ruminantes sobre a saúde humana. Embora o leite de bovinos apresente alta concentração de ácidos graxos saturados, como os oriundos da síntese *de novo*, a literatura tem indicado que no perfil da gordura do leite há vários compostos benéficos à saúde humana. Parodi (1999) enumerou uma série de compostos anticarcinogênicos presentes na gordura do leite, como o ácido linoléico conjugado (CLA), esfingomiéline, ácido butírico, éteres lipídicos,  $\beta$ -caroteno e as vitaminas A e D. Especificamente em relação aos isômeros do CLA, efeitos anticarcinogênicos, antidiabéticos, modulação do sistema imune, partição da energia, e redução no desenvolvimento de aterosclerose têm sido reportados (Bauman et al., 2000) e elevar o conteúdo de CLA tem-se tornado o foco de inúmeras pesquisas recentemente.

O CLA na carne e no leite de ruminantes tem origem a partir do CLA resultante da parcial bio-hidrogenação ruminal do ácido linoléico e da síntese endógena a partir da ação da enzima  $\Delta^9$ -desaturase sobre o *trans*-11 C<sub>18:1</sub> na glândula mamária, outro ácido graxo intermediário da bio-hidrogenação ruminal (Lawson et al., 2001).

Para Bauman et al. (2000), cerca de 80% do CLA encontrado no leite é o isômero *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub>. Estes autores têm estudado os fatores dietéticos que podem aumentar a concentração de CLA na gordura do leite, envolvendo a adição de lipídios na dieta, alteração de forragem e concentrado, utilização de ionóforos e tampões, e a utilização de pastagem, entre outros. Sem dúvida, as maiores respostas são observadas quando o ácido linoléico é adicionado à dieta.

Por vezes, tratamentos dietéticos que elevam o teor de CLA simultaneamente reduzem o teor de gordura do leite. Dhiman et al. (2000) observaram um aumento de

237% no conteúdo de CLA em dietas contendo 2,5% de óleo de soja, porém foi acompanhado por uma redução de 23% no teor de gordura do leite. Dietas contendo altas quantidades de grãos ou grãos acompanhados de lipídios insaturados causam redução na gordura do leite, com aumentos nos AG *trans*-C<sub>18:1</sub>, diminuição nas concentrações de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> e concomitante aumento nas concentrações de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> (Piperova et al., 2000).

Para Griinari et al. (1998), situações dietéticas onde o ambiente ruminal é alterado, por exemplo baixa fibra efetiva e alta quantidade de grãos, podem reduzir o pH ruminal e alterar a população microbiana levando a um desvio das rotas usuais de bio-hidrogenação ruminal, alterando a formação de *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> para a formação de *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> e *trans*-10 C<sub>18:1</sub> como principais intermediários da bio-hidrogenação do ácido linoléico. *Trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> e *trans*-10 C<sub>18:1</sub> estão envolvidos na inibição da atividade das enzimas acetil CoA carboxilase e ácido graxo sintetase na glândula mamária, responsável pela síntese *de novo* dos AG com até 16 carbonos (Piperova et al., 2000; Baumgard et al., 2002).

Os efeitos de diferentes fontes de carboidratos sobre o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de CLA do leite têm sido pouco estudados. Solomon et al. (2000) não observaram interação entre grãos de soja extrusados e a fonte de carboidrato sobre o conteúdo de CLA do leite, quando o milho foi substituído por polpa cítrica no concentrado. A substituição do amido do milho por pectina da polpa cítrica tem alterado os padrões de fermentação ruminal, levando a uma maior formação de acetato e menor de propionato (Hall, 2001), mantendo o pH do rúmen mais alto (Leiva et al., 2000). Solomon et al. (2000) utilizaram grãos de soja extrusados como substrato à bio-hidrogenação para aumentar o conteúdo de CLA, pois esta fonte é considerada inerte sobre a população microbiana no rúmen. *Butyrivibrio fibrisolvens* é uma espécie

bacteriana gram-negativa pertencente ao grupo A, responsável por converter o ácido linoléico em CLA, e é bastante versátil em relação à fermentação de diferentes substratos, podendo fermentar pectina, amido, hemicelulose e celulose, conseqüentemente, produzindo diferentes produtos finais da fermentação (Solomon et al., 2000).

A utilização de óleos insaturados tem apresentado efeitos sobre a população microbiana ao alterar a atividade da população celulolítica, influenciando a digestibilidade ruminal da fibra (Jenkins, 1993; Eifert, 2004, Capítulo 1). Assim, óleo de soja pode apresentar efeitos diferentes aos grãos de soja extrusados, principalmente sobre a atividade das bactérias ruminais, como *Butyrivibrio fibrisolvens*, podendo alterar a formação de CLA e o processo de bio-hidrogenação.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da combinação de óleo de soja com diferentes fontes de carboidratos no concentrado sobre o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de CLA da gordura do leite.

### **Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Setor de Pesquisa e Ensino em Gado de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período compreendido entre dezembro de 2001 e março de 2002.

Foram utilizadas 12 vacas múltiparas lactantes, 7/8 Holandês Gir, com 86 dias em lactação, dispostas em quatro quadrados latinos 3x3. Os animais foram escolhidos aos pares e cada um alojado em um dos quadrados, de acordo com o histórico prévio de produção de leite, estágio de lactação e número de parições.

Os tratamentos consistiram da substituição total do milho no concentrado (MI) por farelo de trigo (FT) ou polpa cítrica (PC), associados ou não ao óleo de soja (0 e 2,25% de óleo de soja). Assim, o delineamento foi um ensaio fatorial 3x2, com dois níveis de óleo e três fontes de carboidratos.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais

Item	Fonte de carboidratos					
	MI		FT		PC	
	Óleo de soja					
	0%	2,25%	0%	2,25%	0%	2,25%
	----- Proporção dos ingredientes, %-----					
Silagem de milho	55,19	55,04	55,36	55,10	55,27	55,05
Farelo de soja	19,78	20,35	14,09	15,37	21,45	21,88
Fubá de milho	23,28	20,61	-	-	-	-
Farelo de trigo	-	-	28,99	25,71	-	-
Polpa cítrica	-	-	-	-	21,81	19,34
Calcário calcítico	0,77	0,77	0,95	0,95	-	-
Fosfato bicálcico	0,36	0,36	-	-	0,86	0,86
Sal comum	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
Óleo de soja <sup>1</sup>	-	2,25	-	2,25	-	2,25
	----- Composição bromatológica, %-----					
MO	93,06	93,24	93,36	93,53	94,03	94,12
PB	14,70	14,98	15,73	15,92	15,58	15,78
EE	2,80	4,93	2,81	4,95	2,42	4,60
FDN	35,28	35,05	45,40	43,99	38,24	37,65
FDA	20,34	20,25	25,96	25,22	22,57	22,21
CNF	40,28	38,28	29,42	28,67	38,73	36,09
NDT <sup>2</sup>	72,96	75,09	68,51	71,18	71,12	73,50

<sup>1</sup> óleo de soja foi misturado ao concentrado

<sup>2</sup> NDT calculado a partir do NRC (2001)

Cada período experimental teve duração de 17 dias, sendo 10 para adaptação e sete dias de coleta das amostras e dos resultados. Os animais foram alojados em baias individuais, tipo ‘tie-stall’, alimentados e ordenhados duas vezes ao dia, com controle

diário de oferta e sobras dos alimentos. As dietas continham 55,2% de silagem de milho e 44,8% de concentrado, e em média, 15,5% de PB e 39,3% de FDN (Tabela 1). As dietas foram formuladas a partir do NRC (2001) para atender as necessidades de vacas produzindo 20 kg/dia de leite.

A produção de leite foi medida diariamente e amostras do leite de dois dias de ordenha consecutivos foram retiradas para a avaliação da composição do leite. A composição do leite foi obtida no Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA Gado de Leite através da análise do infravermelho em um aparelho Bentley 2000.

Uma alíquota de 2 % da produção de leite foi retirada e congelada para a posterior análise do perfil de ácidos graxos do leite. A extração da gordura foi baseada no método descrito por Nourooz-Zadeh & Appelqvist (1988). Para tal, 17 mL de leite (em duplicata) foram transferidos para um funil de separação, com acréscimo de 30 ml de isopropanol. Após agitação, foram acrescentados 22,5 ml de hexano, agitado por mais três minutos. A mistura foi centrifugada a 2520 g por 5 minutos na temperatura de 5°C. A camada superior foi transferida para outro funil de separação. A camada inferior foi extraída mais duas vezes com 22,5 ml de hexano, e esses extratos foram adicionados ao primeiro. A água foi retirada dos extratos com a adição de 15 ml de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,47 M. A camada de hexano foi coletada em frasco, e evaporada a 50°C em evaporador rotativo com fluxo de nitrogênio contínuo. O resíduo foi dissolvido em 50 ml de clorofórmio e seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro.

A transesterificação dos ácidos graxos foi realizada conforme descrito por Christie (1982). O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa utilizando uma coluna capilar de 100 m de sílica fundida (SP-2560) e detector de ionização de chama (FID). A corrida teve uma duração de 70 minutos, utilizando-se nitrogênio como gás de arraste a um fluxo de 40 ml/minuto. Uma manteiga padrão (CRM 164;

Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium) foi utilizada para determinar os fatores de recuperação para os ácidos graxos, cujas concentrações foram expressas em g/100g de ácidos graxos totais. As análises cromatográficas e o processo de transesterificação dos ácidos graxos do leite foram realizados no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da ESALQ-USP.

Os dados foram submetidos à análise estatística com o auxílio do programa estatístico SAS (1999), avaliando-se os efeitos da fonte de carboidratos, óleo e a interação; além dos efeitos de animal, quadrado, animal dentro de quadrado e período. Adotou-se o nível de significância de 10% na comparação dos resultados.

### Resultados e discussão

Tabela 2 – Consumo de matéria seca (CMS), produção (PL) e teor de gordura no leite de vacas alimentadas com diferentes carboidratos no concentrado combinado com óleo de soja

Item	Fonte de carboidratos <sup>1</sup>				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0%	2,25%	P>F
CMS, kg/dia	18,4	18,3	18,4	0,9911	19,0 <sup>a</sup>	17,8 <sup>b</sup>	0,0668
PL, kg/dia	24,0	23,0	23,7	0,8114	23,2	23,8	0,7587
Gordura, %	3,25	3,24	3,22	0,9025	3,34 <sup>a</sup>	3,13 <sup>b</sup>	0,0052

<sup>1</sup>MI = milho; FT = farelo de trigo; PC = polpa cítrica

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,10)

A Tabela 2 apresenta os valores médios observados para o consumo de matéria seca, a produção de leite e o teor de gordura do leite das vacas alimentadas com diferentes fontes de carboidratos combinados com óleo de soja. A produção de leite, o teor de gordura e o consumo não foram influenciados pelas fontes de carboidratos, mas o consumo e o teor de gordura do leite reduziram na presença de óleo. A discussão destas variáveis foi realizada em outro trabalho (Eifert 2003, Capítulo 4), mas justifica-

se sua presença em função da redução no teor de gordura do leite na presença de óleo e seu relacionamento com o perfil dos ácidos graxos observados.

Tabela 3 – Perfil dos ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos, em g/100g

Item	Fonte de carboidratos <sup>1</sup>				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0%	2,25%	P>F
Cadeia curta <sup>2</sup>	8,44	8,72	8,71	0,7687	9,66 <sup>a</sup>	7,59 <sup>b</sup>	0,0001
Cadeia média <sup>3</sup>	45,81	47,85	45,34	0,3397	51,80 <sup>a</sup>	40,86 <sup>b</sup>	0,0001
Cadeia longa <sup>4</sup>	38,90	38,61	40,44	0,6345	32,17 <sup>a</sup>	46,47 <sup>b</sup>	0,0001
Cadeia impar <sup>5</sup>	3,08	2,82	2,93	0,2467	3,19 <sup>a</sup>	2,70 <sup>b</sup>	0,0007
Saturados	63,78	66,32	63,71	0,1461	68,71 <sup>a</sup>	60,50 <sup>b</sup>	0,0001
Insaturados	30,78	30,59	32,50	0,2999	26,45 <sup>a</sup>	36,12 <sup>b</sup>	0,0001
MUFA <sup>6</sup>	27,98	28,04	29,51	0,3378	24,12 <sup>a</sup>	32,89 <sup>b</sup>	0,0001
PUFA <sup>7</sup>	2,66	2,81	2,97	0,6485	2,43 <sup>a</sup>	3,20 <sup>b</sup>	0,0087
Recuperados	94,18	96,89	95,89	0,1823	95,08	96,22	0,3502

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>1</sup> MI= milho; FT= farelo de trigo; PC= polpa cítrica

<sup>2</sup>  $\sum C_4 - C_{10}$ ; <sup>3</sup>  $\sum C_{12} - C_{16}$ ; <sup>4</sup>  $\sum C_{17} - C_{20}$ ; <sup>5</sup>  $\sum C_{13}, C_{15}, C_{17}$ ; <sup>6</sup> ácidos graxos monoinsaturados; <sup>7</sup> ácidos graxos poliinsaturados

A Tabela 3 indica que mais de 95% dos ácidos graxos foram recuperados na análise cromatográfica. Os diferentes carboidratos não influenciaram o perfil da gordura do leite (Tabela 3) e as maiores alterações foram verificadas quando o óleo foi adicionado às dietas. A inclusão de óleo de soja reduziu a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta e cadeia média em 27%, em média. O detalhamento dos AG de cadeias média e curta está presente na Tabela 4. Todos os ácidos graxos de cadeia média (C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>) e curta (C<sub>4</sub>-C<sub>10</sub>) foram reduzidos na presença do óleo, com exceção do ácido butírico (C<sub>4:0</sub>), que pode ser incorporado diretamente após o β-hidroxibutirato sofrer β-redução, não dependendo da participação de malonil-CoA ou da ação da acetil CoA carboxilase (Fox & McSweeney, 1998). A consistência nas proporções de butirato é

interessante, particularmente devido aos efeitos positivos do ácido butírico sobre a saúde humana (Parodi, 1999; Chilliard et al., 2000).

Tabela 4 – Perfil dos ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos, em g/100g

Item	Fonte de carboidratos				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0%	2,25%	P>F
C <sub>4:0</sub>	3,50	3,33	3,56	0,5196	3,58	3,34	0,1576
C <sub>6:0</sub>	2,26	2,16	2,26	0,5697	2,50 <sup>a</sup>	1,56 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>8:0</sub>	1,24	1,20	1,22	0,8140	1,42 <sup>a</sup>	1,02 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>10:0</sub>	2,48	2,51	2,47	0,9734	2,94 <sup>a</sup>	2,03 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>10:1</sub>	0,29	0,25	0,27	0,4784	0,34 <sup>a</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>12:0</sub>	2,83	2,87	2,72	0,7214	3,30 <sup>a</sup>	2,30 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>12:1</sub>	0,18	0,18	0,16	0,3210	0,21 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>14:0</sub>	10,01	9,72	9,49	0,5840	10,76 <sup>a</sup>	8,73 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>14:0 iso</sub>	0,20	0,44	0,21	0,3151	0,23 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>14:1 C<sub>9</sub></sub>	0,99	0,93	0,96	0,8297	1,10 <sup>a</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,0021
C <sub>16:0</sub>	28,70	28,08	27,07	0,3053	31,03 <sup>a</sup>	24,21 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>16:0 iso</sub>	0,27	0,25	0,28	0,7484	0,26	0,27	0,5481
C <sub>16:1 C<sub>9</sub></sub>	1,75	1,66	1,70	0,6180	1,78	1,61	0,1092
C <sub>13:0</sub>	0,14	0,12	0,12	0,2690	0,15 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,0004
C <sub>15:0</sub>	1,83	1,76	1,75	0,2022	1,99 <sup>a</sup>	1,57 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>17:0</sub>	0,99	0,90	0,98	0,4391	0,98	0,93	0,3973
C <sub>17:1</sub>	0,38	0,34	0,38	0,5171	0,38	0,35	0,5282
C <sub>18:0</sub>	11,69	11,34	11,58	0,9463	9,44 <sup>a</sup>	13,63 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>18:1</sub>	24,62	24,40	26,00	0,3780	20,28 <sup>a</sup>	29,74 <sup>b</sup>	0,0001
C <sub>18:2</sub>	2,52	2,41	2,69	0,6764	2,16 <sup>a</sup>	2,92 <sup>b</sup>	0,0077
C <sub>18:3</sub>	0,20	0,24	0,23	0,1612	0,22	0,23	0,4550
> C <sub>18</sub>	0,22	0,20	0,18	0,5081	0,20	0,20	0,7680

<sup>1</sup> MI=milho; FT= farelo de trigo; PC= polpa cítrica

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Considerando que o óleo de soja apresenta cerca de 55% de ácido linoléico, 6% de linolênico e 24% de oléico (Chouinard et al., 1998), as alterações nos ácidos graxos de cadeias média e curta são coerentes com as afirmações de Grummer (1991), onde AG de cadeia longa inibem a incorporação de AG de cadeias média e curta na gordura do leite, e envolvem a enzima acetil-CoA carboxilase, embora os mecanismos não estejam totalmente elucidados. De acordo com Palmquist et al. (1993), ácidos graxos de cadeia longa na dieta ou oriundos da mobilização corpórea resultante do balanço energético negativo (BEN) inibem a síntese *de novo* na glândula mamária. Este processo é dinâmico e à medida que o animal sai do BEN há um concomitante incremento de ácidos graxos de seis a 12 carbonos, chegando a um patamar superior a partir da oitava semana de lactação.

A concentração dos ácidos graxos de cadeia ímpar não foi influenciada pela fonte de carboidratos, mas a inclusão de óleo de soja reduziu sua concentração em aproximadamente 18%, principalmente C<sub>13:0</sub> e C<sub>15:0</sub> (Tabela 4). A principal fonte destes ácidos graxos são as bactérias ruminais que sintetizam os ácidos graxos a partir dos ácidos graxos voláteis de cadeia ímpar. Pouco se sabe a respeito de como bactérias regulam a sua composição lipídica, entretanto, sabe-se que bactérias podem incorporar diretamente os ácidos graxos da dieta. Possivelmente este processo tenha ocorrido, ao verificar que a síntese de ácidos graxos monoinsaturados (C<sub>10:1</sub>) também foi inibida na presença de óleo (Jenkins, 1993). Resultados similares também foram reportados por Mansbridge & Blake (1997), Chilliard et al. (2000) e Solomon et al. (2000).

Concomitantemente à redução dos AG de cadeias curta e média, os ácidos graxos de cadeia longa aumentaram em 44% na presença de óleo. A inclusão do óleo de soja também diminuiu a proporção dos ácidos graxos saturados em 14% e aumentou a participação dos ácidos graxos insaturados, monoinsaturados (MUFA) e poliinsaturados

(PUFA) em 37, 36 e 32%, respectivamente. Ácidos graxos poliinsaturados não são sintetizados pelos tecidos dos ruminantes e, portanto, sua concentração no leite é dependente da quantidade destes ácidos graxos que chegam ao duodeno (Chilliard et al., 2000). Correspondendo ao perfil de ácidos graxos do óleo de soja, observaram-se aumentos na concentração de C<sub>18:2</sub> e C<sub>18:1</sub> (Tabela 4), embora a suplementação com lipídios insaturados não tenha apresentado alteração na concentração de C<sub>18:3</sub>.

Tabela 5 – Perfil dos ácidos graxos *cis* e *trans* octadecenóicos do leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos, (g/100g)

Item	Fonte de carboidratos				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0 %	2,25 %	P>F
<i>trans</i> -6-8 C <sub>18:1</sub>	0,29	0,26	0,29	0,8309	0,19 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,0005
<i>trans</i> -9 C <sub>18:1</sub>	0,18	0,20	0,20	0,9151	0,15 <sup>a</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,0199
<i>trans</i> -11 C <sub>18:1</sub>	1,09	0,99	1,59	0,4697	0,78 <sup>a</sup>	1,66 <sup>b</sup>	0,0446
<i>trans</i> -12 C <sub>18:1</sub>	0,32	0,28	0,33	0,7316	0,23 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,0151
<i>trans</i> -16 C <sub>18:1</sub>	0,20	0,21	0,19	0,9178	0,13 <sup>a</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,0004
<i>cis</i> -9 C <sub>18:1</sub>	20,53	20,76	21,67	0,4578	17,55 <sup>a</sup>	24,42 <sup>b</sup>	0,0001
<i>cis</i> -11 C <sub>18:1</sub>	0,73	0,91	0,87	0,7535	0,75	0,92	0,4219
<i>cis</i> -12 C <sub>18:1</sub>	0,17	0,26	0,23	0,5167	0,15	0,23	0,1251
<i>cis</i> -13 C <sub>18:1</sub>	0,05	0,04	0,03	0,7751	0,04	0,04	0,9804
<i>cis</i> -15 C <sub>18:1</sub>	0,016	0,013	0,005	0,4195	0,003 <sup>a</sup>	0,020 <sup>b</sup>	0,0189
<i>cis</i> - C <sub>18:1</sub>	21,49	21,89	22,91	0,3215	18,51 <sup>a</sup>	25,68 <sup>b</sup>	0,0001
<i>trans</i> -C <sub>18:1</sub>	2,91	2,73	3,10	0,8933	1,77 <sup>a</sup>	4,06 <sup>b</sup>	0,0013

<sup>1</sup> MI= milho; FT= farelo de trigo; PC= polpa citrica; <sup>2</sup> em %.

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05);

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Óleos adicionados às dietas de ruminantes são geralmente altamente bio-hidrogenados no retículo-rúmen. A bio-hidrogenação de óleo de girassol foi de 80% em vacas lactantes (Kalsheuer et al., 1997) e a hidrogenação do ácido linoléico no retículo – rúmen foi de 75% quando até 8% de óleo de soja foi adicionado na dieta de vacas secas

(Bateman & Jenkins, 1998). No presente trabalho, apesar do aumento na concentração de esteárico ( $C_{18:0}$ , Tabela 4), o aumento verificado na concentração dos ácidos graxos *trans*- $C_{18:1}$  indica que a bio-hidrogenação não foi completa no rúmen (Tabela 5), embora seja comum que a extensão da bio-hidrogenação aumente com a elevação do grau de insaturação da dieta (Kalsheuer et al., 1997).

A concentração de *trans*- $C_{18:1}$  foi aumentada em 230% e a concentração de *cis*- $C_{18:1}$  em 39% quando na presença de óleo (Tabela 5). O ácido oléico *cis*-9  $C_{18:1}$  foi o principal isômero *cis*, sendo resultante tanto da dieta como da ação da  $\Delta^9$ -desaturase sobre o ácido esteárico (Jenkins, 1993), enquanto que o vacênico *trans*-11  $C_{18:1}$  foi o principal isômero *trans*. Se por um lado somente as concentrações dos ácido oléico e de *cis*-15  $C_{18:1}$  foram aumentadas nos ácidos *cis*, todos os isômeros *trans*- $C_{18:1}$  recuperados foram aumentados na presença de óleo de soja. *Cis*-15  $C_{18:1}$  é originário da bio-hidrogenação do ácido linolênico e sua concentração é proporcional à sua concentração no óleo de soja.

Nos últimos anos têm-se discutido a respeito do papel dos isômeros *trans* gerados no rúmen durante a bio-hidrogenação e o acúmulo destes isômeros pode ser função da menor toxicidade da configuração *trans* comparada com a configuração *cis* às membranas celulares (Bessa et al., 2000). A rota da bio-hidrogenação do ácido linoléico envolve a formação de um dieno conjugado e posterior formação de um isômero *trans* até a completa saturação a esteárico ( $C_{18:0}$ ). Embora a formação de CLA *cis*-9 *trans*-11  $C_{18:2}$  e de *trans*-11  $C_{18:1}$  esteja envolvida na principal rota de bio-hidrogenação, em situações dietéticas específicas, há o aparecimento de outros dienos e AG *trans* correspondentes (Chilliard et al., 2000), o que concorda com o aumento das concentrações dos diferentes *trans*- $C_{18:1}$  no leite (Tabela 5).

Griinari et al. (1998) observaram que a combinação de dietas com baixa fibra, alto concentrado e presença de lipídicos insaturados reduziu a concentração de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> e aumentaram a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> no leite. O menor pH e a alteração nos padrões de fermentação ruminal observados neste trabalho indicam que a população ruminal responsável pela bio-hidrogenação do ácido linoléico foi alterada, sugerindo que modificações no ambiente ruminal pode levar a rotas alternativas de bio-hidrogenação.

Tabela 5 – Efeito da interação óleo de soja e fontes de carboidratos sobre a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e a proporção de *trans*-10 e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> em relação aos ácidos graxos *trans*-octadecenóicos totais na gordura do leite de vacas (em g/100g)

Óleo de soja	Fonte de carboidrato		
	MI	FT	PC
	----- <i>trans</i> -10 C <sub>18:1</sub> , g/100 g-----		
0 %	0,22 <sup>Aa</sup>	0,22 <sup>Aa</sup>	0,39 <sup>Aa</sup>
2,25 %	1,39 <sup>Ba</sup>	1,36 <sup>Ba</sup>	0,58 <sup>Bb</sup>
	-----T <sub>11</sub> / C <sub>18:1</sub> <i>trans</i> , %-----		
0 %	44	44 <sup>a</sup>	46 <sup>Aa</sup>
2,25 %	33 <sup>Ba</sup>	25 <sup>Ba</sup>	51 <sup>Bb</sup>
	-----T <sub>10</sub> / C <sub>18:1</sub> <i>trans</i> , %-----		
0 %	13 <sup>Aa</sup>	15 <sup>Aa</sup>	17 <sup>Aa</sup>
2,25 %	33 <sup>Ba</sup>	42 <sup>Ba</sup>	17 <sup>Bb</sup>

<sup>1</sup> MI= milho; FT= farelo de trigo; PC= polpa cítrica

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>A, B</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Embora as fontes de carboidratos não tenham apresentado diferenças estatísticas (P>0,10) em relação às concentrações de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> no leite, a PC apresentou valores numericamente maiores (53%), o que poderia ser justificado pelas diferenças nos padrões de fermentação da PC em relação ao MI (Solomon et al., 2000; Hall, 2001; Leiva et al., 2002). Em adição, verificou-se interação entre a fonte de carboidratos e a

presença de óleo sobre a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> e a proporção de *trans*-10 e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> em relação aos ácidos graxos *trans*-octadecenóicos totais na gordura do leite (Tabela 6).

Na ausência de óleo, a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> foi semelhante entre as fontes de carboidratos, em média, de 0,28 g/100 g (Tabela 6). Em cada fonte de carboidrato, a concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> foi aumentada na presença de óleo, no entanto, este aumento não foi similar entre as fontes, com a PC apresentando menores valores que MI e FT. Este mesmo raciocínio pode ser empregado para explicar a interação nas proporções de *trans*-10 e *trans*-11 C<sub>18:1</sub> em relação aos ácidos graxos *trans*-C<sub>18:1</sub>, o que reforça que a polpa cítrica permitiu um ambiente ruminal mais apropriado para a rota da bio-hidrogenação envolvendo o CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> e *trans*-11 C<sub>18:1</sub>.

O maior incremento na concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> quando o óleo esteve presente na dieta está em concordância com a redução no teor de gordura das dietas com óleo (Tabela 2), embora não tenha sido observada interação entre óleo e fonte de carboidrato para esta variável. Como anteriormente apresentado na Tabela 3, a redução no teor de gordura foi devido a uma redução dos ácidos graxos de cadeia média (27%) e curta (27%). Bauman & Griinari (2001) indicaram *trans*-10 C<sub>18:1</sub> como o principal *trans*-C<sub>18:1</sub> responsável pela redução do teor de gordura do leite, assim como seu dieno correspondente, o CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub>. Piperova et al. (2000) observaram que infusões no abomaso de CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> promoviam uma redução de 43% no teor de gordura do leite e esta redução associava-se à redução de 61 e 44% na atividade de duas enzimas chave na síntese *de novo*, a acetil-CoA carboxilase e a ácido graxo sintetase, respectivamente.

Apesar da observação de aumentos na concentração de *trans*-10 C<sub>18:1</sub>, a análise cromatográfica não identificou a presença de seu precursor, o CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> (Tabela 7), sugerindo que o processo de bio-hidrogenação sobre este ácido graxo foi intenso ou que a eficiência de transferência do CLA *trans*-10 *cis*-12 C<sub>18:2</sub> seja baixa em relação a sua concentração nos fosfolipídios plasmáticos (Lor & Herbein, 2003).

Tabela 6 – Efeito da combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos sobre as concentrações dos isômeros do ácido linoléico e a atividade da enzima  $\Delta^9$  desaturase na composição dos ácidos graxos da gordura do leite de vacas

Item	Fonte de carboidratos				Óleo de soja		
	MI	FT	PC	P>F	0%	2,25%	P>F
----- Isômeros do ácido linoléico (C <sub>18:2</sub> ) -----							
<i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	2,04	1,95	1,97	0,8228	1,86 <sup>a</sup>	2,11 <sup>b</sup>	0,0533
<i>trans</i> -11 <i>cis</i> -15	0,023	0,016	0,013	0,9336	0,001 <sup>a</sup>	0,034 <sup>b</sup>	0,1251
<i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	0,66	0,65	0,99	0,3575	0,46 <sup>a</sup>	1,06 <sup>b</sup>	0,0089
<i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12	tr <sup>2</sup>	tr	tr	-	tr	0,002 <sup>b</sup>	-
----- Atividade da $\Delta^9$ desaturase -----							
$\Delta^9$ CLA <sup>3</sup>	1,45	1,23	1,69	0,3907	1,71	1,48	0,1359
$\Delta^9$ C <sub>18:1</sub> C <sub>9</sub> <sup>4</sup>	0,56	0,55	0,53	0,6869	0,54	0,55	0,5683
$\Delta^9$ C <sub>16:1</sub> C <sub>9</sub> <sup>5</sup>	16,71	16,90	16,25	0,7301	17,86 <sup>a</sup>	15,38 <sup>b</sup>	0,0012
$\Delta^9$ C <sub>14:1</sub> <sup>6</sup>	11,12	11,94	10,75	0,5869	10,17 <sup>a</sup>	12,36 <sup>b</sup>	0,0314
$\Delta^9$ C <sub>12:1</sub> <sup>7</sup>	16,40	15,55	16,84	0,5462	15,87	16,66	0,4214

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

<sup>1</sup> MI= milho; FT= farelo de trigo; PC= polpa citrica; <sup>2</sup> tr = traços;

<sup>3</sup> *trans*-11/*cis*-9 *trans*-11; <sup>4</sup> C<sub>18:0</sub>/*cis*-9; <sup>5</sup> C<sub>16:0</sub>/C<sub>16:1</sub>; <sup>6</sup> C<sub>14:0</sub>/C<sub>14:1</sub>; <sup>7</sup> C<sub>12:0</sub>/C<sub>12:1</sub>;

A concentração do ácido linoléico não diferiu entre as fontes de carboidratos, mas aumentou na presença de óleo (Tabela 7). O pequeno acréscimo observado (7%) indica intensa bio-hidrogenação do ácido linoléico. O óleo também elevou a concentração de *trans*-11 *cis*-15, porém, sendo oriundo da bio-hidrogenação do ácido linoléico, sua pequena participação na gordura do leite corresponde à proporção deste ácido na dieta.

De uma maneira similar à ocorrência de *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, as fontes de carboidratos não diferiram entre si (P>0,10) quanto ao conteúdo de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub>, embora a dieta contendo polpa cítrica tenha proporcionado conteúdos deste CLA 52 % maior que as dietas que continham MI ou FT. A similaridade das respostas deste CLA com as observadas para *trans*-11 C<sub>18:1</sub>, indicam a forte influência da atividade da  $\Delta^9$ -desaturase na incorporação do CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub>. Como discutido anteriormente, o ambiente ruminal apresentado nas dietas contendo polpa cítrica foi propício ao acúmulo de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> como principal intermediário da bio-hidrogenação e ações dietéticas ou de manejo que aumentem a concentração deste ácido graxo aumentará o substrato para a síntese endógena do CLA. De acordo com Bauman et al. (2000), a síntese endógena a partir da ação da  $\Delta^9$ -desaturase sobre o *trans*-11 C<sub>18:1</sub> é a principal forma de incorporação de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> no leite.

A inclusão de óleo de soja na dieta proporcionou aumentos de 230% no conteúdo de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> do leite e concorda com as afirmações de Bauman et al. (2000) e Chilliard et al. (2000), em que fontes ricas em ácido linoléico, como o óleo de soja, são muito efetivas ao elevar as concentrações deste CLA. Os valores médios observados de CLA *cis*-9 *trans*-11 C<sub>18:2</sub> foram de 0,46 e 1,06 g/100 g para a ausência e presença de óleo, respectivamente. Estes valores concordam com os encontrados por Dhiman et al. (2000) ao verificarem que a inclusão de 2,0% de óleo de soja permitiu aumentos de CLA em 237%. Chilliard et al. (2000), ao revisarem a literatura, observam que valores de CLA compreendidos entre 0,8 e 1,6% da gordura do leite são esperados para esta dose de óleo de soja.

Ainda na Tabela 7 estão apresentados os valores que estimam a atividade da  $\Delta^9$ -desaturase relacionando o precursor e o produto e maiores valores indicam inibição da atividade desta enzima. Não verificou-se influências da fonte de carboidratos ou do óleo

de soja na atividade da  $\Delta^9$ -desaturase sobre o CLA ou sobre o ácido oléico, embora a atividade desta enzima tenha sido aumentada em relação ao palmítico (C<sub>16:0</sub>) e reduzida em relação ao láurico (C<sub>14:0</sub>).

### Conclusões

A utilização de milho, polpa cítrica ou farelo de trigo no concentrado implica em poucas alterações no perfil de ácido graxos do leite. Entretanto, os resultados indicam que a polpa cítrica mantém o ambiente ruminal favorável ao acúmulo de *trans*-11 C<sub>18:1</sub> como o principal ácido graxo *trans* no rúmen, aumentando o fornecimento de substrato para a síntese endógena de CLA. Possivelmente, respostas mais consistentes em relação à polpa cítrica podem ser encontradas quando o nível de concentrado na dieta for aumentado.

A presença de óleo de soja nas dietas permite alterar o perfil da gordura do leite. A elevação da concentração de insaturados e do conteúdo de CLA, e o aumento da participação de ácidos graxos de cadeia longa em detrimento aos ácidos graxos saturados oriundos da síntese *de novo*, melhora a qualidade nutricional do leite.

## Literatura citada

- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In: **Proceedings of the American Society of Animal Science**.2000. disponível em: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- BAUMGARD, L.H.; SANGSTER, J.K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Nutrition**, v. 131, p.1764–1769, 2001.
- BAUMGARD, L.H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B.A. et al. 2002. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155–2163.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.M.R. et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, p.201-211, 2000.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 181-205, 2000.
- CHOUINARD, P.Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Fatty acids profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 471-481, 1998.
- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072, 1982.
- DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. et al. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1016–1027, 2000.
- EIFERT, E.C. **Fontes de carboidratos, óleo de soja e monensina sódica para vacas lactantes: desempenho, digestibilidade, parâmetros ruminais e perfil de ácidos graxos do leite**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy chemistry and biochemistry**. Blackie Academic & Professional, 1998. p. 67-145.
- 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.
- GRUMMER, R.R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3244-3257.
- HALL, M.B. Recentes avanços em carboidratos não fibrosos na alimentação de vacas leiteiras. In: **Simpósio Internacional em Bovinocultura de Leite: Novos Conceitos em Nutrição**, 2, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.149-159.

- JENKINS, T.C. Symposium: Advances in ruminant lipid metabolism - Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3851-3863, 1993.
- KALSCHEUR, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S. et al. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C<sub>18:1</sub> and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 2115-2126, 1997.
- LEIVA, E.; HALL, M.B.; Van HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as source of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v.83, p. 2866-2875, 2000.
- LAWSON, R.E.; MOSS, A.R.; GIVENS, D.I. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acids to man's diet: a review. **Nutrition Research Reviews**, v. 14, p. 153-172, 2001.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Reduced fatty acids synthesis and desaturation due to exogenous *trans*-10, *cis*-12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. **Journal of Dairy Science**, v.86, p. 1354-1369, 2003.
- MANSBRIDGE, R.J.; BLAKE, J.S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v.78, Suppl. 1, p.S37-S47, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 2001. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. National Academic Press. Washinton, D.C. 381p.
- NOUROOZ-ZADEH, J.; APPELQVIST, L.A. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 74-87, 1988.
- PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1753-1771, 1993.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1339–1349, 1999.
- PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I. et al. Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat depressing diet. **Journal of Nutrition**, v.130, p. 2568-2574, 2000.
- SAS / STAT. User's guide, Version 6.12 Fourth Edition, vol. 1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. February, 890 p., 1999.
- SOLOMON, R.; CHASE, L.E.; BEN-GHEDALIA D. et al. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1322–1329, 2000.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. (ed.). **The ruminal microbial ecosystem**. Essex, England: Elsevier, 1988. p. 387-443.

### 3 - CONCLUSÕES GERAIS

Tanto óleo de soja como monensina são eficientes ao modificar os padrões de fermentação ruminal. A combinação de óleo de soja e monensina atuam sobre a mesma população microbiana e a sensibilidade à ação da monensina é aumentada na presença de óleo.

A adição de óleo de soja em dietas de vacas lactantes não apresenta efeitos sobre a digestibilidade ruminal da FDN e a redução no consumo é devido à maior concentração energética. No entanto, quando combinado com a monensina, há menor digestibilidade ruminal da FDN, mas esta não justifica sozinha a redução no consumo, sugerindo que fatores metabólicos estejam associados.

A combinação de óleo de soja e monensina agem de forma aditiva ao diminuir a produção de leite. A monensina não influencia significativamente o consumo e a produção de leite, mas as diferenças numéricas resultam em maior eficiência alimentar. Não há razões econômicas para a utilização da combinação de óleo e monensina.

Tanto monensina como óleo de soja alteram a composição do leite, e a redução no teor de gordura do leite é reflexo das quantidades de *trans*-10 C<sub>18:1</sub> gerados no rúmen. O óleo de soja permite aumentar a insaturação do leite e reduzir os ácidos graxos

saturados, assim como a monensina, porém em menor magnitude. Os efeitos da monensina sobre os teores de CLA *cis-9 trans-11 C<sub>18:2</sub>* são pequenos, mas sua presença altera a bio-hidrogenação ruminal, aumentando a quantidade de isômeros *trans-C<sub>18:1</sub>* no leite.

O milho pode ser substituído por farelo de trigo ou polpa cítrica no concentrado de vacas em lactação, no entanto, recomenda-se cautela quanto ao emprego de farelo de trigo quando o nível de produção for acima de 24 kg/dia.

A utilização de milho, polpa cítrica ou farelo de trigo no concentrado implica em poucas alterações no perfil de ácido graxos do leite. Entretanto, os resultados indicam que a polpa cítrica mantém o ambiente ruminal favorável ao acúmulo de *trans-11 C<sub>18:1</sub>* como o principal ácido graxo *trans* no rúmen, aumentando o fornecimento de substrato para a síntese endógena de CLA *cis-9 trans-11 C<sub>18:2</sub>*. Assim, este CLA foi aumentado em 230% quando óleo de soja esteve presente na dieta.

A fonte de carboidrato utilizada em combinação com o óleo de soja pode influenciar a bio-hidrogenação ruminal e produzir diferentes quantidades de *trans-10 C<sub>18:1</sub>*, tendo conseqüências sobre o teor de gordura do leite.