

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas
para búfalos**

Lucas Fialho de Aragão Bulcão

**SALVADOR - BAHIA
ABRIL-2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas
para búfalos**

Lucas Fialho de Aragão Bulcão
Zootecnista

**SALVADOR-BAHIA
Abril-2019**

Lucas Fialho de Aragão Bulcão

**Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas
para búfalos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção animal.

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho

**SALVADOR – BAHIA
ABRIL – 2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

B993f Bulcão, Lucas Fialho de Aragão. Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas para búfalos / Lucas Fialho de Aragão Bulcão. -- Salvador, 2019.

68 f. : il

Orientador: José Esler de Freitas Junior.

Coorientador: Gleidson Giordano Pinto de Carvalho.

Dissertação (Mestrado – Pós-Graduação em Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2019.

1. bubalino 2. fermentação ruminal 3. gordura protegida. I. Freitas Junior, José Esler. II. Carvalho, Gleidson Giordano Pinto de. III. Título.

CDU -636 .2

FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA INSATURADOS EM DIETAS DE BÚFALOS

Lucas Fialho de Aragão Bulcão

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Salvador, 26 de abril de 2019

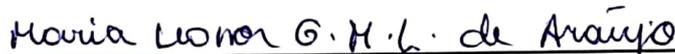
Comissão examinadora:



Dr. José Esler de Freitas Júnior
UFBA
Orientador / Presidente



Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro
UFBA



Dra. Maria Leonor Garcia Melo Lopes de Araújo
UFBA

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lucas Fialho de Aragão Bulcão - Filho de Stanley Vicente de Aragão Bulcão e Rosana Maria Rehem da Silva Fialho, nasceu em Salvador - Ba, no dia 21 de Dezembro de 1992. Em 2011, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal da Bahia, finalizando o mesmo em Abril de 2017. Em 2017, iniciou o curso de Pós-Graduação-Mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal da Bahia - UFBA. Em abril de 2019, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Dissertação e conclusão do Mestrado.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família por me apoiar em tudo que fiz e faço em minha vida, principalmente a pessoa que mais amo, minha mãe, mulher de força e caráter inquestionáveis, sempre disposta a ajudar os outros mesmo com todas as dificuldades da vida.

Gostaria de agradecer a meu amigo, orientador e colega de profissão José Esler, pessoa que me ajudou muito no decorrer de minha vida acadêmica e pessoal.

A Dra. Maria, que me ajudou muito nessa reta final do mestrado.

A todos os meus amigos da faculdade e de infância, que fazem de minha vida sempre uma alegria, me apoiam e que me acompanham seja onde for.

Também gostaria de agradecer a todos os professores do PPGZ pela excelência em transmitir conhecimento e com todas as dificuldades conseguirem executar bons projetos.

A todos os funcionários e servidores do EMEVZ e da Fazenda Experimental de Entre Rios, sem eles nada disso que fiz seria possível.

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1.	Compilação de trabalhos nacionais e internacionais, entre os anos de 2009 a 2019, avaliando a inclusão do óleo de soja na dieta de grandes ruminantes.....	5
Tabela 2.	Compilação de trabalhos nacionais e internacionais, entre os anos de 2009 a 2019, avaliando a inclusão do Grão de soja, Sais de Cálcio de ácidos graxos na dieta de grandes ruminantes.....	16

Capítulo 1

Tabela 1.	Composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca.....	21
Tabela 2.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição bromatológica dos concentrados.....	22
Tabela 3.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.....	23
Tabela 4.	Consumo diário das frações nutricionais, expressos em kg/dia e %PC, em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura.....	30
Tabela 5.	Digestibilidade aparente total (%) da matéria seca e nutrientes de dietas contendo diferentes fontes de gordura para búfalos.....	31
Tabela 6.	Efeito de dietas contendo diferentes fontes de gordura sobre o pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de búfalos.....	32
Tabela 7.	Atividades de alimentação, ruminação, mastigação e ócio em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura.....	34
Tabela 8.	Eficiências em alimentação e ruminação da matéria seca e fibra em detergente neutro em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura	35
Tabela 9.	Número e tempos médios despendidos por período em alimentação, ruminação e ócio em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Alto Concentrado
AG	Ácido graxo
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AOAC	Association of Official Analytical Chemists (Associação de Métodos Analíticos Oficiais)
BC	Baixo concentrado
C3:C2	Relação propionato: acetato
CH ₄	Metano
CLA	Ácido Linoléico Conjugado
CMS	Consumo de Matéria Seca
CNCPS	Cornell Net Carbohydrate and Protein System
CNF	Carboidratos não fibrosos
CO	Controle
CT	Carboidratos totais
EAL	Eficiência de alimentação
EE	Extrato etéreo
ERU	Eficiência em ruminação
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GSI	Grão de soja integral
LPS	Lipopolissacarídeo
MM	Matéria Mineral
MS	Matéria Seca
MO	Matéria Orgânica
NRC	National Research Council
N-NH ₃	N-amoniaco
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
PB	Proteína Bruta
PC	Peso Corporal
PDR	Proteína Degradável no Rúmen

pH	Potencial Hidrogeniônico
PNDR	Proteína não Degradada no Rúmen
SC	Sais de Cálcio
SCAG	Sais de Cálcio de Ácidos Graxo
TMT	Tempo de Mastigação Total
V:C	Volumoso: Concentrado

LISTA DE ANEXO

Anexo 1	Concordância do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA.....	66
----------------	---	----

SUMÁRIO

Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas para búfalos

	Página
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	01
1. REVISÃO DE LITERATURA	03
1.1 Inclusão do óleo de soja em dietas para ruminantes	03
1.2 Fontes de gordura protegida (natural e artificial) na dieta de ruminantes	07
1.3 Impacto da suplementação com fontes de ácidos graxos sob consumo, digestibilidade e fermentação ruminal	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1. Localização, animais, manejo experimental e dietas	20
2.2 Amostragem e análises laboratoriais	20
2.3. Consumo e digestibilidade de nutrientes	23
2.4. Análise de fermentação ruminal	24
2.5. Comportamento ingestivo	24
2.6 Análises estatísticas	27
3. RESULTADOS	28
3.1. Consumo e digestibilidade aparente	28
3.2. Fermentação Ruminal	31
3.3. Comportamento Ingestivo	32
4. DISCUSSÕES	34
4.1. Consumo e digestibilidade aparente	34
4.2. Fermentação Ruminal	37
4.3. Comportamento Ingestivo	38
5. CONCLUSÃO.	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO I	54

Fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas para búfalos

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de fontes de ácidos graxos insaturados em dietas para búfalos sobre o consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, fermentação ruminal, comportamento ingestivo dos animais. Foram utilizados quatro búfalos (*Bubalus bubalis*) Murrah, com aproximadamente 24 meses de idade, castrados, canulados no rúmen e com peso médio inicial de 380 ± 60 kg. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um delineamento quadrado latino 4×4 , nas seguintes dietas experimentais: 1) CO = Controle; 2) OS = Óleo de Soja; 3) GSI = Grão de soja cru e integral; 4) SCAG = Sais de Cálcio de Ácidos Graxos. As dietas foram formuladas utilizando-se relação volumoso:concentrado de 70:30, sendo empregado como volumoso o feno de Capim-Transvala (*Digitaria Decumbens cv. Transvala*). Não houve efeito das dietas sobre o consumo de matéria seca (CMS), no entanto, a adição das fontes de ácidos graxos insaturados aumentou o consumo de extrato etéreo ($P < 0,01$) e a digestibilidade aparente do extrato etéreo ($P = 0,04$). Houve diferença ($P > 0,031$) para os valores de pH ruminal entre as dietas GS e SCAG. A inclusão das fontes de ácidos graxos insaturados promoveu diminuição nas concentrações molares dos AGCC: acetato, propionato e butirato, analisadas no rúmen. Os resultados observados sugerem que as quantidades de ácidos graxos incluídos não foram suficientes para apresentar efeitos significativos no metabolismo dos bubalinos.

Palavras-chave: bubalino, pH ruminal, fermentação ruminal, gordura protegida, sais de cálcio

Sources of unsaturated long chain fatty acids in diets for buffaloes

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of inclusion of sources of unsaturated fatty acids in diets for buffaloes on the consumption and apparent digestibility of nutrients, ruminal fermentation, ingestive behavior of the animals. Four buffaloes (*Bubalus bubalis*) Murrah, approximately 24 months old, castrated, cannulated in the rumen and with initial mean weight of 407 ± 60 kg were used. The animals were randomly distributed in a 4×4 Latin square design, in a 2×2 factorial scheme and in the following experimental diets: 1) CO = Control; 2) SO = Soybean Oil; 3) WSG = Raw and integral soybean grain; 4) CSFA = Calcium Salts of Fatty Acids. The diets were formulated using a voluminous ratio: concentrate of 70:30, being used as volumetric hay of Capim-Transvala (*Digitaria Decumbens cv. Transvala*). However, the addition of the unsaturated fatty acid sources increased the consumption of ethereal extract ($P < 0.01$) and the apparent digestibility of the ethereal extract ($P = 0,04$). There was a difference ($P > 0.031$) for ruminal pH values between SG and CSFA diets. The inclusion of the sources of unsaturated fatty acids promoted a decrease in the molar concentrations of all variables analyzed in the rumen. The observed results suggest that the amounts of fatty acids included were not sufficient to have significant effects on buffalo metabolism.

Keywords: buffalo, pH ruminal, ruminal fermentation, calcium salts of fatty acids

INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade econômica que vem crescendo no país, em virtude dos animais serem considerados de triplo propósito adaptando-se à produção de leite, carne e trabalho (TAVEIRA et al., 2016). Entretanto, ainda conforme os autores, a criação de bubalinos no Brasil ainda encontra-se em desenvolvimento como uma alternativa rentável e saudável.

Diante deste cenário, ao longo dos anos houve um aumento no número de estudos conduzidos com bubalinos no Brasil com o intuito de promover o incremento da eficiência alimentar e o ganho de peso, além de produzir carcaças de melhor qualidade como já avaliado por Consôlo et al. (2014) em bovinos. Entretanto, para que esse resultado seja possível torna-se necessário melhorar o desempenho animal fornecendo dietas que proporcionem maior consumo e absorção de nutrientes (OLIVEIRA et al., 2007).

A inclusão de fontes de ácidos graxos na alimentação de animais ruminantes tem sido considerada uma alternativa para aumentar o valor energético de dietas. Apesar dos benefícios associados ao fornecimento destas dietas, foi ressaltado por Lourenço et al. (2010) que para essa estratégia ser eficiente não deve influenciar a fermentação ruminal e, concomitantemente, ter efeitos que comprometam o consumo de matéria seca e desempenho do animal.

A adição de gorduras às dietas pode afetar negativamente o consumo de matéria seca, quando o animal atinge a necessidade energética ou quando a gordura influencia na digestibilidade a nível ruminal da fibra causando limitação física no consumo. Os mecanismos pelos quais a adição de gordura afeta o consumo ainda são pouco compreendidos. Fatores com ação potencial incluem efeitos sobre o consumo, aceitabilidade das dietas, efeitos sobre a motilidade ruminal e intestinal, liberação de hormônios intestinais, tais como AGS e AG Insaturado, e oxidação das gorduras pelo fígado (NRC, 2001).

Como mencionado, o uso de óleos vegetais como fonte de lipídios na dieta de ruminantes, pode desencadear efeitos indesejáveis, como a redução na digestibilidade da matéria seca e relação acetato:propionato (VARGAS et al, 2002). Por outro lado, a utilização de fontes de gordura inerte no rúmen apresenta benefícios como aumento da

densidade energética sem comprometer a fibra, aumento a eficiência de utilização de energia e efeito lipogênico, aumentando a relação glicogênica do animal (FERGUSON et al, 1990).

A gordura protegida na forma de SCAG (Megalac-E) é importante porque fornece um perfil de ácido graxo instaurado de cadeia longa a ser absorvido sem alteração no rúmen.

Nesse contexto, o grão de soja integral (GSI), fonte natural de gordura protegida e apresenta alto valor energético e proteico, e têm sido utilizado na formulação de dietas para ruminantes, por ser considerado uma fonte adequada de nutrientes (PALMQUIST et al., 1991). Sua utilização é benéfica em virtude de ser uma fonte de gordura de liberação lenta no interior do rúmen, podendo inibir possíveis reduções da digestibilidade da fibra devido as fontes de ácidos graxos insaturadas terem efeito negativo sobre as bactérias fibrolíticas. Segundo Coppock e Wilks (1991), este efeito pode ser atribuído ao fato dos lipídios do GSI estarem no interior do grão sendo necessária uma ação mecânica de quebra para que o conteúdo interno seja liberado e a hidrolise comece.

Estudos tem sido conduzidos ao longo dos anos avaliando o uso da soja na dieta de bovinos através da inclusão do óleo, como também na forma de gorduras protegidas (grão de soja e sais de cálcio) (GANDRA et al., 2014; ZANFERARI et al., 2018). Apesar de existirem estudos avaliando o efeito da adição de diferentes fontes de gordura proveniente da soja na dieta de bovinos, tais como os expostos na tabela 1, ainda são escassos trabalhos na literatura sobre o consumo de nutrientes, fermentação ruminal e comportamento alimentar em bubalinos.

Dessa forma, objetivou-se com este estudo, testar a hipótese se as fontes de ácidos graxos aumentarão o aporte energético das dietas sem reduzir a eficiência rumina.

1 Revisão de Literatura

1.1 Inclusão do óleo de soja em dietas para ruminantes

Diversas fontes de ácidos graxos têm sido testadas na formulação de dietas para ruminantes, cada uma delas possui características que afetam de diferentes formas a fermentação ruminal, digestibilidade de nutrientes e o consumo de matéria seca (Freitas JR, 2012). Além disso as fontes de lipídios não protegidos podem causar efeitos na população microbiana

O passo inicial na transformação dos ácidos graxos na dieta de ruminantes é a hidrólise das ligações éster por enzimas lipolíticas microbianas presentes no rúmen, sendo este o pré-requisito para ocorrer a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados. Para os ruminantes em regime de pasto, os principais lipídios da dieta refletem quantidade de cloroplasto ingerida, e compreendem galactolipídios (mono e digalactosildiglicérido), sulfolípido (sulfoquinossildiglicérido) e fosfolípidos (principalmente fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol e fosfatidiletanolamina), em contraste, animais recebendo cereais ou concentrados contendo óleos de sementes terão lipídios na forma de triglicerídeos (HOBSON & STEWART, 1997).

A maior parte dos ácidos graxos presentes no óleo de soja são insaturados, tendo em média, 75% do total. Os óleos de origem vegetal na dieta de ruminantes trazem efeitos benéficos, como exemplo a inibição da síntese de metano e a redução de concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), além do aumento da eficiência da síntese microbiana e aumento nas taxas de ácido linoleico conjugado (PALMQUIST e MATOS, 2006).

Porém, o uso de óleos vegetais nas dietas pode trazer efeitos negativos para o animal como a redução na digestibilidade da matéria seca e redução na relação acetato:propionato (VARGAS et al., 2002). Os efeitos dos ácidos graxos insaturados presentes no óleo podem ser variáveis dependendo da dieta basal (UEDA et al, 2003).

Dois principais pontos devem ser destacados quando se analisa alterações no CMS em vacas suplementadas com fontes de gordura: 1) aceitabilidade do suplemento de gordura, que está diretamente relacionado às alterações no consumo de matéria seca, pois quando o período de adaptação não é suficiente para os animais, as respostas à suplementação podem não representar a realidade; 2) tipo e nível de suplementação de gordura utilizado, pois respostas diferentes são observadas de acordo com as características químicas e físicas da gordura utilizada. O consumo de energia pode ser considerado o parâmetro de limitação primária sobre o desempenho produtivo de vacas

leiteiras, sendo este determinado pelo conteúdo de energia líquida da dieta e pelo consumo de matéria seca (CMS).

Ao aumentar-se a densidade energética da dieta com o uso de gordura é esperado um maior consumo de energia, desde que o consumo de matéria seca se mantenha ou não diminua significativamente (COPPOCK e WILKS, 1991). Os resultados referentes ao CMS em vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura nas rações tem sido inconsistentes em função de vários fatores que podem estar envolvidos na diminuição do consumo.

De acordo com Allen (2000), os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na ração afeta o CMS ainda não está devidamente elucidado, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo. No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o CMS de vacas suplementadas com fontes de gordura, uma série de parâmetros estão envolvidos, sendo os principais a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (ONETTI e GRUMMER, 2004; NRC, 2001; STAPLES et al., 2001).

Tabela 1. Compilação de trabalhos nacionais e internacionais, entre os anos de 2009 a 2019, avaliando a inclusão do óleo de soja na dieta de grandes ruminantes.

	Autor	Categoria animal	Nível de inclusão do óleo de soja	Principais resultados
1	Granja-Salcedo et al. (2017)	8 novilhos Nelore castrados fistulados no rúmen e duodeno	6,0 % (com base na MS)	Consumo: A ingestão de matéria seca sugeriu uma interação entre o tratamento com glicerina bruta e óleo de soja. Houve maior consumo de matéria seca nos animais alimentados com a dieta contendo glicerina bruta em relação aos animais que receberam as dietas com óleo de soja e glicerina bruta + óleo de soja ($P < 0,05$). No entanto, a dieta glicerina bruta + óleo de soja promoveu um CMS semelhante ao obtido com a dieta controle, e superior ao obtido com a dieta óleo de soja.
2	Rodrigues et al. (2017)	8 vacas Holandesas multíparas no terço médio da lactação fistuladas no rúmen	0, 1,57, 4,43 e 7,34% (com base na MS)	Consumo: a inclusão do óleo de soja influenciou de forma quadrática os consumos de matéria seca, matéria orgânica e energia digestível, expressos em kg/dia e Mcal/dia, respectivamente. Digestibilidade: Comparando o controle à dieta com baixo nível de inclusão de óleo de soja (1,57%), as digestibilidades aparentes totais da MO, FDN e FDNpd apresentaram redução linear devido à inclusão do óleo nas dietas.
3	Lima et al. (2014)	4 vacas Holandesas em lactação fistuladas no rúmen	0,2 kg/dia	Consumo de matéria seca basal (kg/dia): Houve efeito do produto, porém não houve efeito do local e nem interação produto x local. Por outro lado, o consumo total de matéria seca não foi influenciado pelo produto, local ou interação produto x local. Digestibilidade: as digestibilidades aparentes totais de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas não foram

			influenciadas pelo produto, local ou interação produto x local. Contudo, foi observado efeito do produto sobre a digestibilidade do EE,
4	Boerman e Lock (2014)	18 vacas Holandesas (6 primíparas e 12 multíparas) no terço médio da lactação.	2 % (com base na MS) Consumo: Comparado ao tratamento controle composto por 2% de casca de soja, os tratamentos com ácidos graxos insaturados (2% de destilado de ácido graxo da soja ou 2% de óleo de soja) promoveram redução no consumo de matéria seca (kg/dia).
5	Yang et al. (2009)	4 vacas Holandesas multíparas fistuladas no rúmen	Dieta controle (sem adição de óleo) 4% de óleo de soja 4% de óleo de linhaça 2% de óleo de soja + 2% de óleo de linhaça (com base na MS) Fermentação ruminal: Não houve efeito do tempo e da interação tempo x tratamento. O pH ruminal não diferiu entre os tratamentos. A concentração ruminal de NH ₃ -N foi maior, e a concentração do total AGV foi menor devido à suplementação com óleo. A proporção molar de acetato não foi afetada significativamente, enquanto que de propionato foi aumentada e butirato reduzida significativamente para a suplementação com óleo. Alimentando animais com a mistura de óleo de soja e óleo de linhaça aumentou a concentração de NH ₃ -N em maior extensão do que alimentando-os separadamente.
6	Santos et al. (2009)	20 vacas da raça Holandesa, multíparas e gestantes	3,0% (com base na MS) Consumo: Os valores médios de consumo de MS e nutrientes não diferiram no período pré e pós-parto nas vacas das dietas controle e com óleo de soja, exceto no maior consumo de EE, em decorrência da maior concentração desse nutriente na dieta com óleo. Em virtude da maior densidade energética da ração com óleo de soja, as vacas apresentaram maior consumo de nutrientes digestíveis totais e energia líquida no pós-parto.

Os trabalhos presentes na tabela acima mostram resultados utilizando a inclusão de óleo de soja variando de 0,2% a 7,34% na matéria seca. Na maioria dos artigos não houve influência sobre o consumo, porém em um dos trabalhos foi constatado uma relação quadrática no consumo, onde animais que consumiram maiores teores de óleo de soja apresentaram menor consumo. A ausência de efeito sobre o consumo pode ser atribuído ao nível de inclusão da fonte de AGI não ser suficiente pra causar efeito adverso ao animal, seja ele redução na acessibilidade do volumoso por parte das bactérias e a morte microbiana.

1.2 Fontes de gordura protegida (natural e artificial) na dieta de ruminantes

No rúmen, os lipídeos são modificados via hidrólise e biohidrogenação, podendo afetar a fisiologia e microbiologia ruminal no local da degradação. Os lipídeos sofrem duas modificações no rúmen, a primeira - única explanada neste enunciado devido a sua menor primazia em relação à outra - é nas cadeias de ésteres sendo catalisadas pelas lipases dos microrganismos - os principais responsáveis pelo processo das lipólises são as bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter* (BAUMAN et al., 2000; PARIZA et al., 2001).

Gordura protegida, nada mais é que uma fonte de ácidos graxos insaturados, que determina sua maior digestibilidade e, portanto, seu maior valor energético. Por ser envolvida por uma camada de proteína, que age como uma capa protetora, esta se mantém relativamente inerte no rúmen em níveis normais de pH. Sua dissociação completa ocorre apenas nas condições ácidas do abomaso, o que aumenta a densidade energética da dieta sem afetar a utilização da forragem. A utilização desta nova fonte alternativa de energia vem aumentando e trazendo bons resultados aos produtores, melhorando características reprodutivas e produtivas (FERREIRA,2009).

Para a proteção das gorduras emprega-se formaldeído, assim como também se faz na proteção das proteínas. Fornece-se proteína, que cobre as partículas de gordura e protege-se o complexo proteína-lipídio com formol, que evita a fermentação no rúmen, mas permite a digestão nas condições ácidas do abomaso (LUCCI, 1997).

Basicamente a gordura protegida consiste em uma fonte de ácidos graxos insaturados, normalmente são ácidos linoleico e linolênico protegidos, ou seja, ao serem

ingeridos pelo ruminante são utilizados pelos microrganismos do rúmen tendo um total aproveitamento do animal (CERVONI, 2006).

Os ácidos graxos da gordura protegida passam intactos pelo rúmen e são metabolizados no intestino, onde há melhor aproveitamento de suas características particulares, portanto, com a mesma quantidade de gordura, mas ela sendo protegida, apresenta um maior resultado (CERVONI, 2006).

O aporte lipídico na dieta normalmente não modifica o pH Ruminal. No entanto, observa-se um aumento do pH em alguns experimentos (Mir, 1988; Elmeddah et al., 1991; Grummer, 1991), sem estar relacionado sempre com um determinado padrão de produção de ácidos graxos voláteis. As explicações dos autores aos maiores valores de pH obtidos são variadas. Doreau et al. (1989), fornecendo ácidos graxos insaturados, observaram um pH mais elevado e mais estável através do tempo e, embora tenha havido uma troca na fermentação com maior proporção de ácido propiônico, a produção de ácidos graxos voláteis totais foi menor. Em outro trabalho de Doreau et al. (1991), utilizando gorduras protegidas e não protegidas, os autores somente encontraram pH e ácidos graxos voláteis totais significativamente maiores ao suplementar com gordura na hora zero da amostragem. Também foi encontrado pH superior a 7,0 com dietas ricas em gordura, sendo explicado pela ausência de depressão celulolítica (Mir, 1988).

Por outro lado, Klusmeyer et al. (1991) ao adicionarem sais cálcicos de ácidos graxos a vacas com dois níveis de volumosos, também obtiveram um pH maior pela adição de gordura, apresentando interação com o nível de volumoso empregado, sendo maior com baixo nível. Este comportamento foi atribuído pelos autores ao menor consumo de matéria seca, amido e menor ingestão de matéria orgânica degradável no rúmen com a inclusão da fonte de gordura. No entanto, com a utilização de dois níveis de sais cálcicos de ácidos graxos e de uma mistura de gordura animal e vegetal, Ohajuruka et al. (1991) não encontraram variações de pH.

Tem sido detectado que o fornecimento de gordura na dieta de ruminantes causa uma redução na relação C2:C3 (Boggs et al., 1987; Zinn, 1989; Doreau et al., 1991; Doreau, 1992), principalmente com ácidos graxos insaturados (Doreau et al., 1989).

Jenkins (1990), ao suplementar novilhos com gordura saturada e dois níveis de substituição desta por lecitina de soja, observou que a relação C2:C3 foi reduzida em relação ao controle em todos os suplementos, porém, em menor grau naqueles que

continham lecitina. Outros autores não informaram alterações nos padrões de ácidos graxos voláteis quando utilizaram leite como fonte de gordura, apesar da gordura estar disponível a nível ruminal (Doureau et al., 1987). Estas alterações ocorridas no padrão fermentativo causadas pelos lipídeos correspondem a efeitos tóxicos seletivos sobre as bactérias (Palmquist & Jenkins, 1980).

Ao aumentar-se a densidade energética da dieta com o uso de gordura é esperado um maior consumo de energia, desde que o consumo de matéria seca se mantenha ou não diminua significativamente (Coppock & Wilks, 1991).

Em vários trabalhos tem sido observada diminuição no consumo de matéria seca em decorrência da suplementação com fontes lipídicas (Hatch et al., 1972; Rode et al., 1985; Hermansen, 1989; Klusmeyer & Clark, 1991). Este efeito tem sido atribuído à redução na fermentação ruminal e digestibilidade da fibra que algumas fontes de gordura produzem, e por sua vez, aumentando o tempo de permanência dos alimentos no rúmen-retículo (NRC, 2001). Assim, quando foram adicionadas gordura insaturada e gordura saturada com 66 e 22 de índice de iodo, respectivamente, a primeira deprimiu mais o consumo (Hermansen, 1989). No entanto, o consumo de matéria seca é regulado também pela ingestão energética do animal, pois quando foi adicionado óleo intraduodenal o consumo foi diminuído (Gagliostro et al., 1991). Com a utilização de ácidos graxos saturados em níveis de 0, 3, 6 e 9% da dieta total, Schauff & Clark (1992) obtiveram uma redução linear no consumo.

Comportamento similar observaram Klusmeyer et al. (1991) utilizando até 6% de ácidos graxos saturados. A razão exata da diminuição no consumo com a suplementação de ácidos graxos saturados é desconhecida. Schauff & Clark (1992) assinalaram a necessidade de investigar a aceitabilidade em relação aos efeitos pós-ingestivos dos sais cálcicos de ácidos graxos. Allen (2000) sugere que além da palatabilidade as gorduras podem diminuir o consumo através de ações sobre os hormônios intestinais e pela oxidação das gorduras no fígado. O efeito negativo das gorduras sobre o consumo depende do seu conteúdo na dieta basal e da fonte empregada. Dietas contendo 5 a 6% de gordura, suplementadas com sementes de oleaginosas e com ácidos graxos hidrogenados, promoveram um efeito quadrático no consumo de matéria seca, com níveis de 3 e 2,3%, respectivamente enquanto a adição de sebo e sais cálcicos de ácidos graxos de cadeia longa em dietas de vacas em lactação provocou efeito negativo linear

sobre o consumo de matéria seca (Allen, 2000). Smith et al. (1993) relataram que as fontes de gordura não protegidas exercem maior efeito na diminuição do consumo, na fermentação ruminal e na digestibilidade da fibra (FDN) quando as dietas contêm elevados teores de silagem de milho comparadas com dietas a base de feno de alfafa, sem uma explicação para esta ocorrência.

Palmquist & Jenkins (1980) relataram que o aumento na saturação dos ácidos graxos normalmente reduz os efeitos negativos das gorduras no rúmen. Allen (2000) observou que, quando a proporção de ácidos graxos insaturados foi aumentada na fonte lipídica, o consumo de matéria seca geralmente diminuiu. Contudo, o consumo de energia digestível, na maioria dos estudos não foi alterado, quando sais cálcicos de ácidos graxos de cadeia longa foram elevados e maiores que ácidos graxos de cadeia longa hidrogenados.

O estudo do metabolismo lipídico ruminal vem com o propósito de manipular os eventos físico-químicos no rúmen visando dois principais resultados: 1) controle dos efeitos antimicrobianos dos ácidos graxos para que as gorduras adicionadas a dieta interfiram o mínimo possível na fermentação ruminal e na digestão; 2) na regulação da biohidrogenação microbiana para alterar a absorção de ácidos graxos selecionados, assim melhorando o desempenho e/ou as qualidades nutricionais das dietas (JENKINS, 1993).

Na nutrição de ruminantes existe um termo chamado gordura inerte ou protegida, que é associado a fonte de lipídio não afetar ou afetar o mínimo no metabolismo dos protozoários e bactérias ruminais. Assim havendo uma redução nos efeitos negativos sobre a atividade ruminal, aumentando a densidade energética no rumem sem interferir na digestibilidade da fibra (Smith, 1991). Como exemplo de fontes de ácidos graxos protegido: sais de cálcio de ácidos graxos (fonte de gordura protegida artificialmente) e o grão de soja (fonte de gordura que possui proteção natural que precisa ser quebrada para que o seu conteúdo seja metabolizado) (Palmquist e Mattos, 2006). A soja, planta da família das leguminosas, cujo nome científico é *Glycine max* (L.) Merrill, é nativa da Ásia, sendo considerada uma das culturas mais antigas daquela área. Além de rico em proteína, com valores compreendidos entre 38 a 45% e de elevada qualidade, o grão apresenta significativo teor em óleo, 18 a 19% e contém pouca fibra, aproximadamente 7%. É pobre em cálcio (0,25%) e apresenta 0,59% de fósforo. Apresenta pouco caroteno

e é também deficiente em vitamina D. Os níveis de B1 e B2 são pouco superiores àqueles dos cereais. Possui regular teor em ácido nicotínico (ANDRIGUETTO et al., 1981). O aminoácido limitante é a metionina; porém, os demais apresentam-se em proporções adequadas para a maioria das espécies domésticas (SILVA, 1993).

A cobertura fibrosa natural da casca da semente envolvendo os grãos oleaginosos inteiros pode alterar potencialmente a taxa de passagem ruminal ou a liberação de óleo para dentro do rúmen (RAFALOWSKI e PARK, 1982); portanto, algumas das diferenças entre suplementos, tais como sebo e sementes inteiras de girassol, podem estar relacionadas à proteção da gordura na semente.

Os grãos de soja podem ser fornecidos para ruminantes na forma crua, tostada ou extrusada; inteira, moída grosseiramente ou quebrada. A tostagem pode atuar no sentido de diminuir as taxas de digestão da MS, secundariamente reduzindo a degradabilidade da proteína, tornando mais lenta a velocidade de liberação do óleo para dentro do rúmen (SCOTT et al., 1991). A extrusão, processo em que o grão é expandido pelo calor e pressão (SILVA, 1993) causando o rompimento das micelas de gordura dentro do grão de soja, pode permitir uma mais rápida liberação de óleo para dentro do rúmen resultando na diminuição do teor de gordura do leite (MOHAMED et al., 1988). A trituração aumenta a área superficial para a degradação microbiana o que pode permitir uma mais rápida liberação de óleo no rúmen, resultando na redução do teor de gordura do leite (HUTJENS e SCHULTZ, 1971) e no consumo de MS (STEELE, 1985). Contudo, a diminuição no consumo de MS pode ser mais uma função do aumento da densidade energética da dieta do que a não aceitação dos grãos de soja triturados (SCOTT et al., 1991). Vargas et al. (2002), estudando o efeito do grão de soja moído ou óleo de soja ao nível de 4% na dieta de vacas da raça Holandês com 30 dias pós-parto, verificaram uma redução de 20% no consumo de MS, mas sem alteração na produção e composição do leite.

A soja destaca-se entre os alimentos proteicos de origem vegetal como fonte alternativa de proteína e energia, sendo considerada semente de oleaginosa mais rica e disponível no mundo, podendo ser usada na alimentação dos ruminantes na sua forma original (crua) ou processada (CORRÊA, 2007).

Entre as características nutritivas da soja integral na nutrição de ruminantes destaca-se a alta quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR), que pode ser

convertida em proteína não degradada no rúmen (PNDR) por meio de tratamento térmico, e ao seu alto teor de energia devido ao elevado teor de extrato etéreo. De acordo com o NRC (2001) e QBAL 3.0, a soja crua possui cerca de 19,05 % de extrato etéreo e 38,46 % de proteína bruta na matéria seca.

A soja integral pode ser considerada uma fonte de gordura naturalmente protegida, já que a maioria dos lipídeos se encontram protegidos pela matriz proteica, necessitando que ocorra a degradação da parede celular para que ocorra ação das lipases microbianas sobre o conteúdo celular (SILVA, 2005). Essa característica permite que ocorra liberação lenta dos AG durante a fermentação ruminal, possibilitando, portanto, a biohidrogenação quase em sua totalidade à medida que o grão é triturado pela mastigação/ruminação. Em caso de escape deste processo mecânico de trituração, pouca ação exercerá sobre a microbiota ruminal, descartando-se possível redução na digestibilidade da fibra (FREITAS JÚNIOR, 2012).

Quando se avalia aspectos referentes à suplementação energética outra vantagem nutricional do grão de soja integral (GSI) consiste no fornecimento de 10% a mais de energia líquida por Kg de MS que o farelo de soja. Este fornecimento de energia a mais é justificado pelo conteúdo de extrato etéreo no grão ($19,05\% \pm 3,97$) em relação ao farelo (5,72%). No entanto, RENNÓ et al. (2009) revisaram estudos realizados com o uso de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras e concluíram que, o potencial de utilização do grão de soja cru em rações de vacas leiteiras ainda não foi adequadamente explorado em função da preocupação com a qualidade da dieta e a presença de fatores antinutricionais (inibidores de tripsina e/ou quimiotripsina) que teriam o potencial de reduzir o aproveitamento de nutrientes. Apesar de esta preocupação existir, não está definido na literatura a partir de que nível nas dietas a presença do grão de soja cru poderia influenciar a eficiência de utilização do nitrogênio ou o aproveitamento de nutrientes dietéticos.

PALMQUIST e MATTOS (2011) recomendam que a inclusão na dieta possa ser de até 15% na dieta total (MS), sem causar efeitos negativos no desempenho produtivo. BARLETA (2010), concluiu em seu trabalho que o nível de 16% de inclusão de grão de soja integral na dieta de vacas em início de lactação e com produção de 31,21 kg/dia se mostrou mais adequado, pois não houve alteração no consumo de alimentos e na produção de leite, além de ter influenciado em alterações positivas na composição do

leite, aumento numérico da porcentagem de gordura e no perfil de ácidos graxos do mesmo.

O grão de soja é uma fonte energético-proteica, que tem em média 19% de extrato etéreo, 38% de proteína bruta e 90% de NDT (CQBAL, 2017), fonte de gordura protegida com alta digestibilidade da fibra que pode ser usado em natura ou submetida a temperatura (Corrêa, 2007). As sementes de oleaginosas, tem em sua maioria elevados percentuais de ácidos graxos insaturados, e em sua predominância o ácido linoleico apresenta maiores concentrações em comparação aos outros ácidos graxos (Dhiman et al, 2005). Um fator benéfico da utilização do grão de soja na dieta dos ruminantes é a liberação lenta dos lipídios no interior do rúmen, dessa forma não afeta a capacidade de biohidrogenação das bactérias e protozoários, conseqüentemente reduzindo possíveis reduções da digestibilidade da fibra pelo efeito negativo das gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK e WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991).

Os efeitos negativos dos lipídeos sobre a eficiência da digestão no rúmen são geralmente reduzidos com o aumento da suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos na dieta (Palmquist e Jenkins, 1980). O mais comum dos produtos comerciais para suplementação lipídica na dieta de ruminantes são os SCAG, que sintetizados a partir de ácidos graxos de cadeia longa. Os ácidos graxos reagem com os sais de cálcio, unidos na forma de sal do tipo R-COO-Ca, e são conhecidos como sabão de cálcio (Freitas jr, 2012), sendo produzido a partir do óleo de palma. A adição de sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG), à dieta de animais de alta produção podem melhorar o status energético, aumentando a ingestão de lipídeos na dieta é esperado que melhore a eficiência metabólica de utilização de energia para produção de leite (Shauff e Clark, 1992).

Os ácidos graxos complexados com cálcio, também chamados de gordura protegida, são fonte lipídica que tem apresentado os melhores resultados e por isso tem sido bastante recomendada (JENKINS, 1993). Segundo o mesmo autor, uma importante fonte comercial de gordura protegida é o Megalac-E, um sal de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa com alta densidade energética, que visa atender às necessidades nutricionais para lactação e ganho de peso condizente com alto padrão genético dos animais. É um suplemento energético que contém altas concentrações do ácido linoléico

(42,0%) e ácido linolênico (3,0%) um ácido graxo essencial, que afeta positivamente a reprodução dos animais.

Os sabões de cálcio são obtidos através dos AG de cadeia longa que ficam livres num processo de cisão dos triglicerídeos de óleos vegetais, ocorrendo uma reação entre os AG com os sais de cálcio, unindo-os na forma de um sal que, popularmente, ficou conhecido como sabão de cálcio (CHURCH e DWIGHT, 2002),

O sabão de cálcio age como uma camada protetora que se mantém relativamente inerte em níveis normais de pH. Sendo que sua dissociação completa ocorre no abomaso, com pH entre 2 e 3, ocorrendo o desdobramento do sabão de cálcio, liberando para o intestino o AG e os íons de cálcio (CHURCH, 1984), não prejudicando, dessa forma, a atividade dos microrganismos ruminais (PALMQUIST; MATTOS, 2011). Porém algumas precauções são necessárias, pois, segundo Klusmeyer e Clark (1991), a proteção dos sais de cálcio é de aproximadamente 77%, podendo ocorrer variações de acordo com a composição dos AG (SUKHIJA; PALMQUIST, 1990).

A estabilidade dos sais de cálcio no rúmen varia de acordo com a fonte de AG e do seu grau de instauração, desse modo, quanto maior a instauração, menor a estabilidade dos produtos no ambiente ruminal. Quando se utiliza sais de cálcio a base de óleo de palma, observa-se estabilidade mesmo em pH de 5,5, com uma taxa de dissociação inferior a 10%; enquanto o produto à base de óleo de soja apresentou valores dissociativos em torno de 45%. Isso se dá pela diferença da composição dos AG entre os dois óleos e suas características químicas. O óleo de palma apresenta AG saturados, e seu ponto de fusão é mais elevado com pka de 4,6, tornando-se menos solúvel. Contrário a isso, o óleo de soja é rico em AG insaturados, possuindo o ponto de fusão mais baixo e o pka de 5,6, tendo maior solubilidade (SUKHIJA; PALMQUIST, 1990; PALMIQUIST; MATTOS, 2011).

Embora ocorra biohidrogenação dos sais cálcicos de ácidos graxos, é possível que ocorram sem que o suplemento lipídico produza efeitos negativos sobre a fermentação (Sukhija & Palmquist, 1990; Klusmeyer et al., 1991); por isso os autores concluem que são inertes, ou seja, não afetam a fermentação ruminal. Os dados de biohidrogenação “in vitro” são geralmente inferiores aos “in vivo”, provavelmente pela melhor atividade microbiana e pela mastigação no último caso (Grummer, 1991).

Os sais cálcicos perdem a propriedade de serem inertes ao dissociarem-se; no entanto, a dissociação de sais cálcicos de ácidos graxos é baixa em pH 6,5 (Sukhija & Palmquist, 1990), já que o pH de 50% de dissociação (pKd) é ao redor de 4,6 (Sukhija & Palmquist, 1990) muito abaixo das condições ruminais normais. Ainda em pH 6,0 a dissociação esperada seria de 4% e de 11% em pH 5,5 (Wu et al., 1991). Ao adicionar sais cálcicos de ácidos graxos na dieta de novilhos em confinamento foi encontrado que a dissociação foi baixa em pH ruminal de 5,6 a 6,0 (Nigidi et al., 1990).

Apesar da baixa dissociação, Wu et al. (1991) mencionaram vários fatores que podem contribuir na biohidrogenação dos ácidos graxos e em consequência diminuir sua absorção no intestino delgado, onde os sais cálcicos de ácidos graxos são menos utilizados (Palmquist & Jenkins, 1980). Por outro lado, os ácidos graxos insaturados se dissociam mais rapidamente (maior pK) que os saturados; é assim que a percentagem de ácidos graxos insaturados dissociados a um determinado pH é maior que o valor estimado da mistura total. Ao produzir-se a biohidrogenação, os ácidos graxos dissociados, agora saturados, adquirem um pKd menor e reagem com os cátions para formar novamente sais cálcicos sem alterar a fermentação. O resultado líquido seria uma maior quantidade de ácidos graxos saturados sem modificação do nível de sais de cálcio (Wu et al., 1991), o que estaria de acordo com os resultados de Jenkins & Palmquist (1982), quando observaram que os ácidos graxos de sais cálcicos eram mais saturados que os ácidos graxos dissociados no líquido ruminal.

Os principais fatores que influenciam a escolha da fonte lipídica, incluem o custo, inatividade no rúmen, facilidade de manuseio e aceitação pelo animal. As características específicas das diferentes fontes de gordura que influenciam o consumo não são ainda bem conhecidas. De acordo com Grummer et al. (1990), possivelmente a natureza química dos suplementos (triglicerídeo vs. ácidos graxos de cadeia longa vs. sais de cálcio) ou outros fatores, tais como odor e forma física tenham maior influência na sua aceitação pelo animal. O efeito obtido na lactação em resposta à suplementação de gorduras tem sido variável, aparentemente em função do estágio de lactação, consumo de alimento e fonte de gordura utilizada (Wu et al., 1993).

Tabela 2. Compilação de trabalhos nacionais e internacionais, entre os anos de 2009 a 2019, avaliando a inclusão do Grão de soja, Sais de Cálcio de ácidos graxos na dieta de grandes ruminantes.

Autor	Categoria animal	Fonte e dose da gordura protegida	Principais resultados
Grão de soja			
1 Almeida et al. (2016)	Vacas Holandesas Multíparas	Grão de soja (120 g/kg %MS)	Consumo de CHO: não promoveu alteração no consumo de MO. Consumo e digestibilidade de EE: aumento no consumo e digestibilidade do EE. Concentração de propionato: aumento N-NH3: redução Fermentação Ruminal: alterou (como ?). Consumo de MS: redução.
2 Gandra et al. (2016)	Novilhas jersey	Grão de soja (163 g/kg %MS)	Consumo: redução no CNF e aumento no consumo de EE.
3 Venturelli et al. (2015)	Multíparas Holandesas	Substituição de 9% GS 18% GS 27% GS	Consumo: Embora não tenha sido observado efeito das dietas sobre os consumos de MO, PB, FDN e EL, houve redução nos consumos de MS e CNF e aumento no consumo de EE. Digestibilidade: Aumento linear nas digestibilidades de EE e FDN
4 Barletta et al. (2015)	Multíparas Holandesas	Grão de soja (80, 160 e 240 g/kg %MS)	Consumo: efeito linear decrescente MS (T240g/kg %MS) Digestibilidade: redução PB (T240g/kg %MS) N-NH3: Redução de todas as dietas em comparação a controle pH: Não houve efeito AGV: Houve efeito linear decrescente na concentração molar do ácido Butírico e proporção C2:C3

5	Naves et al. (2015)	Vacas Holandesas	Grão de soja (200 g/kg %MS)	Consumo: diminuição MS, FDN e CNF. AGV: redução propionato Consumo e Digestibilidade: aumento EE Fermentação ruminal: não afetou
6	Gardinal et al. (2018)	Vacas Holandesas	Grão de soja (90, 60 e 30 g/kg %MS)	Consumo e digestibilidade aparente da MS não foram afetadas.
7	Bassi et al. (2012)	Novilhos Zebuinos	Grão de Soja (14,4% da MS)	Não houve diferença no consumo %PV Não afetou a digestibilidade.
8	Rennó et al. (2015)	Novilhos Nelores e vacas Holandesas	Grão de Soja (8%, 16% e 27%)	. A inclusão de GS diminuiu o consumo da MS. Não influenciou a digestibilidade da FDN nem da MS
9	Calomeni et al. (2012)	Vacas Holandesas	Grão de soja (8%, 16% e 24% no concentrado)	Redução linear do consumo de MS, CHO totais e CNF, onde a dieta com 24% de grão de soja apresentou menores valores. Aumento linear do consumo de EE. Não houve diferença na digestibilidade aparente total da MS, MO, EE, CNF, CHO totais, FDN e NDT.

Sais de cálcio de ácidos graxos insaturados

1	Rafiee-Yarandi et al. (2016)	Vacas Holandesas	SCAG (3,78% da dieta total)	Consumo menor FDN em comparação as dietas com grão de soja tostado Não houve diferença para os parâmetros fermentativos: pH, N-NH ₃ e agv's
2	Valinote et al. (2006)	Novilhos Nelore	SCAG (5% do concentrado)	Não houve diferença entre as dietas quanto ao pH, amônia ruminal e ácidos graxos voláteis. .As fontes de gordura, sal de cálcio de ácidos graxos e caroço de algodão não apresentaram efeito deletério no rúmen. Influência na digestibilidade da FDN em dietas com alto teor de concentrado.

Fontes de gordura

1	Freitas Jr et al (2013)	Vacas Holandesas	Grão de Soja (16% da MS) SCAG (3% da MS)	Diminuiu o consumo de MS Vacas alimentadas com SCAG apresentaram maior eficiência de ingestão e EL de produção em comparação com as vacas alimentadas com óleo de soja.
2	Bettero et al. (2016)	Vacas Holandesas	SCAG (32 g/kg %MS)	Consumo e digestibilidade: aumento de EE sem afetar MS. Redução da digestibilidade da FDN. Relação C2:C3: diminuiu Fermentação: maior pH, n-nh3 e concentração de acetato em relação ao grão de soja
3	Freitas jr. et al. (2010)	Vacas Holandesas	SCAG (3% da MS) Grão de soja (16% do concentrado)	Diminuição do consumo de matéria seca.
4	Gandra et al. (2016)	Multiparas Holandesas	SCAG (24 e 32 g/kg %MS) Grão de soja (120 e 160 g/kg %MS)	Consumo: redução de MS e não alterou EL Digestibilidade: Não alterou FDN e EL

Os estudos contidos nas tabelas testaram níveis de inclusão de grão de soja variando de 3 a 24% da matéria seca. Para os trabalhos que avaliaram grão de soja, foi observado um efeito linear decrescente, onde dietas com menores níveis de inclusão não afetaram o consumo e dietas com maiores níveis de inclusão foi verificado efeito de redução.

Já para o SCAG os trabalhos variam entre 3,0 a 3,78% da matéria seca total. E na maior parte deles foi significativo a diminuição do consumo e digestibilidade da FDN, além de não alterar os parâmetros fermentativos dos animais.

1.3 Impacto da suplementação com fontes de ácidos graxos sob consumo, digestibilidade e fermentação ruminal

Os lipídeos no rúmen podem ser alterados, acarretando diferenças marcantes entre o perfil de ácidos graxos da dieta (insaturados) e o perfil dos lipídeos que deixam o rúmen (saturados). Sendo assim o metabolismo de ácidos graxos acaba exercendo uma grande influência na composição final dos produtos dos animais (Jenkins et al. 2008). Este fator é devido os ácidos graxos insaturados poderem inibir a fermentação ruminal, assim, quando os lipídios são adicionados nas dietas de ruminantes a fermentação ruminal pode ser alterada causando redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta (JENKINS, 1993). A redução na digestibilidade da matéria seca total e da fibra pode reduzir a taxa de passagem e, conseqüentemente, o consumo de matéria seca e energia líquida (Freita jr, 2012).

Em 2013, Van relatou que a alimentação com sementes oleaginosas de linhaça em vacas não tiveram efeito sobre pH, concentrações de N-NH₃ e ácidos graxos voláteis, enquanto a relação acetato:propionato foi diminuída. Neste mesmo estudo foi descrito que as sementes de oleaginosas diminuíram os protozoários e aumentaram a população bacteriana celulolítica total no líquido ruminal. Em estudo realizado por Mao em 2010, avaliando o óleo de soja na dieta de cordeiros, foi constatado que o mesmo tem potencial de manipular o ecossistema microbiano ruminal melhorando a digestão, reduzindo a emissão de metano e excreção nitrogenada pelos ruminantes. A redução de protozoários pode ser correlacionada a redução das bactérias metanogênicas, pois estas vivem em associação, ligadas por transferência de hidrogênio entre as espécies.

A população microbiana é capaz de se adaptar à dieta fornecida, independente das adições e diferenças da composição do óleo adicionado (Ørskov, 1994). O fornecimento adequado do volumoso na dieta reduz o efeito negativo do óleo dietético na fermentação ruminal, devido a fração fibrosa criar um ambiente que dá suporte aos microrganismos no rúmen para que eles hidrolisem os óleos da dieta (Messana, 2013; Jenkins, 1993).

Os microrganismos ruminais tem um sistema de autodefesa, conhecido como biohidrogenação, o mesmo ocorre quando à presença de ácidos graxos insaturados, estes que apresentam toxicidade a população microbiana. A biohidrogenação consiste na quebra das ligações tornando o ácido graxo saturando, assim diminuindo a toxicidade aos microrganismos no rúmen (Palmquist e Mattos, 2011). A biohidrogenação e o efeito negativo que os ácidos graxos insaturados podem causar na fermentação ruminal depende da taxa de liberação no interior do rúmen, quando lenta, esse efeito é reduzido (NRC, 2001).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Procedimento geral, considerações éticas e local de realização

O experimento e os procedimentos envolvendo os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Brasil (aprovação nº 35/2016) (Anexo 1).

O estudo foi conduzido na Fazenda Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, localizada em Entre Rios - BA, Brasil. O experimento durou 96 dias e foi composto de quatro períodos de 21 dias que consistiram de 15 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e ao manejo e 6 dias para a coleta de dados. Entre os períodos, houve wash out de 3 dias.

2.2 Animais, manejo experimental e dietas

Foram utilizados quatro búfalos Murrah (*Bubalus bubalis*), machos, castrados, com aproximadamente 24 meses de idade, com peso corporal inicial médio de 351 ± 15 kg, fistulados com cânulas de silicone (Kehl ®) de 4 polegadas. Os búfalos foram distribuídos em um delineamento em Quadrado Latino 4×4 , sendo avaliadas as

seguintes dietas experimentais: 1) CO = Controle (composto por uma dieta basal à base de farelo de soja, milho moído, mistura mineral e ureia); 2) OS = Óleo de Soja (inclusão de 2 g/ kg da matéria seca total); 3) GSI = Grão de soja cru e integral (inclusão de 16 g/ kg da matéria seca total); 4) SCAG= Sais de Cálcio de Ácidos Graxos insaturados (inclusão de 2,6 g/ kg da matéria seca total).

Os animais foram alojados em baias individuais de 6 m², providas de cochos e bebedouros de modo que houvesse fornecimento de água *ad libitum* ao longo do experimento. Com o intuito de proporcionar maior conforto e bem-estar, os animais foram liberados em um curral de descanso pela manhã, uma hora antes da alimentação, durante todo o período experimental. Além disso, foram submetidos diariamente a banhos de aspersão para o conforto térmico e bem-estar.

As dietas foram formuladas mantendo-se relação volumoso:concentrado de 70:30, sendo utilizado como volumoso o feno de Transvala (*digitaria decumbens cv. Transvala*). O concentrado foi constituído de grão de milho moído, farelo de soja, grão de soja cru e integral, óleo de soja e sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac – E) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Item (%)	Feno de Transvala	Óleo de Soja	Grão de soja	Farelo de Soja	Milho Moído	SCAG
Matéria Seca	81,36	99,88	91,30	90,75	88,21	97,23
Matéria Orgânica	98,52	-	93,39	93,95	95,24	75,24
Matéria Mineral	1,47	-	6,60	6,04	4,75	24,76
Proteína Bruta	5,24	-	35,55	43,77	8,19	-
Extrato Etéreo	0,92	99,88	13,49	1,76	3,71	85,77
FDN ¹	55,27	-	20,66	20,86	21,15	-
FDNi ²	22,40	-	1,17	1,43	2,36	-
NDT ³	-	183,92	-	-	-	165,97

¹Fibra em detergente neutro; ²Fibra em detergente neutro indigestível; ³Nutrientes digestíveis totais; ⁴Energia Líquida estimada segundo as equações do NRC(2001).

Os búfalos foram alimentados duas vezes por dia, às 08 e 13 horas, com quatro dietas experimentais formuladas de modo a serem isonitrogenadas (10 % de proteína bruta) para animais com aproximadamente 380 kg de peso corporal, de acordo com as recomendações do *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS) (PAUL e LAL, 2010) (Tabela 3).

Tabela 2. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição bromatológica dos concentrados

ITENS	Diets			
	CONT	OS	GS	SCAG
Milho moído	68,30	60,42	38,00	58,17
Farelo de soja	20,17	20,73	----	21,63
Óleo de soja	----	7,33	----	----
Grão de soja	----	----	53,3	----
Sais de cálcio	----	----	----	8,67
Ureia	2,83	2,83	----	2,83
Sal comum	2,03	2,03	2,03	2,03
Mineral	6,67	6,67	6,67	6,67
Nutrientes % MS				
MS	95,53	95,88	94,67	95,93
PB	22,37	21,97	22,06	22,18
EE	2,89	9,93	8,60	9,98
FDN	18,66	17,11	19,05	16,82
FDNi	1,90	1,72	1,52	1,68
MM	15,50	15,20	13,51	17,30
FDA	3,76	3,58	7,72	3,59
Lignina	1,13	1,05	1,79	1,04

¹composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobre, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor. **estimado pelo NRC (2001).

Tabela 3. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais

ITENS	DIETAS			
	CONT	OS	GS	SCAG
Feno de Transvala	70,04	70,04	70,07	70,03
Milho moído	20,49	18,13	11,40	17,45
Farelo de soja	6,05	6,22	----	6,49
Óleo de soja	----	2,20	----	----
Grão de soja	----	----	15,99	----
Megalac-E	----	----	----	2,60
Ureia	0,85	0,85	----	0,85
Sal comum	0,61	0,61	0,61	0,61
Mineral	2,00	2,00	2,00	2,00
Nutrientes % MS				
PB	10,38	10,26	10,29	10,32
EE	1,51	3,63	3,23	3,64
FDN	44,30	39,49	44,44	43,75
CNF	21,40	19,10	18,30	13,70
NDT	56,00	59,00	60,00	56,00

¹composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobre, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor.

A ureia na dieta com GS não foi adicionada porque o grão de soja possui níveis mínimos de proteína digestível no rúmen.

2.3 Amostragem e análises laboratoriais

As amostras dos ingredientes das dietas foram colhidas no início de cada período experimental. Já as amostras de sobras foram colhidas diariamente durante o período de coleta de dados, totalizando quatro amostras compostas por período. As amostras compostas foram obtidas ao final de cada período através da realização de um *pool* de amostras diárias por cada animal e período. Estas amostras foram armazenadas e congeladas a -20°C para posteriores análises.

A composição bromatológica dos ingredientes, sobras (Tabela 1) foi realizada após secagem das amostras em estufa de ventilação forçada a 55°C por um período de 72 horas sendo posteriormente moídas em moinho de faca do tipo Willey providos de peneiras de 1 mm.

As amostras coletadas ao longo do experimento foram analisadas de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (2000) para determinar a matéria seca (MS - Método: 950.05), matéria mineral (MM - Método: 942.05; proteína bruta (PB - método 984.13) utilizando-se o fator de conversão $[N \times 6,25]$; extrato etéreo (EE - Método: 920.39). Para determinação do teor de matéria orgânica (MO), foi utilizada a equação $MO (g/kg) = 100 - MM (g/kg)$ descrita por Zaklouta et al. (2011).

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pela metodologia descrita por Van Soest et al. (1991). O teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi quantificado pelo método INCT CA-F 009/1 descrito por Detmann et al. (2012). Amostras de ingredientes, sobras e fezes foram secas a 55° C em estufa de ventilação forçada por 72 horas, moídas com peneira de 2 mm (Wiley mill, AH Thomas, Filadélfia, EUA), e então colocadas em sacos de TNT previamente pesados (20 mg de MS / cm²). Posteriormente, essas amostras foram incubadas por 288 horas no rúmen de dois búfalos previamente adaptados a uma dieta semelhante à fornecida aos animais durante o período experimental

Para a análise da lignina, o resíduo de fibra foi tratado em detergente ácido com ácido sulfúrico a 72% (AOAC, 2002). Os carboidratos não-fibrosos (CNF) pela fórmula

proposta por Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ ureia} + \% \text{ ureia}) + \% EE + \%MM + \%FDN]$.

Os nutrientes digestíveis totais dos ingredientes foram estimados segundo NRC (2001), onde $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$.

2.4 Consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes

A quantidade de alimento oferecida aos animais foi ajustada diariamente de acordo com o consumo de matéria seca do dia anterior, permitindo-se sobras de 5 a 10% da quantidade total fornecida, para evitar limitações de consumo. O volumoso e o concentrado foram misturados, e fornecidos na forma dieta total no cocho. O consumo de alimentos foi registrado diariamente sendo calculado como a diferença entre o alimento oferecido e as sobras. Amostras das dietas e sobras de cada animal também foram coletadas a cada 5 dias do período experimental.

Foi coletado amostra de fezes no 18º dia de cada período experimental, sendo obtidas quatro amostras por animal ao final do experimento. As fezes de cada animal foram coletadas após a defecação espontânea e armazenadas em um recipiente de plástico. No final de cada período de coleta, determinou-se o peso total do conteúdo fecal homogeneizado do recipiente. Previamente à moagem, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, sendo então processadas em moinho Willey providas de peneira de 1 mm.

As amostras de fezes foram coletadas uma vez por período (spot + FDNi) e analisadas para a determinação dos conteúdos de MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e NDT de acordo com as metodologias da AOAC (2000) utilizadas para as amostras de ingredientes. As digestibilidades dos nutrientes foram estimadas com base no consumo de nutrientes (kg / dia) e na sua excreção nas fezes (kg / dia).

2.5 Análise de fermentação ruminal

As amostras de líquido ruminal foram coletadas no 16º dia de cada período experimental, combinando nove alíquotas colhidas a partir de nove pontos diferentes no rúmen (dorsal, médio e ventral), totalizando sete tempos. As coletas ocorreram antes da alimentação pela manhã (0 horas), e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas depois. Após a coleta, o

líquido ruminal foi filtrado com auxílio de uma malha de 1 mm com o objetivo de avaliar o pH, a concentração de N-amoniaco e os ácidos graxos voláteis (AGV)

Como mencionado anteriormente, cerca de 200 mL de amostras de líquido ruminal foram coletadas para avaliação do pH, o qual foi determinado através de leitura imediata utilizando-se pHmetro digital.

Posteriormente, vinte mililitros (20 mL) de líquido ruminal foram coletados, armazenados em recipientes plásticos com tampa e imediatamente congelados a -20°C para posteriores análises. A avaliação das concentrações de AGV foi realizada após descongelamento prévio das amostras, que foram então centrifugadas a 1300 g durante 20 minutos. Após a centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi pipetado e colocado em tubo de ensaio sendo adicionados 1 mL de ácido metafosfórico a 25%. O tubo foi então identificado e armazenado em freezer a -20°C para as determinações de acetato, propionato e butirato utilizando-se a técnica de Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE), utilizando-se um comprimento de ondas de 210 nm de acordo com a metodologia descrita por Mathew et al. (1997).

Para análise de nitrogênio amoniaco, metodologia baseada em Broderick and Kang, 1980, as amostras de líquido ruminal foram descongeladas sendo adicionados 0,5 mL de solução de tungstato de sódio a 10% a 1,5 mL de amostra, que foram imediatamente centrifugadas (1800 g durante 15 minutos). Posteriormente, foram pipetados 50 μL do sobrenadante e adicionado 1 mL do reagente tampão do kit comercial (K047 ©, Bioclin, Belo Horizonte, MG). Os tubos foram então vedados, depois submetidos à agitação e colocados em banho-maria (37°C por 5 minutos). Em seguida, a solução oxidante foi adicionada para que fosse verificada alteração da coloração das amostras. Após as amostras terem atingido a temperatura ambiente foi procedida a leitura com auxílio de espectrofotômetro (Espectrofotômetro Mono Feixe SP-22, Curitiba, Biospectro, Brasil®) utilizando-se absorvância com comprimento de onda de 600 nm.

As concentrações de metano foram mensuradas utilizando a equação descrita por Moss et al. (2000): $((\text{Acético} \times 0,45) + (0,4 \times \text{Butírico}) - (\text{Propiônico} \times 0,275))$, sendo utilizada a unidade percentual molar.

2.6 Comportamento ingestivo

Para a avaliação do comportamento ingestivo, os búfalos foram submetidos a períodos de observação visual de 5 minutos durante 24 horas no 17º dia de cada período experimental.

Para a avaliação do tempo despendido em alimentação, ruminação e ócio, foi adotada a observação contínua e individualizada dos animais em intervalos entre observações de cinco minutos. Além disso, foram contabilizados o número de períodos em alimentação, ruminação e ócio pelo número de sequências de atividades observadas. Foi calculada a duração média diária desses períodos de atividades dividindo-se a duração total de cada atividade (alimentação, ruminação e ócio em minutos/dia) pelos seus respectivos números de períodos registrados.

Durante a observação noturna dos animais, o ambiente foi mantido com iluminação artificial durante dois dias de modo a haver adaptação dos mesmos a luminosidade. Foram realizadas três observações em cada animal, em três períodos diferentes do dia (manhã, tarde e noite). Nestes períodos foram contabilizados os números de mastigações meréricas por bolo ruminal assim como foi contabilizado o tempo despendido em cada bolo com o auxílio de cronômetros digitais.

As eficiências de alimentação (EAL) e ruminação da MS e FDN e os tempos despendidos em mastigação total (TMT minutos/dia) foram calculados conforme a metodologia descrita por Burger et al. (2000). As eficiências de alimentação e ruminação foram obtidas utilizando-se as seguintes equações:

$$EALMS = CMS/TI$$

$$EALFDN = CFDN/TI$$

Em que EALMS = eficiência de alimentação de MS (gramas de MS ingerida/horas); CMS (kg) = consumo diário de matéria seca; CFDN (kg) = consumo diário da FDN; TI = tempo gasto em ingestão diariamente.

$$ERUMS = CMS/TRU$$

$$ERUFDN = CFDN/TRU$$

Em que ERUMS = eficiência de ruminação da MS (gramas de MS ruminada/horas); ERUFDN = eficiência de ruminação da FDN (gramas de FDN ruminada/horas), TRU = tempo gasto em ruminação diariamente (horas).

Tempo de mastigação total:

$$\text{TMT} = \text{TI} + \text{TRU}$$

Em que TMT = tempo de mastigação total (minutos/dia); TI = tempo gasto em ingestão diariamente; TRU = tempo gasto em ruminação diariamente (horas).

Na estimativa das variáveis do comportamento ingestivo nas atividades de alimentação e ruminação, eficiência alimentar, eficiência em ruminação e consumo médio de MS e FDN por período de alimentação foi considerado o consumo voluntário de MS e FDN do 23º dia, sendo as sobras do dia correspondente computada.

2.7 Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando o procedimento PROC MIXED (SAS Inst. Inc., Cary, NC) com delineamento em Quadrado Latino 4×4 , de acordo com o modelo abaixo descrito:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + P_j + D_k + e_{ijk}$$

Em que, Y_{ijk} = variáveis observadas do i -ésimo animal, j -ésimo período e k -ésima dieta; μ = média geral do experimento para a variável; B_i = efeito do i -ésimo búfalo, variando de 1 a 4; P_j = efeito do j -ésimo período, variando de 1 a 4; D_k = efeito da k -ésima dieta, variando de 1 a 4; e e_{ijk} = erro aleatório devido ao animal, período e dieta.

Os dados de fermentação ruminal (0, 2, 4, 6, 8, 10 ou 12 h após a alimentação), pH, N-NH₃ e AGV foram avaliados estatisticamente como medidas repetidas no tempo utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (9.1, 2004), de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + P_j + D_k + T_l + (T \times D)_{lk} + e_{ijkl}$$

Em que Y_{ijkl} = observação do animal i , no período j , submetida a dieta k e tempo l ; μ = efeito geral de média; B_i = efeito aleatório do búfalo i ($i = 1-4$); P_j = efeito fixo do período j ($j = 1-4$); D_k = efeito aleatório da dieta k ($k = 1-4$); T_l = efeito fixo do tempo l

($l = 0, 2, 4, 6, 8, 10$ e 12 h após a alimentação); (T x D) lk = efeito fixo da interação entre dieta k e tempo l ; e e_{ijkl} = erro aleatório de animal, período e dieta.

Para avaliação dos efeitos de tratamentos foram considerados os contrastes ortogonais: C1= controle versus fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos insaturados). O objetivo foi comparar a dieta controle com as fontes de gordura independente da fonte de ácidos graxos; C2= óleo de soja versus sais de cálcio e grão de soja; esse contraste foi montado para comparar uma fonte de ácidos graxos não complexados (óleo de soja) com as duas formas de ácidos graxos complexados; C3= grão de soja versus sais de cálcio. O objetivo do contraste três foi comparar as duas formas de proteção dos ácidos graxos insaturados (Quadro 1).

Foi utilizado o efeito aleatório animal dentro de dietas. O método de Kenward-Rogers (1997) foi usado para calcular os graus de liberdade do denominador do teste F. De acordo com WOLFINGER (1993) um dos procedimentos para seleção da estrutura de covariância usada foi o critério de informação de Akaike, nos quais os altos valores sugerem a melhor estrutura. Para as análises ao longo do tempo como as concentrações dos parâmetros de fermentação ruminal, todas as dietas foram confrontadas dentro de cada tempo através da opção PDIFF (Perceptual Diff) com as médias obtidas por meio do LSMEANS (Least Squares Means). Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se o nível de significância de 5%.

3.1 RESULTADOS

3.2 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Não houve efeito ($P > 0,05$) das fontes de gordura adicionadas nas dietas sobre os consumos de matéria seca e FDN, expressos em kg/ dia e % de peso corporal, assim como nos consumos diários de matéria orgânica, proteína bruta, carboidratos não-fibrosos e nutrientes digestíveis totais expressos em kg/dia.

Por outro lado, búfalos alimentados com dietas contendo fontes adicionais de gordura apresentaram maiores consumos de extrato etéreo em relação aos animais submetidos à dieta controle (contraste 1) ($P = 0,003$). Além disso, quando analisado o contraste 3, é possível observar que houve aumento do consumo de extrato etéreo

em búfalos alimentados com a dieta composta por sais de cálcio de ácidos graxos, em relação aqueles submetidos à dieta com grão de soja ($P = 0,018$)(Tabela 4).

Tabela 4. Consumo diário das frações nutricionais, expressos em kg/dia e %PC, em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	CONT	OS	GS	SCAG		C1	C2	C3
	kg/dia							
Matéria seca	5,8	4,3	4,9	5,7	0,27	0,171	0,134	0,265
Matéria orgânica	5,6	4,1	4,6	5,3	0,26	0,135	0,159	0,317
Proteína bruta	0,6	0,4	0,5	0,6	0,03	0,167	0,127	0,389
Extrato etéreo	0,10	0,16	0,15	0,22	0,01	0,003	0,279	0,018
FDN	2,8	2,1	2,4	2,8	0,12	0,186	0,109	0,221
CNF	1,9	1,3	1,5	1,7	0,09	0,053	0,244	0,523
NDT	2,7	1,5	2,3	2,6	0,28	0,350	0,219	0,678
	%PC							
Matéria seca	1,5	1,3	1,6	1,4	0,08	0,727	0,26	0,394
FDN	0,7	0,6	0,7	0,8	0,03	0,702	0,20	0,396

¹Controle (CONT); Grão de Soja (GS); Óleo de Soja (OS); MEGALAC-E (SCAG), ²Erro padrão da média;³Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%; contrastes das dietas: CONT vs Fontes de gordura (C1); OS vs GS + SCAG (C2); GS vs SCAG (C3); %PC = porcentagem de peso corporal.

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) na digestibilidade aparente total de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não-fibrosos, assim como nos nutrientes digestíveis totais. Contudo, quando se analisa o contraste 1, dietas contendo fontes de gordura apresentaram maiores valores de digestibilidade do extrato etéreo em relação à dieta controle ($P = 0,0004$)(Tabela 5).

Tabela 5. Digestibilidade aparente total (g/kg) da matéria seca e nutrientes de dietas contendo diferentes fontes de gordura para búfalos

Item (%)	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	CONT	OS	GS	SCAG		C1	C2	C3
Matéria seca	61,0	63,6	64,8	59,9	1,31	0,581	0,710	0,232
Matéria orgânica	62,1	65,2	64,4	62,3	1,35	0,535	0,617	0,215
Proteína bruta	58,2	54,6	62,7	57,0	2,04	0,988	0,332	0,365
Extrato etéreo	36,8	76,8	59,8	71,5	4,74	0,0004	0,142	0,179
FDN	51,9	62,2	65,2	52,3	2,99	0,255	0,637	0,141
CNF	52,7	63,4	66,0	54,1	2,42	0,113	0,529	0,737
NDT	47,0	59,3	59,8	52,6	2,47	0,079	0,594	0,288

¹Controle (CONT); Grão de Soja (GS); Óleo de Soja (OS); MEGALAC-E (SCAG), ²Erro padrão da média;³Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: CONT vs Fontes de gordura (C1); OS vs GS + SCAG (C2); GS vs SCAG (C3).

3.3 Fermentação Ruminal

Búfalos alimentados com dietas contendo sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG) apresentaram menores valores de pH ruminal em comparação aos animais alimentados com grão de soja ($P = 0,031$). Houve efeito dos tempos de coleta após alimentação sobre os valores de pH ruminal (Figura 1; $P = <0,001$).

A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal (AGCC TOTAL), assim como a de propionato expressos em mMol, foram influenciadas pelas dietas experimentais. Assim, para o contraste 1, animais alimentados com as dietas contendo fontes de gordura apresentaram menores concentrações de AGCC total e propionato quando comparado aqueles animais submetidos à dieta controle ($P = <0,001$ e $P = 0,019$, respectivamente). Além disso, para estas mesmas variáveis foi verificada diferença no contraste 3. Dessa forma, foram observadas maiores concentrações de AGCC total e acetato nos búfalos alimentados com dietas contendo sais de cálcio de ácidos graxos em relação à dieta com grão de soja ($P = 0,031$ e $P = 0,027$, respectivamente).

De forma similar, também foi observado efeito das fontes de gordura sobre as concentrações de acetato e butirato, em MMol. Quando se analisa o contraste 1 para estas variáveis, animais submetidos às dietas contendo fontes de gordura apresentaram menores concentrações de acetato e butirato em comparação aos animais alimentados com a dieta controle ($P = 0,0006$ e $P = 0,002$, respectivamente).

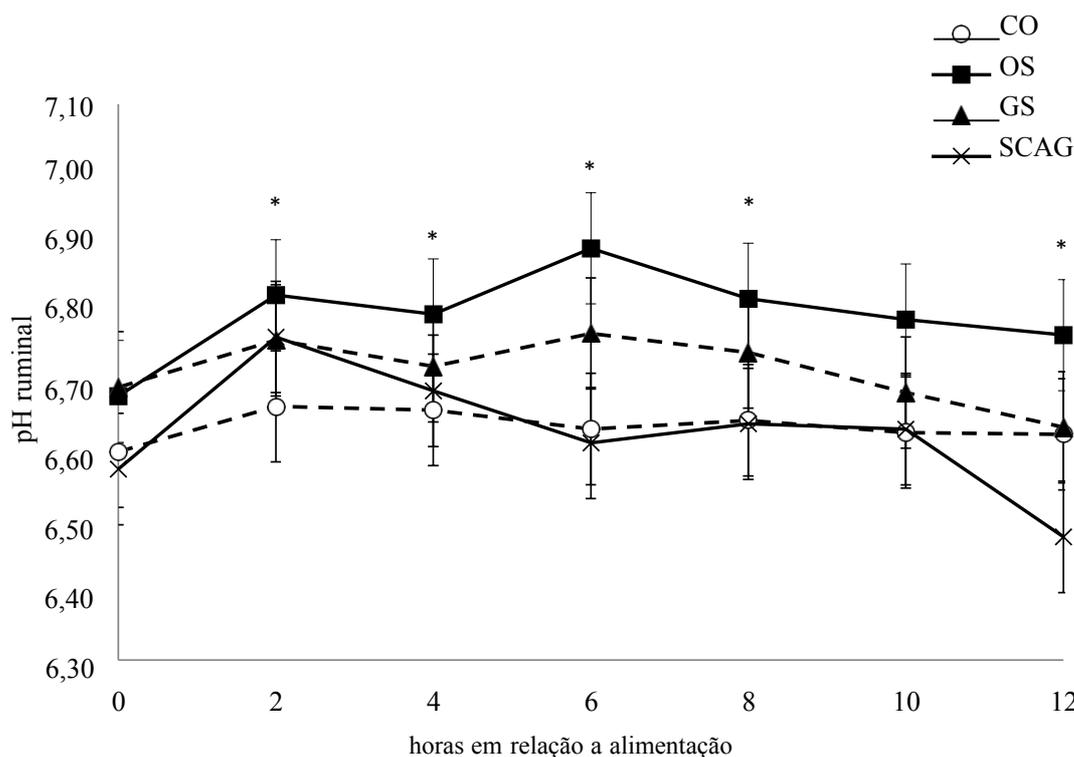
Tabela 6. Efeito de dietas contendo diferentes fontes de gordura sobre o pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de búfalos

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P ³				
	CONT	OS	GS	SCAG		Tempo*	Inter**	C1	C2	C3
pH	6,6	6,7	6,8	6,6	0,10	<0,001	0,25	0,098	0,293	0,031
N-NH ₃ (mg/dL)	11,1	13,4	9,9	13,6	0,30	0,27	0,35	0,516	0,430	0,148
MMol										
AGCC Total	45,2	41,1	37,9	42,8	0,60	0,43	0,37	<0,001	0,581	0,031
Acetato	24,9	22,6	21,3	24,1	0,39	0,36	0,32	0,0006	0,364	0,329
Propionato	9,5	8,9	8,0	9,0	0,16	0,42	0,59	0,019	0,249	0,027
Butirato	10,7	9,5	8,6	9,5	0,21	0,95	0,49	0,002	0,398	0,104
Mol/100 mol										
Acetato	55,2	55,2	56,3	56,6	0,61	0,88	0,84	0,360	0,161	0,786
Propionato	21,0	21,5	21,2	21,0	0,21	0,75	0,65	0,660	0,392	0,768
Butirato	23,6	23,2	22,4	22,4	0,35	0,92	0,34	0,206	0,317	0,948
C2:C3	2,6	2,6	2,6	2,7	0,42	0,76	0,84	0,885	0,380	0,691
Metano	28,5	28,2	28,5	28,7	0,26	0,74	0,74	0,835	0,264	0,590

¹Controle (CONT); Grão de Soja (GS); Óleo de Soja (OS); MEGALAC-E (SCAG), ²Erro padrão da média; ³Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: CONT vs Fontes de gordura (C1); OS vs GS + SCAG (C2); GS vs SCAG (C3); NH₃ = nitrogênio amoniacal; AGCC = ácidos graxos de cadeia curta; mg/dL = miligramas/ decilitro; C2:C3 = relação acetato:propionato.

Por outro lado, não foi verificado efeito ($P>0,05$) das fontes de gordura nas dietas sobre as concentrações de nitrogênio amoniacal, acetato, propionato, butirato, relação acetato:propionato e metano em Mol/100 mol.

Figura 1. Valores de pH ruminal em búfalos alimentados com dietas contendo fontes de gordura (CO = controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; SACG = sais de cálcio de ácidos graxos). Diferença estatística (* $P < 0,05$) entre as dietas GS e SCAG ($P = 0,0383$) para o tempo 1; controle e GS ($P = 0,0364$) no tempo 2; controle e GS ($P = 0,0425$), no tempo 3; controle x OS ($P = 0,0162$); controle e GS ($P = 0,0077$); OS e SCAG ($P = 0,0103$); GS e SCAG ($P = 0,0049$), no tempo 4; controle e GS ($P = 0,0145$); GS e SCAG ($P = 0,0129$) no tempo 5; OS e SCAG ($P = 0,0082$) no tempo 7.



3.4 Comportamento Ingestivo

Houve efeito das fontes de gordura nas dietas sobre os tempos despendidos pelos búfalos em alimentação (minutos/dia), tempo de mastigação total (horas/dia) ($P = 0,040$) e em ócio (minutos/dia) ($P = 0,040$). Quando se analisa o contraste 2, búfalos alimentados com dietas contendo fontes de gordura complexadas despenderam maiores tempos nestas atividades relacionadas às atividades, em relação aqueles animais submetidos a dieta contendo óleo de soja (Tabela 7).

Tabela 7. Atividades de alimentação, ruminação, mastigação e ócio em búfalos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura

Item	Dietas experimentais ¹				EPM ²	Valor de P ³		
	CONT	OS	GS	SCAG		C1	C2	C3
	Atividades (minutos/dia)							
Alimentação	164,5	140,0	218,2	260,0	22,03	0,334	0,055	0,602
Ruminação	404,9	402,5	458,7	517,5	60,92	0,376	0,204	0,642
Ócio	870,6	897,5	763,1	662,5	47,35	0,193	0,040	0,994
	Mastigação							
Nº/dia	19420	21293	25240	25832	1481,5	0,183	0,258	0,893
TMT h/dia	9,5	9,0	13,0	12,9	0,78	0,194	0,040	0,980
	Eficiência em alimentação							
g MS/hora	1849,9	2031,4	1553,6	1376,7	333,79	0,650	0,203	0,708
g FDN/hora	1981,2	1015,6	625,7	677,9	303,66	0,103	0,628	0,954
	Eficiência em ruminação							
g MS/hora	968,5	648,7	526,6	667,9	71,01	0,032	0,746	0,468
g FDN/hora	468,7	325,2	258,1	331,8	33,62	0,036	0,690	0,429
Nº Mast/bolo	42,12	34,2	53,7	45,8	3,99	0,794	0,141	0,523
NBR n/dia	501,3	627,5	513,0	613,3	49,7	0,505	0,630	0,538
Tempo de mast/bolo(s)	53,3	38,8	69,4	55,4	4,97	0,908	0,061	0,332

¹Controle (CONT); Grão de Soja (GS); Óleo de Soja (OS); MEGALAC-E (SCAG), ²Erro padrão da média; ³Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: CONT vs Fontes de gordura (C1); OS vs GS + SCAG (C2); GS vs SCAG (C3); Nº/dia = números / dia ; TMT h/dia = tempo de mastigação total horas / dia. g MS/hora = gramas de matéria seca / hora ; g FDN/hora = gramas de fibra em detergente neutro / hora ; Nº Mast/bolo = número de mastigações / bolo ; NBR n/dia = número de bolos ruminados / dia ; Tempo de mast/bolo(s) = tempo de mastigação / bolo (segundos).

As eficiências em alimentação de matéria seca e FDN (gramas/hora), e as eficiências em ruminação referentes às variáveis de número de mastigações/bolo, números de bolos ruminados/dia e tempo de mastigação/ bolo (segundos) não foram influenciadas pelas dietas experimentais ($P > 0,05$) (Tabela 7).

Houve efeito das fontes de gordura na eficiência de ruminação (gramas de matéria seca e fibra em detergente neutro consumida por hora) ($P = 0,032$ e $P = 0,036$, respectivamente). Quando se analisa o contraste 1, foram verificadas menores eficiências de ruminação de MS e FDN em búfalos alimentados com dietas contendo fonte de gordura em relação aos animais submetidos a dieta controle (Tabela 7).

4. Discussões

4.1 Consumo e digestibilidade de nutrientes

A inclusão de fontes lipídicas em dietas para búfalos apenas promoveu incrementos no consumo e digestibilidade do extrato etéreo. Como não foi verificado efeito das dietas sobre o consumo de matéria seca, conseqüentemente a ingestão e digestibilidade das demais frações orgânicas também não foram influenciadas. Diante destes resultados é possível concluir que a inclusão das fontes de gordura nas formas livre e complexadas e seus teores nas dietas não foram ativaram nenhum mecanismo que afetasse o consumo dos animais, pois os níveis de inclusão foram inferiores ao limite de 7% preconizado na literatura (Palmquist e Jenkins, 1980).

O maior consumo de extrato etéreo pelos animais alimentados com as dietas contendo óleo de soja, grão de soja e SCAG já era uma resposta esperada haja vista que estas dietas apresentavam maiores teores de EE (Tabela 2) em relação à dieta controle e não houve diferença no consumo de matéria seca. Além disso, o maior consumo de EE em búfalos submetidos à dieta contendo SCAG em comparação aqueles verificados na dieta contendo grão de soja também pode ser justificada pelo nível de extrato etéreo verificado nestas dietas (Tabela 2), bem como pela composição bromatológica destes ingredientes avaliados (Tabela 1). Portanto, os resultados deste estudo corroboram com o que foi descrito por Palmquist (1991), de que o incremento no consumo de EE tende a diluir o efeito das perdas endógenas de EE nas fezes e isto faz com que a relação entre o total de EE consumido e o EE quantificado nas fezes aumente, fato que se reflete em maior digestibilidade aparente.

A ausência de efeito das dietas sobre o consumo de proteína bruta pode ser justificada pelo fato das dietas terem sido formuladas de modo a serem isonitrogenadas e ausência de diferença no consumo de matéria seca pelos animais. Além disso, é importante destacar que houve inclusão de ureia no concentrado em todas as dietas, com exceção daquela em que foi fornecido o grão de soja. Apesar disso, é possível concluir que todas as dietas forneceram teores similares de

proteína bruta, e no caso da dieta com GS isto foi compensado por apresentar níveis satisfatórios de proteína degradável do rúmen (OLIVEIRA, 2011).

Com relação ao consumo de nutrientes digestíveis totais, não seria esperado efeito significativo, uma vez que somente o consumo de extrato etéreo sofreu incremento pelas dietas enquanto que as demais frações relacionadas com a estimativa do NDT foram similares, embora a dieta controle tenha sido composta por maiores valores de carboidratos não-fibrosos, as dietas contendo fontes lipídicas proporcionaram maiores consumos de EE, o que possibilitou que os búfalos em todos os tratamentos apresentassem respostas semelhantes quanto ao consumo de NDT. Levando-se em consideração que as dietas não influenciaram o consumo de matéria seca, a ausência de efeito no consumo de NDT pelos animais ratifica o que foi descrito por Mertens (1992) de que o consumo de matéria seca está associado ao atendimento das exigências energéticas pelos animais.

Assim como este estudo, Oliveira et al. (2009) avaliaram a inclusão de fontes lipídicas sob a forma de óleo e complexadas na dieta de búfalas lactantes sobre as variáveis de consumo e digestibilidade de nutrientes. Embora tenham sido utilizados bubalinos de outro sexo e categoria animal, também foi observado efeito das fontes lipídicas somente sobre o consumo de extrato e digestibilidade do etéreo pelos animais. Conforme ressaltado por Allen (2000), o consumo de matéria seca pode ser limitado de diversas formas seja pela ação direta sobre hormônios intestinais como colecistoquinina, pela oxidação de ácidos graxos no fígado ou também devido à aceitabilidade das fontes utilizadas.

A ausência de efeito das fontes de lipídios em ruminantes tem sido ressaltada no momento em que as dietas fornecidas são constituídas por grandes proporções de volumosos, principalmente quando é fornecido feno aos animais. Segundo descrito por Bateman e Jenkins (1998), o fornecimento de dietas contendo níveis adequados de fibra em detergente neutro de forma associada até 7% de óleo de soja exercem pouco efeito sobre a fermentação ruminal.

Os estudos que avaliam o efeito de suplementos lipídicos sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes quando ofertados em dietas para bovinos ainda demonstram resultados divergentes. De forma geral, boa parte dos estudos conduzidos avaliando fontes lipídicas foram realizados com bovinos em diferentes

categorias e, em decorrência disso, os resultados acabam sendo contraditórios. Assim em parte deles foi verificada a redução na digestibilidade da fibra (Boerman e Lock 2014), aumento (Granja-Salcedo et al. 2017) ou nenhuma influência (Lima et al. 2014) das dietas sobre a digestibilidade. Tal comportamento pode ser justificado pela diferença da espécie e categoria animal utilizada, nível de inclusão da fonte de gordura e o tipo de volumoso utilizado nas dietas.

Uma possível explicação para a divergência dos resultados comumente observados na literatura é que repostas diferentes são esperadas com diferentes suplementos lipídicos, pois os efeitos da suplementação são inerentes as características físicas e químicas específicas dos ácidos graxos suplementados (ALLEN, 2000). De acordo com Onetii et al. (2001) esta resposta pode estar também associada à qualidade da FDN da forragem, tipo de volumoso e relação volumoso:concentrado. Além dos fatores anteriormente mencionados, deve-se destacar a influência da espécie e categoria animal, assim como a questão da aceitabilidade que pode ser variada ocasionando resultados divergentes entre as formas de fornecimento das fontes lipídicas.

Fontes de gordura podem diminuir a digestibilidade da fibra devido à formação de filmes que cobrem a partícula dos alimentos dificultando a adesão microbiana ou, em decorrência dos efeitos tóxicos nas bactérias gram-positivas celulolíticas, principais responsáveis pela digestão da fibra (JENKINS, 1993; Cant et al., 1997).

A falta de efeito do grão de soja e SCAG sobre a digestibilidade dos nutrientes pode estar associada à lenta liberação dos lipídios no ambiente ruminal, não excedendo a capacidade de biohidrogenação prevenindo os efeitos adversos dos lipídios sobre os microrganismos ruminais (Coppock and Wilks 1991; Palmquist and Conrad 1991). Além disso, nos níveis avaliados, as dietas contendo fontes lipídicas não protegidas (óleo de soja) e protegidas (grão de soja e SCAG) não promoveram efeitos deletérios sobre as digestibilidades das frações fibrosas (FDN e CNF) possivelmente porque não excederam o nível de máximo de inclusão recomendado

Diante dos resultados obtidos de consumo e digestibilidade dos nutrientes, embora tenha sido observado efeito no consumo e, conseqüentemente, sobre a digestibilidade do extrato etéreo, é importante destacar que o nível de inclusão das fontes de gordura na dieta não foi suficiente para promover efeito negativo sobre a

digestibilidade das demais frações e nos nutrientes digestíveis totais. Assim, é possível concluir que não houve comprometimento e/ou efeito deletério sobre a atividade microbiana devido ao uso das fontes de ácidos graxo livre ou quando fornecidas nas formas complexadas e não complexadas seja de forma natural ou artificial (grão e SCAG).

4.2 Fermentação ruminal

Neste estudo foi possível verificar que os valores de pH ruminal em búfalos foram influenciados pelas dietas contendo fontes de ácidos graxos diferentes formas de complexação. No contraste 3, animais alimentados com a dieta contendo grão de soja apresentaram maior valor de pH ruminal em relação aos animais submetidos às dietas contendo sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E). Este resultado possivelmente pode ser atribuído à maior inclusão de farelo de milho e farelo de soja na dieta contendo Megalac-E (Tabela 3). Este comportamento já era esperado em virtude destes alimentos apresentarem fermentação mais rápida em comparação aos carboidratos contidos no interior do grão de soja servindo de substrato para o processo de fermentação ruminal e, conseqüentemente, efeito na disponibilidade do hidrogênio.

Comportamento similar foi verificado em estudo desenvolvido por Freitas Junior (2018) ao avaliar o fornecimento de fontes de gorduras nas dietas para vacas em lactação. Conforme verificado pelo autor, este comportamento sobre o pH ruminal já era previsto em decorrência do aumento do consumo de alimentos após o tempo zero de coleta. Assim, ocorre ao mesmo tempo o incremento da fermentação ruminal devido à maior disponibilidade de substrato usado para a fermentação. Por sua vez, isto promove redução dos valores de pH devido a maior concentração de hidrogênio proveniente do metabolismo.

Os valores de pH ruminal observados corroboram com o que verificado por Franzolin (2010) que ressaltou maior poder de tamponamento em bubalinos, em comparação aos bovinos resultando em um menor efeito da dieta sobre o pH. Segundo descrito pelo autor, isto pode ser justificado pela adaptação dos microrganismos ruminais a diferentes níveis de energia e proteína na dieta. O pH ruminal de bubalinos geralmente atinge seu nível mais baixo de 2 a 6 horas após a

alimentação, dependendo da fonte dos nutrientes e da velocidade de ingestão da dieta (Alves et al., 2009). Além disso, os mesmos autores observaram média de pH 6,7, semelhante ao presente estudo.

O fornecimento da dieta sem inclusão de gordura promoveu maiores valores de AGCC, acetato, propionato e butirato possivelmente porque esta dieta apresentou em sua composição níveis superiores de carboidratos (Tabela 3). Assim como os resultados do pH ruminal, o efeito significativo na produção de AGCC também pode ser justificado pela disponibilidade de substrato no ambiente ruminal e da presença de carboidratos não-fibrosos disponíveis no rúmen.

Além disso, observou-se que houve influência do tipo de complexação das fontes de gordura utilizadas nas concentrações de AGCC total e butirato, de modo que menores valores foram verificados para búfalos alimentados com dietas contendo GS. Este resultado possivelmente pode ser justificado pelas mudanças ocorridas na composição bromatológica das dietas fornecidas.

Como não foi verificado efeito das dietas no consumo de MS e FDN a menor produção de AGCC pode ter ocorrido devido haver mais carboidrato disponível no ambiente ruminal da dieta contendo SCAG em comparação a dieta contendo GS. Com essa menor disponibilidade há menos fermentação resultado em menor produção de AGV, a dieta contendo SCAG possui maior inclusão de milho e soja, assim justificando a maior quantidade de carboidratos.

A inclusão de fonte de gorduras além dos efeitos anteriormente descritos pode também diminuir a fermentação ruminal e digestibilidade da fibra ocasionando maior enchimento ruminal e redução na taxa de passagem (Palmquist e Jenkins 1980). De forma geral a inclusão das fontes de gordura nas dietas de búfalos não influenciou de forma significativa o comportamento ingestivo dos animais. Contudo, variáveis relacionadas à ruminação nos animais alimentados com dietas contendo fontes de gordura possivelmente podem estar associadas.

4.3 Comportamento ingestivo

A ausência de efeito da adição de diferentes fontes de gordura sobre boa parte das características do comportamento ingestivo dos búfalos está, pelo menos parcialmente, relacionada à ausência de diferenças no consumo de MS e FDN destas

dietas. Em virtude de não ter sido constatado impacto no consumo destes nutrientes e limitação devido a ativação de mecanismos físicos ou psicogênicos dos animais

Os níveis de extrato etéreo consumido foram inferiores aos usualmente recomendados (em torno de 5%) (Tabela 3). Dessa forma, aparentemente não exerceram um efeito negativo pronunciado sobre a digestibilidade do volumoso, e, conseqüentemente, sobre o consumo voluntário. Outro aspecto a considerar é que, aparentemente, as fontes de gordura adicionadas foram palatáveis ou pelo menos não alteraram negativamente o apetite dos animais (Davis, 1993; NRC, 2001).

Animais alimentados com dietas contendo grão de soja e SCAG despenderam um maior número e tempo gasto por período em ruminação demonstrando a influência do tipo de complexação da fonte de gordura sobre estas variáveis do comportamento ingestivo. Assim, o fornecimento de dieta para búfalos contendo grão de soja considerada fonte de gordura complexada de forma natural devido à matriz faz com que os animais tenham de passar menor tempo em atividades relacionadas à ruminação do que aqueles com fonte de gordura artificial que em virtude do tratamento utilizado ocasionam maior dificuldade para o fracionamento das partículas.

Portanto, isso leva a pressuposição de que a forma de proteção dos ácidos graxos insaturados embora auxilie na manutenção do ambiente ruminal devido à menor liberação e efeito destes na microbiota pode interferir no comportamento ingestivo e tempo despendido em atividades relacionadas principalmente a ruminação, e, em menor relevância, em mastigação e ócio pelos animais.

5. CONCLUSÃO

Os níveis de fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados incluídos no presente estudo não suficientes para causar alterações metabólicas que impactem no desempenho do animal. Há necessidade de mais estudos com fontes de ácidos graxos para bubalinos.

6. 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, n.7, p.1598-1624, 2000.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal Animal Science**, v.74, n.12, p.3063–3075. 1996.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official Methods of Analysis, 17th ed. AOAC International, Arlington, VA. 2000.

BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; ARAÚJO, C. E.; DEL VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F.; JESUS, E. F.; MINGOTI, R. D.; BENEVENTO, B. C.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: Oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v.219, p.111-121, 2016.

BARLETTA, R.V.; RENNÓ, F.P.; GANDRA, J.R.; FREITAS JÚNIOR, J.É.; VERDURICO, L.C.; MINGOTI, R.D.; VILELA, F.G. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de Zootecnia**, v.61, n.236, p.483-492, 2012.

BARLETTA, R. V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras**. Pirassununga, SP: USP, 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade de São Paulo, 2010.

BENCHAAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; COLOMBATTO, D.; MCALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A. A review of plant-

derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.209-228, 2008.

BETTERO, V. P.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; ARAÚJO, C. E.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; TAKIYA, C. S.; ZANFERARI, F.; PAIVA, P. G.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 30-38, 2017.

BULL, L. S.; RUMPLER, W. V.; SWEENEY, T. F.; ZINN, R. A. Influence of ruminal turnover on site and extent of digestion. **Federation proceedings**, v.38, n.13, p.2713-2719, 1979.

BURGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; CASALI, A.D.P. Comportamento ingestivo de bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 236-242. 2000.

CALOMENI, G. D., BARLETTA, R. V., GARDINAL, R. FREITAS JÚNIOR, J. E., GANDRA, J. R., VERDURICO, L. C., VENDRAMINI, T. H. A., TAKIYA, C. S., BENEVENTO, B. C., RENNÓ, F. P. Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas leiteiras alimentadas com diferentes níveis de grão de soja nas rações. VI Simpósio de Pós-Graduação e Pesquisa em Nutrição e Produção Animal – VNP – FMVZ – USP – 2012.

CHILLIARD, Y.; MARTIN, C.; RUEL, J.; DOREAU, M. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.10, p. 5199-5211, 2009.

CONSOLO, N. R. B. **Utilização do grão de soja cru integral na dieta de bovinos de corte confinados**. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, Pirassununga, 2014.

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition supplemental fat in highenergy rations for lactating cows: effects on intake, digestion. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

CORRÊA, A.M.V. **Utilização de grão de soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal Viçosa. Minas Gerais. Viçosa. 128 f. 2007.

CRAWFORD, G.I.; KEELER, C.D.; WAGNER, J.J.; KREHBIEL, C.R.; ERICKSON, G.E.; CROMBIE, M.B.; NUNNERY, G.A. Effects of calcium magnesium carbonate and roughage level on feedlot performance, ruminal metabolism, and site and extend of digestion in steers fed high-grain diets. **Journal of Animal Science**, v.86, n.11, p.2998-3013, 2008.

DEREZ, F.; FERNANDES, A.M.; MATOS, L.L. Utilização da soja-grão crua na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n.1, p. 113-124, 1996.

DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G.; DUVAUX-PONTER, C.; SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.4, p. 1620-1632, 2009.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. Methods for food analysis - INCT - Animal Science. Suprema, Visconde do Rio Branco, 214. 2012.

DEVENDRA, C.; LEWIS, D. The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep 2. Digestibility studies. **Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 67-76, 1974.

DHIMAN, T.R.; NAM, S.H.; URE, A.L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 45, n. 6, p. 463-482, 2005.

DOREU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**. v. 78, Suppl. 1, S15-S35. 1997

DURAND, M.; KAWASHIMA, R. Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: THIVEND, Y. R. A. P. (Ed.). **Digestive physiology and metabolism in ruminants**. Westport, CN.: AVI Publishing, p. 375-408, 1980.

FACIOLA, A. Omasal and reticular sampling techniques for assessing ruminal digestion, nutrient, and microbial protein flow. In: 4^o International Symposium on Advances on Ruminant Nutrition Research Techniques. Pirassununga, SP, Brazil, 2014.

FELLNER, V.; SAUER, F. D.; KRAMER, J. K. G. Effect of Nigericin, Monensin, and Tetronasin on Biohydrogenation in Continuous Flow-Through Ruminal Fermenters¹. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 5, p. 921-928, 1997.

FERGUSON, J.D.; SKLAN, D.; CHALUPA et al. Effect of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production and reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2864- 2879, 1990.

FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. Wallingford: CAB International, 532p. 1995.

FREITAS JR., J. E. **Utilização de fontes de gordura em rações de vacas leiteiras**. 2008. 93 p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

FREITAS JR., J. E. **Fontes de gordura na dieta de vacas em lactação**. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2012.

FREITAS JUNIOR, J.E.; RENNÓ, F.P.; GANDRA, J.R.; RENNÓ, L.N.; RODRIGUES, G. H.; SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, M. D. S. Nutrients balances and milk fatty acid profile of mid lactation dairy cows supplemented with unsaturated fatty acid. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 2, p. 322-335, 2013.

GANDRA, J.R.; FREITAS, J.E.; BARLETTA, R.V.; MATURANA FILHO, M.; GIMENES, L.U.; VILELA, F.G.; BARUSELLI, P.S; RENNÓ, F.P. Productive performance, nutrient digestion and metabolism of Holstein (*Bos taurus*) and Nellore (*Bostaurus indicus*) cattle and Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*) fed with corn-silage based diets. **Livestock Science**, v. 140, n. 1, p. 283-291, 2011.

GANDRA, J.R.; TAKIYA, C.S.; OLIVEIRA, E.R.D.; PAIVA, P.G.D.; GANDRA, É.R.D.S.; ARAKI, H.M.C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 3, p. 130-137, 2016.

GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effects of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, p. 276-287, 2009a.

GUGLIELMELLI A.; CALABRÒ S.; CUTRIGNELLI M.; GONZALEZ O.; INFASCELLI F.; TUDISCO R.; PICCOLO V. In vitro fermentation and methane production of fava and soy beans. **EAAP Scientific Series**, v. 127, n. 1, p. 457-460, 2010.

HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **Bulletin 339** Gainesville, University of Florida, p.1-25, 2000.

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

HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Considerations for gastrointestinal in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p. 2248-2255, 1997.

HAROLD, F. M. **The vital force**: a study of bioenergetics. New York, NY: W.H. Freeman and Co., 1986.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Ruminal and Total Tract Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n.3, p.1092–1103, 2006.

HRISTOV, A.N. Comparative characterization of reticular and duodenal digesta and possibilities of estimating microbial outflow from the rumen based on reticular sampling in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.85, n.10, p.2606–2613, 2007.

HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J.; MOSLEY, E.E. Board-invented review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v.86, n.2, p. 397-412, 2008.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3851-3863, 1993.

KANEKO. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M. VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LOURENÇO, M.; RAMOS-MORALES, E. WALLACE, R. J. et al, The role microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation, *Animal*, V. 4, P. 1008-1023, 2010.

MAO HL, WANG JK, ZHOU YY, LIU JX. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest Sci*. 2010;129(1):56–62.

MESSANA JD, BERCHIELLI TT, ARCURI PB, REIS RA, CANESIN RC, RIBEIRO AF, FIORENTINI G, FERNANDES JJ. Rumen fermentation and rumen microbes in Nelore steers receiving diets with different lipid contents. **Rev Bras Zootecn**. 2013; 42(3):204–12.

ORSKOV E. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. *Livest Prod Sci*. 1994;39:53–60.

PALMQUIST, D. L. Influence of Source and Amount of Dietary Fat on Digestibility in Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets. II Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

VAN M, PETIT HV, CHIQUETTE J, WRIGHT AD. Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *Brit J Nutr*. 2013;109(7):1211–8.

VARGAS L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N. et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

KANG, S.; WANAPAT, M.; PAKDEE, P.; PILAJUN, R.; CHERDTHONG, A. Effects of energy level and *Leucaena leucocephala* leaf meal as a protein source on rumen fermentation efficiency and digestibility in swamp buffalo. **Animal Feed Science and Technology**, v. 174, n. 3, p. 131-139, 2012.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n.1, p. 3-11, 2010.

KENWARD, M.G.; ROGER, J.H. Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. **Biometrics**, v.53, n.3, p. 983-997, 1997.

KOBAYASHI, Y.; WAKITA, M.; HOSHINO, S. Effects of the ionophore salinomycin on nitrogen and long-chain fatty acid profiles of digesta in the rumen and the duodenum of sheep. **Animal feed science and technology**, v. 36, n. 1-2, p. 67-76, 1992.

KOVACS, P.L.; SUDEKUM, K. H.; STANGASSINGER, M. Effects of intake of a mixed diet and time postfeeding on amount and fiber composition of ruminal and fecal particles and digesta passage from the reticulo-rumen of steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 71, n.3-4, p. 325-340, 1998.

KRIZSAN, S.J.; AHVENJARVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G.A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.3, p.1138-1147, 2010.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poorquality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutricional Research and Review**, v. 3, n. 3, p.277-303, 1990.

MARIZ, L. D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; PEREIRA, O. G.; PEREIRA, L. G. R.; MARCONDES, M. I.; SANTOS, S.A.; VILLADIEGO, F.A.C.; ZANETTI, D.; PRADOS, L.F.; NUNES, A. N. Intake and ruminal digestion determined using omasal and reticular digesta samples in cattle fed diets containing sugar cane in natura or ensiled sugar cane compared with maize silage. **Livestock Science**, v. 155, n. 1, p. 71-76, 2013.

MATHEW, S.; SAGATHEMAN, S.; THOMAS, J.; MATHEN, G. An HPLC method for estimation of volatile fatty acids of ruminal fluid. **Indian journal of animal sciences**, v. 67, n. 9, p. 805-807, 1997.

MIGLIANO, M. E. D. A.; SILANO, C.; MARTINS, C. M. D. M. R.; ARCARI, M. A.; SANTOS, M. V. D. Effect of dietary nitrogen source and crude protein content on nitrogen balance and lactating performance of dairy cows. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 72-87, 2016.

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: **The rumen microbial ecosystem**. Springer Netherlands, p. 523-632. 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids**. Washington: National Academic Press, 384 p. 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: Academic Press, 381 p. 2001.

NAVES, A.B.; BARLETTA, R.V.; GANDRA, J.R.; FREITAS JÚNIOR, J.E.; VERDURICO, L.C.; BENEVENTO, B.C.; MINGOTI, R.D.; RENNÓ, F.P.

Desempenho e perfil plasmático de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja integral ou moído. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, n. 240, p. 579-588, 2013 .

NAVES, A. B. **Utilização de grão de soja integral e processado em rações de vacas em lactação**. Pirassununga, SP: USP, 2010. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, 2010.

NÖRNBERG, J. L.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W.; COSTA, P. B.; SCHAFHÄUSER JUNIOR, J. Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes lipídicas na fase inicial da lactação. **Revista brasileira de zootecnia**. v. 35, n. 4, p. 1431-1438, 2006.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.1, p.184–194, 2003.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. **Metabolismo de Lipídeos**. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de Ruminantes, 2ª edição, Jaboticabal: Funep, cap. 10, p. 299-321. 2011.

PALMQUIST, D. L. Influence of Source and Amount of Dietary Fat on Digestibility in Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. Using rumen inert fats in dairy diets. In: **Proc. Pacific Northwest Nutr. Conf., Spokane, W. A.** p. 71. 1988.

PAUL, S. S; LAL, D. Nutrient requirements of buffaloes. Delhi: Satish Serial, p. 6-7. ISBN 81- 89304-76-3. 2010.

PEREIRA, C.M.A.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, J.M.S.; CECON, P.R. Grão de soja moído na ração de vacas em lactação. 1. Consumo e

digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n.6, p. 1218-1224, 1998.

PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P.P.; FRANCO, S.L.; PRADO, I.N.; JACOBI, G. Effect of propolis and sodium monensin addition on digestibility and ruminal characteristics of buffaloes fed diet based on roughage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 2055-2065, 2010.

REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. Release of fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.341-346, 1994.

ROBINSON, P. H.; ERASMUS, L. J. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, n.3-4, p. 185-198, 2009.

ROTTA, P. P.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; COSTA E SILVA, L. F.; PAULINO, M. F.; MARCONDES, M. I.; LOBO, A. A. G.; VILLADIEGO, F. A. C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. **Journal of animal science**, v. 92, n. 7, p. 2996-3006, 2014.

RUSSELL, J. B.; HOULIHAN, A. J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65-74, 2003.

RUSSELL, J.B.; E WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 1503-1509, 1996.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; SOUZA, M. A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P. V. R.; QUEIROZ, A. C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, n.7, p. 1471–1479, 2010.

SANTINI, F.J.; LU, C.D.; POTCHOIBA, M.J.; FERNANDEZ, J.M.; COLEMAN, S.W. Dietary fiber and milk yield, mastication, digestion, and rate of passage in goats fed alfafa hay. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.1, p.209-219, 1992.

SCHAUFF, D.J. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.7, p.1923-1935, 1992.

SILVA, D. J., & QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). Viçosa, MG: Editora UFV, 235. 2002.

SILVA, M. M. C. **Suplementação de lipídios em dietas para cabras leiteiras**. 2005. 129 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2005.

SISSONS, J.W.; SMITH, R.H. Measurement of flow and sampling of digesta in the preruminant calf. **Journal of Physiology**, v.283, n.1, p.307-317, 1978.

SMITH, W. A. Fats for lactating dairy cows. **South African Journal of Animal Science**, v. 21, n. 1, p. 1-10, 1991.

SOUZA, S. R. M. B. O.; ÍTAVO, L. C. V.; RÍMOLI, J.; ÍTAVO, C. C. B. F.; DIAS, A. M. Comportamento ingestivo diurno de bovinos em confinamento e em pastagens. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, n. 213, p. 67-70, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. User's guide. Cary: SAS Institute. Cary: SAS Institute, 525. 2002.

STERN, M.D.; ILLG, D.J. Empleo de soya integral e la alimentación de ruminantes. **Soya Not**, v.20, n.277, p.14-20, 1991.

SUTHERLAND, T.M. **Particle separation in the forestomachs of sheep**. In: Aspects of digestive physiology in ruminants, Cornell University Prees, p.43-73, 1988.

VAN NEVEL, C.; DEMEYER, D. Lipolysis and biohydrogenation of soyabean oil in the rumen in vitro: inhibition by antimicrobials. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 12, p. 2797-2806, 1996a.

VAN NEVEL C.J.; DEMEYER D.I. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soyabean oil by rumen contents in vitro. **Reproduction Nutrition Développement**, v. 36, n. 1, p. 53-63, 1996c.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., & LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74, 3583–3597. 1991.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2 ed. Cornell University Press, NY, p. 476. 1994.

VARGAS, L. H., LANA, R. D. P., JHAM, G. N., SANTOS, F. L., QUEIROZ, A. C. D., & MANCIO, A. B. Lipids in the ration of dairy cows: ruminal fermentation parameters, milk production and composition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31(1), p. 522-529. 2002.

VENTURELLI, B. C. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação**. 2011. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, Pirassununga, 2011.

WELCH, J. G.; SMITH, A. M. Particle sizes passed from rumen. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 309-312, 1978.

WELD, K. A.; ARMENTANO, L. E. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 1766-1779, 2017.

YIHUA, Y. U.; BINGLIN, H. E. A new low density lipoprotein (LDL) adsorbent. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Immobilization Biotechnology*, v. 25, n. 5, p. 445-450, 1997.

ZAKLOUTA, M.; HILALI, M.; NEFZAOU, A.; HAYLANI, M. **Animal nutrition and product quality laboratory manual**. ICARDA, Aleppo, Syria. 2011. 92p.

ZEOULA, L.M.; PRADO, O.P.P.; GERON, L.J.V.; BELEZE, J.R.F.; AGUIAR, S.C.; MAEDA, E.M. Total digestibility and in situ degradability of bulky diets with the inclusion of ionophores or probiotics for cattle and buffaloes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2063-2076, 2014.

7. Anexo 1



Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais

Av. Ademar de Barros, 500 - Ondina-40170-110 Salvador-BA

Fone: (071) 3283-6704/6708/ - Fax: 3283-6718

E-mail: escmev@ufba.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Metodologias de coleta Reticular e Omasal para Avaliação da Biohidrogenação Ruminal e Fluxo Intestinal de Ácidos Graxos em Búfalos", registrada com o nº 35/2016, sob a responsabilidade de José Esler de Freitas Júnior, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, em reunião de **24.05.2016**

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/08/2016 à 20/11/2016
Espécie/linhagem/raça	Bubalinos de corte
Nº de animais	04
Peso/Idade	360-380 Kg / 20 meses
Sexo	Machos
Origem	Fazenda Experimental da UFBA

Salvador, 24/05/2016.

Claudio de Oliveira Romão
 Prof. Claudio de Oliveira Romão
 Coordenador CEUA/EMEVZ-UFBA

Ana Iris Oliveira de Meneses
 CONFERE COM O ORIGINAL
 Ana Iris Oliveira de Meneses
 Sec. Adm / MEVZ
 Mat. 0283803
 33/11/17,

MEV / UFBA
 Recebido
 Em, 19/05/2016
 Assinatura