



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

**DAYANE DE SOUZA SILVA**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FASES DAS DIGESTAS RETICULAR, OMASAL E  
ABOMASAL DE VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS A DIETAS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Salvador  
2014

**DAYANE DE SOUZA SILVA**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FASES DAS DIGESTAS RETICULAR, OMASAL E  
ABOMASAL DE VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS A DIETAS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do Bacharelado em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior.

Salvador  
Semestre 1/ 2014

**DAYANE DE SOUZA SILVA**

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FASES DAS DIGESTAS RETICULAR, OMASAL E  
ABOMASAL DE VACAS HOLANDEASAS SUBMETIDAS A DIETAS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

**DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE**

Declaro, para todos os fins de direito e que se fizerem necessários, que isento completamente a Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, a coordenação da Disciplina MEVA99 – Trabalho de Conclusão de Curso e os professores indicados para compor o ato de defesa presencial, de toda e qualquer responsabilidade pelo conteúdo e idéias expressas no presente Trabalho de Conclusão de Curso.

Estou ciente que poderei responder sob pena administrativa, civil e criminalmente em caso de plágio comprovado.

Salvador, 03 de Julho de 2014.



---

Dayane de Souza Silva

TERMO DE APROVAÇÃO

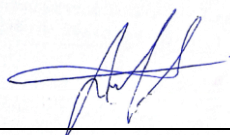
DAYANE DE SOUZA SILVA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FASES DAS DIGESTAS RETICULAR, OMASAL E  
ABOMASAL DE VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS A DIETAS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau Zootecnista, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia.

Aprovado em: 17/ Julho/ 2014

Banca Examinadora:



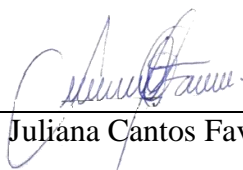
---

Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior - UFBA



---

Prof. Dr. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho - UFBA



---

Profª. Msc. Juliana Cantos Faveri - UFBA

*A Marconi, à qui je réserve amour infini.*

## AGRADECIMENTOS

A EMVZ-UFBA pela oportunidade do curso ZOOTECNIA, e aos Professores: Adriana Jucá, Adriana Palmieri, Analívia Barbosa, André Leão, Carolina Ferreira, Cláudio Ribeiro, Cláudio Romão, Gleidson Carvalho, Guido Castagnino, Gustavo Bittencourt, Gustavo Brandão, José Esler, Juliana Faveri, Kécya Moita, Luis Fernando, Luiz Vitor, Manuela Tosto, Mayara Sabedot, Müller Ribeiro, Ossival Lolato, Robson Oliveira, Thiago Sampaio, Vagner Leite, Vanessa Michalsky e demais colaboradores pelo aprendizado e paciência nestes 4,5 anos da minha formação.

À Eduardo Guimarães pelo incentivo de meus estudos na Zootecnia.

À CAPES, CNPq e UFBA pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao longo do curso.

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite da FMVZ – USP pelo experimento conduzido e ao Prof. Dr. José Esler pela concessão parcial dos dados do presente Trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Esler pela oportunidade de estar caminhando mais depressa que eu esperava no meio científico. Obrigada pela dedicação profissional, pela paciência, pelas longas conversas sobre o meio acadêmico e pela oportunidade concedida (e aproveitada!) de tê-lo como orientador. Lembro do brilho nos olhos de D. Anália e a voz embargada de S. José falando do orgulho de tê-lo como filho e chegar onde chegou por mérito. Obrigada por ser essa fonte inspiradora profissionalmente!

Ao Prof. Dr. Gustavo Bittencourt, por ter me feito sonhar, acreditar e ajudar realizar meu desejo de estudar e ter uma formação no Exterior. *Merci.*

Aos meus pais Vânia e Elias e irmãs Débora e Heloíse e sobrinha Mariana, pelo apoio e companheirismo. Obrigada Mãe pelas longas conversas de partilha ao telefone, obrigada Pai pelas conversas descontraídas e engraçadas; obrigada Débora pelas confidências. Vocês são meu porto seguro, amo vocês de todo coração.

Ao *'mon amour infini'* Marconi Félix pelos 3 C's: Confiança, Companheirismo e Cumplicidade. Obrigada pelo apoio, pela compreensão nos meus momentos de estudo, pelas

longas conversas sobre a vida, sobre o futuro e também pelas conversas banais. Obrigada pelo carinho, amor e cuidado que tens comigo. Obrigada por estar ao meu lado nesta conquista: Ser Zootecnista!

Aos meus colegas de jornada: Silvania, Matheus, Marcos Vinícius, Marcos Fiuza, Júnior, Jordânio e Larissa pela amizade de sempre. Marida (Sylvania), lembro que um dia você me escreveu dizendo que Belo = companheira e Dourado = permanente, que você sempre possa ser essa pessoa na minha vida. Matheus, mesmo em ambas ausências, jamais um esquece a importância que a amizade representa um para o outro. Aos 'novos' colegas: Antônio, Bella, Jamile Boa, Paula e Victor. Jamile e Jordânio, obrigada pelas horas de descontração. Paula, obrigada por ser solícita com tudo, pela ajuda até aqui, pela amizade.

À Liliana Bury, pela amizade sincera. Quantas noite em claro, estudando! Obrigada pelo amparo de sempre!

À Paula, Lais, Maria e Liliane Silva pelo apoio e auxílio na escrita científica desse trabalho.

À Banca Examinadora: Prof. José Esler, Prof. Gleidson e Prof<sup>a</sup>. Juliana.

*“Para chegar onde a maioria não chega,  
É preciso fazer algo que a maioria não faz.”*

*Autor desconhecido*



DE SOUZA SILVA, DAYANE. **COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FASES DAS DIGESTAS RETICULAR, OMASAL E ABOMASAL DE VACAS HOLANDESAS SUBMETIDAS A DIETAS COM DIFERENTES FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS.** Salvador, Bahia, 2014. 37 p. Trabalho de Conclusão de Curso do Curso de Zootecnia – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2014.

## RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a composição química das digestas reticular, omasal e abomasal de vacas holandesas submetidas a dietas com diferentes fontes de ácidos graxos. Foram utilizadas quatro vacas Holandesas ( $600 \pm 30$  kg), multíparas, não-lactantes canuladas no rúmen e abomaso, distribuídas em um quadrado latino 4 x 4, alimentadas com as seguintes dietas: 1) Controle (CT), composto por uma dieta basal com farelo de soja e milho; 2) Óleo de soja (OS), baseada na inclusão de 3% de óleo de soja refinado na MS; 3) Grão de soja (GS), baseada na inclusão de 16% grão de soja integral na MS e; 4) Sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG), baseada na inclusão de 3% de MEGALAC-E na MS. Não houve efeito das fontes de ácidos graxos sobre os teores de MS e FDN nas diferentes fases (fase de grandes partículas - FGP, fase de pequenas partículas - FPP e fase líquida - FL), das amostras coletadas no abomaso. O digesta do abomaso apresentou maior concentração de MS nas fases de FGP e FPP em relação àquelas do retículo e do omaso. As concentrações de FDN na FGP foi menor para o abomaso em relação aos demais compartimentos, e menor no retículo na FPP em relação àquelas do omaso e do abomaso. Fontes de ácidos graxos utilizados nas dietas alteram os teores de matéria orgânica (%MS) no abomaso na fase de pequenas e grandes partículas e os teores de fibra em detergente neutro (%MS) na fase de pequenas partículas nos sítios de amostragem (retículo, omaso e abomaso).

Palavras chave: vacas holandesas, fases da digesta, ácidos graxos, partículas

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais.....	26
Tabela 2 - Porcentagem de inclusão dos ingredientes e químico-bromatológica das dietas experimentais.....	27
Tabela 3 - Efeito de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta sobre a composição das fases da digesta do abomaso de vacas holandesas.....	30
Tabela 4 - Efeito do sítio de amostragem de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta sobre a composição das fases da digesta de vacas holandesas.....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	ÁCIDOS GRAXOS
AGNES	ÁCIDOS GRAXOS NÃO-ESTERIFICADOS
AGPI	ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
AGV	ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS
CLA	ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO
CMS	CONSUMO DE MATÉRIA SECA
CNF	CARBOIDRATOS NÃO-FIBROSOS
CV	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
EE	EXTRATO ETÉREO
FDN	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO
FDNi	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO INDIGESTÍVEL
FGP	FASE DE GRANDES PARTÍCULAS
FL	FASE LÍQUIDA
FPP	FASE DE PEQUENAS PARTÍCULAS
GSI	GRÃO DE SOJA INTEGRAL
KG	QUILO
MM	MATÉRIA MINERAL
MO	MATÉRIA ORGÂNICA
MS	MATÉRIA SECA
ORO	ORIFÍCIO RETÍCULO-OMASAL
PB	PROTEÍNA BRUTA
PNDR	PROTEÍNA NÃO-DEGRADÁVEL NO RÚMEN
SCAG	SAIS DE CÁLCIO DE ÁCIDOS GRAXOS
TGI	TRATO GASTROINTESTINAL

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	13
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	Uso de ácidos graxos na dieta de ruminantes.....	14
2.2	Metabolismo de ácidos graxos no rúmen.....	15
2.3	Fontes de ácidos graxos na dieta e seus efeitos em ruminantes.....	16
2.3.1	Óleo de soja na dieta de ruminantes .....	18
2.3.2	Grão de soja na dieta de ruminantes .....	19
2.3.3	Sais de cálcio de ácidos graxos na dieta de ruminantes.....	20
2.4	Caracterização da digesta.....	21
2.4.1	Digesta reticular.....	22
2.4.2	Digesta omasal.....	22
2.4.3	Digesta abomasal .....	23
2.5	Uso de marcadores para determinação das fases da digesta em ruminantes.....	24
3.	OBJETIVOS .....	25
4.	MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4.1	Local, instalações, animais e delineamento experimental.....	25
4.2	Dietas experimentais .....	25
4.3	Análise dos alimentos.....	26
4.4	Coletas reticular, omasal e abomasal .....	28
4.5	Análises estatísticas.....	28

5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6.	CONCLUSÕES .....	32
7.	REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

Na pecuária nacional, a incorporação de alimentos alternativos na dieta de ruminantes que promovam maior eficiência produtiva e reduzam os custos de produção, seja em sistemas de produção de carne ou leite são cada vez mais utilizados em fazendas comerciais, principalmente suplementos que aumentem o aporte de energia (HUANG et al., 2008; BARLETTA, 2010). O uso de fontes de ácidos graxos na dieta de ruminantes tem sido uma prática comum entre pecuaristas, devido:

- ✓ Ao nível econômico: pela redução dos custos da suplementação dietética;
- ✓ Ao nível de benefício sobre o animal: pela redução do incremento calórico e aumento da densidade energética da dieta e;
- ✓ Ao nível da saúde humana: pelo incremento de ácidos graxos insaturados na dieta, incorporando um perfil desejado de lipídeos nos produtos de origem animal.

Neste contexto, pesquisadores têm explorados diversos tipos de suplementos lipídicos (DERESZ et al., 1996; SCHAUFF e CLARK, 1992; VARGAS et al., 2002; ONETTI e GRUMMER; 2004; HUANG et al., 2008; SANTOS et al., 2009; BARLETA, 2010; FREITAS JUNIOR, 2012), testando seus efeitos em ruminantes, principalmente em vacas lactantes. Os ácidos graxos tem sido usados para aumentar a densidade energética das dietas de vacas lactantes e com isso minimizar os efeitos do balanço energético negativo durante o período de transição, visto que os animais nesta fase reduz o consumo de matéria seca (CMS) e não ingerem quantidade de energia suficiente para suprir suas exigências nutricionais (NRC, 2001).

Contudo, a descoberta de compostos anticarcinogênicos, o ácido linoléico conjugado, denominado CLA, causou mudanças na indústria leiteira, onde consumidores se tornaram mais exigentes no quesito qualidade do produto adquirido. Desde então, pesquisas vêm sendo realizadas não somente à nível de campo, mas o seu impacto até o final, ou seja, até o consumidor, formando a tríade pesquisador-produtor-consumidor (GRIINARI et al., 2000; FUNCK et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2012; LADEIRA et al., 2013).

Os processos de digestão de ácidos graxos em ruminantes têm sido objeto de estudo de diversos autores (JENKINS, 1993; DOREAU e PALMQUIST, 1997; JENKINS, 2007;

PALMQUIST, 2007; DOREAU, 2011), entretanto, a estimativa de fluxo de nutrientes são exploradas através de métodos de coletas pós-ruminais, mensurados por meio de fístulas implantadas por cirurgias no trato gastrointestinal (PUNIA et al., 1988; HUHTANEN et al., 1997; AHVENJÄRVI et al., 2000; KRISAN et al., 2010; FREITAS JUNIOR, 2012). Neste contexto, é viável que pesquisadores (HUHTANEN et al., 1997; AHVENJÄRVI et al., 2000) desenvolvam novas técnicas (ou aperfeiçoem as existentes) como estudos sobre as diferenças entre as coletas no trato gastrointestinal de ruminantes, podendo reconstituir a digesta verdadeira de um animal através de amostragens. Apesar disso, ainda existem implicações como falta de equipamentos modernos e mão de obra experiente.

Neste contexto, objetivou-se com este estudo avaliar a influência de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta sobre a composição das digestas reticular, omasal e abomasal.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Uso de ácidos graxos na dieta de ruminantes**

Os lipídeos são substâncias apolares compostas por carbono, hidrogênio e oxigênio e caracterizados por serem solúveis em solventes. Seu uso na dieta de ruminantes podem promover o aumento da capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis, além de fornecer ácidos graxos essenciais para a formação das membranas, com papel importante na regulação metabólica, aumento da ingestão de energia, menor incremento calórico e incorporam gordura nos produtos de origem animal, em especial, no leite (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

Entretanto, em revisão sobre o uso de lipídeos na dieta de ruminantes, PALMQUIST e JENKINS (1980), citam que seu uso é em até 5% na dieta total, devido às consequências:

- lipídeos provocam uma barreira física na fibra impedindo o ataque dos microrganismos;
- os lipídeos têm efeito tóxico em certos microrganismos, podendo causar uma modificação na população de microrganismos no rúmen;
- os lipídeos causam inibição da atividade microbiana pela interferência na permeabilidade na membrana celular de bactérias gram positivas e;

- redução da disponibilidade de cátions para a formação de complexos insolúveis pelos ácidos graxos de cadeia longa, efeito este afetando o pH ruminal e/ou equilíbrio osmótico dos microrganismos.

PALMQUIST e MATTOS (2006) descrevem que o uso de lipídeos na dieta é eficaz como fonte energética, entretanto, mais estudos deveriam ser realizados para compreenderem as interações de lipídeos com a fibra, cátions e microrganismos do rúmen.

O uso de ácidos graxos como suplemento ocorre na sua grande maioria com animais em lactação. PALMQUIST e MATTOS (2006) relatam os fatores que contribuem para tal técnica: existem uma grande disponibilidade comercial de ácidos graxos de boa qualidade; aumento da eficiência de uso da energia bruta (aumento da ingestão de energia líquida quando a ingestão de MS é reduzida); aumento parcial da eficiência de produção de leite pela incorporação direta de ácidos graxos da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis por lipídeos possibilitando otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal (partição de nutrientes para secreção do leite); aumento da flexibilidade para o preparo da ração; lipídeos são utilizados para modificar a composição de gordura do leite (ou do tecido).

No aspecto prático, produtores de bovinos leiteiros têm explorado essa alternativa energética, pelo baixo custo da ração pela adição de óleo vegetal e/ou sementes oleaginosas na dieta de vacas no período de transição pré e pós-parto, momento em que o CMS é reduzido e a necessidade energética aumenta, acarretando em balanço energético negativo, conseqüentemente na redução da produção de leite e queda no desempenho reprodutivo pós-parto (HAVERTINE e ALLEN, 2006).

Além dessa estratégia, seu uso tem como principal propósito gerar mudanças químicas, físicas e sensoriais em alimentos para trazer benéficos à saúde humana, como os compostos anticarcinogênicos, denominados CLA. O desenvolvimento de alimentos funcionais e produtos nutracêuticos tem sido cada vez mais estudados e voltados diretamente aos consumidores, que são cada vez mais exigentes no quesito segurança e qualidade alimentar (FERNANDES, 2007).

## **2.2 Metabolismo de ácidos graxos no rúmen**

No rúmen, ocorre algumas modificações dos lipídeos da dieta, alterando a composição e perfil dos AG's que chegam ao duodeno, decorrentes principalmente pela lipólise e



biohidrogenação. A lipólise, iniciada no rúmen, consiste na hidrólise do lipídeo pela lipase microbiana convertendo-o em ácidos graxos livres (saturados e insaturados), glicerol e galactose. Sua taxa catabólica é influenciada pelo nível de gordura na dieta, pH ruminal, utilização de ionóforos, modulando a população bacteriana (DOREAU e CHILLIARD, 1997). Já a biohidrogenação, consiste na adição de hidrogênio nas duplas ligações dos ácidos graxos não esterificados (AGNES) pelos microrganismos ruminais, aumentando o grau de saturação e convertendo os ácidos linoléico e linolênico em esteárico, evitando assim a toxidez (JENKINS, 1993). Já a galactose e glicerol são convertidos a ácidos graxos voláteis (AGV) (OLVEIRA et al. 2004).

O tipo de biohidrogenação é ocorrido de acordo com o ácido graxo livre, onde o grupo bacteriano A, converte o ácido linoléico (18:2 n-6) e linolênico (18:3 n-3) a ácido vacênico (18:1, *trans*-11), e o grupo bacteriano B convertem uma grande extensão de *cis* e *trans* do ácido oléico (18:1 n-9) a ácido esteárico (18:0) (DEMEYER e DOREAU, 1999). Nesse meio termo da biohidrogenação, redutases e isomerasas produzem vários intermediários antes de chegar ao ácido graxo saturado (18:0), denominados compostos CLA (ácido linoléico conjugado), que são isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (18:2 n-6), *cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis* e *trans-trans* e isomeria com as duplas ligações nas posições 9 e 11, 10 e 12 ou 11 e 13 (BESSA et al.; 2000). A bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrosolvens* é responsável pela primeira conversão do ácido linoléico (18:2 n-6) à CLA, através da enzima ácido linoléico isomerase. Outra via ocorre através da enzima delta-9-dessaturase (GRIINARI et al; 2000).

Um dos fatores a considerar a intensidade da biohidrogenação, é a fonte e quantidade destes ácidos graxos na dieta, podendo chegar até 90%, apenas escapando da ação microbiana, os ácidos graxos complexados (JENKINS et al., 2007). Ou ainda, baixo fornecimento de fibra na dieta, influencia na queda do pH do rúmen, afetando a biohidrogenação, resultando em maior fluxo de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) no duodeno (VAN NEVEL e DEMEYER, 1996). Assim, ao usar fontes lipídicas na dieta de ruminantes, é necessário avaliar os tipos de AG presentes na dieta.

### **2.3 Fontes de ácidos graxos na dieta e seus efeitos em ruminantes**

Os ácidos graxos na dieta de ruminantes se apresentam na forma esterificada como galactoglicerídeos em forragens e na forma de triglicerídeos em alimentos concentrados. Na

ração, os teores de ácidos graxos são relativamente baixos, enquanto que nas sementes oleaginosas variam de 18% a 40% na dieta. O ácido graxo insaturado comumente encontrado nas sementes oleaginosas e cereais é o ácido linoléico (18:2 n-6), abundantemente no grão de soja e no caroço de algodão, enquanto que o ácido oléico (18:1 n-9) é predominante na semente de colza, utilizado para a produção de óleo de canola. Em forragens, o ácido graxo mais comum é o ácido linolênico (18:3 n-3) e os produtos marinhos (óleo de peixe, algas, etc.) são ricos nos ácidos graxos eicosapentóicos (EPA, 20:5 n-3) e decosapentanóico (DHA, 22:6 n-3) (PALMQUIST e JENKINS, 1980; PALMQUIST e MATTOS, 2006).

Ao longo dos anos, diversos pesquisadores (DERESZ et al., 1996; SCHAUFF e CLARK, 1992; VARGAS et al., 2002; ONETTI e GRUMMER, 2004; HUANG et al., 2008; SANTOS et al., 2009; BARLETA, 2010; FREITAS JUNIOR, 2012) realizaram estudos tendo como premissas, as bases concedidas por PALMQUIST e JENKINS (1980) e foram além, desenvolvendo estudos com suplementação lipídicas de diversos alimentos avaliando e controlando seus efeitos na fermentação ruminal, o impacto da digestão e o fluxo de ácidos graxos insaturados no intestino delgado com o intuito de reduzir o nível de gordura saturada em produtos de origem animal. Os aspectos importantes na suplementação lipídica consistem no tipo e composição do ácido graxo fornecido, grau de proteção, digestibilidade, transporte dos AG adsorvidos e metabolismo da glândula mamária (CHILLIARD et al., 2007).

Um dos processos fermentativos que a adição de ácidos graxos insaturados na dieta podem causar é o aumento do proprionato, havendo um decréscimo na relação acetato: proprionato e na redução da produção de metano. CHALUPA et al. (1986) observaram que dietas contendo AGPI, ocorreram inibição das bactérias gram-positivas, produtoras de metano e estimularam as produtoras de proprionato, aumentando a retenção de energia pelo animal.

De acordo com ALLEN (2000), a variação das fontes de ácidos graxos e o seu nível de inclusão na dieta, afetam o consumo pelo aumento da energia fornecida pelo lipídeo, promovendo 2,25 vezes mais energia do que carboidratos e proteínas. Quanto maior o grau de insaturação de ácidos graxos na dieta, maior sua digestibilidade, porém, quando há alterações na fermentação ruminal devido à suplementação lipídica, ocorre redução no consumo de MS, redução de gordura no leite e baixa digestibilidade da fibra (NRC, 2001).

Todavia, ALLEN (2000) refere que os mecanismos que afetam o consumo não estão inteiramente esclarecidos, porém existem evidências de que os principais motivos dados pela

redução do consumo de matéria seca (CMS), são devidos aos processos fermentativos, motilidade intestinal, aceitabilidade da fonte lipídica na dieta, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes oxidar os ácidos graxos.

É importante salientar, que o uso de fontes lipídicas na dieta e o efeito gerado nos animais (positivo ou negativo), está associado ao tipo e composição de volumoso que compõe a dieta total, adaptação do animal à dieta, fonte e nível de ácidos graxos e o estágio de lactação o qual o animal se encontra (STAPLES et al., 2001; ONETTI e GRUMMER, 2004).

### **2.3.1 Óleo de soja na dieta de ruminantes**

Espécies de vegetais oleaginosas, passíveis de extração de óleos, são largamente utilizados na alimentação animal. O óleo de soja é comumente utilizado na dieta de vacas lactantes pela disponibilidade no mercado e seu baixo custo, do ponto de vista econômico (HUANG et al.; 2008), além da alta concentração de AGPI, que podem chegar em média 75%.

PALMQUIST e MATTOS (2006) relatam que o uso de óleos vegetais na dieta, devido ao alto teor de AGPI, reduzem a concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal, aumento da eficiência da síntese microbiana, aumento de ácido linoléico conjugado (CLA) e redução da produção de metano. Em contrapartida, VARGAS et al. (2002) estudando seu efeito em vacas leiteiras, na dieta com 7% de suplementação lipídica não-protégida (grão de soja moído e óleo de soja) observaram redução na digestibilidade da matéria seca, devido à inibição do crescimento microbiano, alterando a degradação da fibra, reduzindo a taxa de passagem da digesta no trato gastrointestinal (TGI), decréscimo na relação acetato:propionato; porém a produção de leite e o teor de sólidos totais não foram afetados.

Os efeitos que a suplementação através de AGPI não-protégidos podem acarretar na fermentação ruminal é explanada por KOZLOSKI (2011) em que: altos teores de AGPI recobrem as partículas do alimento e/ou células bacterianas pelo sua propriedade adsortiva, impedindo a ação da digestibilidade da fibra e; efeito tóxico direto aos microrganismos alterando a permeabilidade e fluidez da membrana bacteriana. Seu excesso por provocar decréscimo na produção e gordura do leite.

SANTOS et al. (2009) avaliaram a inclusão de 3% de óleo de soja na dieta total (5,5% EE) em vacas no período de transição e observaram que o consumo, a produção e composição

do leite não foram afetados, mas houve aumento da ingestão de energia e melhora no balanço de nutrientes no início da lactação.

Contudo, os efeitos dos AGPI são variáveis de acordo com a dieta basal, confirmado por UEDA et al. (2003), em que o uso de óleos na dieta reduzem a digestibilidade aparente total de carboidratos quando se fornece silagem de milho em relação ao feno. A hipótese é que o efeito negativo dos AGPI seria minimizado quando utilizado maior proporção de forragem, promovendo a função ruminal normal para máxima biohidrogenação (PALMQUIST, 1988). Assim, maiores inclusões de óleo de soja na dieta com maior proporção de forragem, acarretam melhor digestibilidade aparente total (BATEMAN e JENKINS, 1998).

### **2.3.2 Grão de soja na dieta de ruminantes**

O grão de soja integral (GSI), por ser considerado uma fonte de gordura protegida naturalmente, possui lenta liberação de ácidos graxos durante a fermentação ruminal, permitindo portanto, a biohidrogenação quase completa à medida que o grão é triturado pela mastigação/ruminação. Porém, se ela tem escape deste processo mecânico de trituração, sua ação é pouca sobre os microrganismos ruminais, impedindo possível perda da digestibilidade da fibra (FREITAS JUNIOR, 2012).

Essa vantagem do GSI é dada porque em sementes oleaginosas, a maioria dos lipídeos se encontram protegidos em uma matriz protéica, necessitando que haja degradação da parede celular para que a hidrólise ocorra (SILVA, 2005). Outra vantagem é que o grão de soja possui 10% mais energia líquida por Kg de MS que o farelo de soja (NRC, 2001).

Além do fornecimento de energia através de ácidos graxos, o GSI possui alta quantidade de proteína não-degradável no rúmen (PNDR), tornando assim um alimento energético e protéico na alimentação de ruminantes, com teores de 19,2% de EE e 39,2% de PB na MS (NRC, 2001).

Existem na literatura diversas recomendações: PALMQUIST e MATTOS (2006) recomendam que a inclusão na dieta pode ser de até 15% na dieta total (MS), sem causar efeitos deletérios. VARGAS et al. (2002), trabalhando com 7% de EE na dieta (grão de soja moído), concluíram que houve decréscimo de 20% no consumo de MS e aumento do pH, possivelmente devido à menor fermentação ruminal pela queda do consumo da MS, o que proporcionou menor acúmulo de AGV's, principal fator da redução do pH. Entretanto, estes autores não observaram efeito sobre a produção e composição do leite.

DERESZ et al. (1996), estudaram os efeitos do grão de soja na dieta de vacas leiteiras e concluíam que 5,1 Kg de GSI ofertados em três vezes ao dia/vaca não afeta o consumo de MS nem a produção e composição do leite .

SILVA et al (2007) compararam o efeito do grão de soja com outras fontes lipídicas (óleo de soja e sais de cálcio de ácidos graxos) na dieta de cabras leiteiras e concluíram que a utilização do grão de soja como suplemento lipídico contribui para o aumento no tempo de retenção das partículas sólidas no trato gastrintestinal. É possível que esse resultado foi devido ao alto teor de FDN do GSI, cerca de 18% segundo NRC (2001), em relação às outras fontes lipídicas estudadas.

É importante salientar que mesmo em alguns estudos, o CMS não terem reduzido, é viável que os animais tenham um período de adaptação à dieta para maior aceitabilidade do grão de soja como fonte energética-protéica (STAPLES et al., 2001).

### **2.3.3 Sais de cálcio de ácidos graxos na dieta de ruminantes**

Suplementos lipídicos denominados gorduras inertes têm sido desenvolvidos com o intuito de aumentar a concentração energética das dietas com mínima interferência na fermentação ruminal. Os métodos de proteção de gordura incluem na encapsulação dos lipídeos e a produção de sabões de cálcio. Os sabões de cálcio são degradados no rúmen em pequena proporção e, após hidrólise no abomaso, seus ácidos graxos podem ser absorvidos, reduzindo os efeitos negativos sobre a fermentação ruminal (GONZALEZ et al.; 1998).

Quando a fonte lipídica na dieta não se encontra protegida, a biohidrogenação pode ser acima de 90%. Na utilização de sais de cálcio de ácidos graxos insaturados, a taxa de biohidrogenação varia de 30% a 40% (ALLEN, 2000; NRC, 2001; CHILLIARD et al., 2007).

De forma geral, as gorduras protegidas, como os sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG) e as gorduras saturadas, podem ou não aumentar o teor de gordura do leite (SUTTON, 1989). A medida que a quantidade de AGPI aumentam, maior é a probabilidade de diminuir a porcentagem de gordura do leite, caso exista biohidrogenação parcial da gordura, impactando em altos teores de ácidos graxos saturados e reduzindo a disponibilidade no duodeno (SILVA et al., 2007).

SCHAUFF e CLARK (1992) avaliaram a inclusão de 0, 3, 6 e 9% (MS) de sais de cálcio de ácidos graxos na dieta de vacas no início da lactação, tendo como volumoso silagem de milho e feno de alfafa triturado e observaram que não houve efeito na digestibilidade da MS,

na ingestão de energia líquida e fermentação ruminal, entretanto, houve decréscimo na produção de leite e sólidos totais quando houve a inclusão de 9% de SCAG. Concluindo que a inclusão de até 6% de SCAG na dieta total, não causa efeito deletério em vacas em lactação.

Em revisão de literatura com vacas suplementadas sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma, ONETTI e GRUMMER (2004) observaram redução no consumo matéria seca de 0,97 kg/dia e aumento da produção de leite em 1,29 kg/dia. Assim, assume-se a hipótese de que o consumo de energia líquida não é afetado pela redução do CMS.

A redução no CMS é explicada por JENKINS (1993), que normalmente o consumo de energia líquida não é reduzido, ou seja, o aumento na densidade energética das rações compensaria a redução no consumo, não afetando a produção de leite (FREITAS JUNIOR, 2012).

Vilela et al. (2002), avaliaram o efeito da suplementação de gordura protegida de vacas à pasto no início de lactação e observaram que houve aumento da produção de leite total de 547 Kg a mais que o grupo controle, entretanto, a produção de sólidos não foi alterada. Esses autores também observaram a persistência da lactação das vacas suplementadas no início da lactação em relação ao grupo controle. Enfim, eles reportam que essa prática ainda não é economicamente viável.

Com tantas fontes de SCAG disponíveis no mercado, vale salientar que a suplementação na dieta, os resultados podem variar de acordo com a dieta basal e volumoso a serem ofertados (STAPLES et al., 2001).

## **2.4 Caracterização da digesta**

No ruminante, o trato gastrointestinal (TGI) consiste na sucessão de vários compartimentos (rúmen, retículo, omaso, abomaso, duodeno, jejuno, íleo, ceco e cólon). A digesta no TGI consiste em partículas, incluindo microrganismos e água, nos quais estão dissolvidos materiais orgânicos e inorgânicos oriundos da dieta, além de secreções endógenas (DIJKSTRA et al., 2005). A relativa proporção da digesta nos componentes são diferentes e apresentam características distintas de acordo com o compartimento estudado.

O intuito de se estudar a característica da digesta é compreender os mecanismos sucessivos da digestão nos compartimentos. Para isso, existem diversas técnicas descritas a seguir.

### **2.4.1 Digesta reticular**

A digesta reticular é caracterizada por efluentes ruminais, sendo composta por pequenas partículas que podem ser prontamente transferidas para o omaso (DARDILLAT e BAUMONT, 1992) e grandes partículas, que podem ser retidas devido aos mecanismos responsáveis pela passagem seletiva. KING e MOORE (1957) relataram que a alta densidade de pequenas partículas é responsável pelo seu acúmulo na parte ventral do retículo e portanto seu escape pelo orifício reticulo omasal (ORO). Entretanto, o trânsito das grandes partículas podem variar em função das diferentes dietas ou estágios da digestão (DARDILLAT e BAUMONT, 1988).

Para analisar de forma mais precisa o processo de digestão e o comportamento dos diferentes tamanhos de partículas nos compartimentos digestivos, KRIZSAN et al. (2010), propuseram uma técnica para coleta e amostragem reticular que consiste em introduzir através da fístula ruminal, um recipiente fechado até o retículo, com a possibilidade de abrir e após seu enchimento, tampá-lo para que não houvesse contaminação da digesta ruminal. HUHTANEN et al. (1997) e AHVENJÄRVI et al. (2000) utilizaram a técnica da utilização de uma mangueira via fístula ruminal e o conteúdo reticular aspirado por um aparelho à vácuo.

A coleta reticular pode ser bem promissora quando comparada com coleta omasal/duodenal, mas ainda existem limitações para essa técnica como a amostragem não representativa do retículo, devido ao fluxo que segue do rúmen e a falta de estudos atuais (FACIOLA, 2014).

### **2.4.2 Digesta omasal**

A digesta omasal é caracterizada por apresentar baixa quantidade de líquidos, e devido às suas características anatômicas, com disposição do epitélio em folhas (BERCHIELLI et al., 2006), tem a capacidade de absorção de líquidos juntamente com alguns sais minerais e ácidos graxos voláteis, e por isso, é considerado um compartimento com pouca motilidade (DIJKSTRA et al., 2005). A digesta passa do retículo para o omaso através do orifício retículo-omasal (ORO) dado pela percepção do alimento, dilatando o retículo, exercendo uma pressão positiva entre estes compartimentos e empurrando a digesta para o omaso (FRADSON et al., 2003).

Segundo REID (1984) e WAGHORN et al. (1986), durante a abertura do ORO, as partículas que estão na parte ventral do retículo, tem maior possibilidade de escape para o

omaso. SUTHERLAND (1988) cita que, nesta região há uma maior concentração de pequenas partículas de maior densidade, o que justifica o fluxo preferencial dessas partículas para o omaso.

Por muitos anos, diversos pesquisadores tem estudado o fluxo da digesta de ruminantes. Técnicas, como fístulas abomasal e/ou duodenal foram utilizadas, entretanto, de acordo com HUHTANEN et al. (1997), as maiores dificuldades observadas com o uso destas técnicas foram: alterações ocorridas nas amostras pela presença das secreções abomasais que podem influenciar na qualidade da digesta coletada a ser analisada; animais com fístulas ruminais são menos laborosas que animais fistulados no abomaso/duodeno e; cânulas no abomaso/duodeno requerem maiores cuidados de manutenção.

PUNIA et al. (1988), desenvolveram uma técnica utilizando uma mangueira inserida via cânula ruminal, passando pelo orifício retículo-omasal e a digesta sendo aspirada à vácuo, a cada coleta. Entretanto, HUHTANEN et al. (1997) desenvolveram uma técnica em que um dispositivo era inserido via fístula ruminal e então um tubo acoplado e a digesta retirada através de um aparelho de vácuo, metodologia esta modificada por AHVENJÄRJI et al. (2000), pela utilização de um tubo em maior diâmetro e uma válvula de três vias para controlar a pressão alternadamente do vácuo no omaso.

Por fim, FACIOLA (2014) conclui que coletas omasais possuem limitações da técnica devido à necessidade de equipamentos modernos, falta de mão de obra experiente, tamanho de animais e comportamento afetando a homogeneidade das amostras. Entretanto, ainda se mostra uma técnica promissora devido a ser um tipo de coleta menos invasiva que coletas abomasais/duodenais.

### **2.4.3 Digesta abomasal**

A digesta abomasal é caracterizada pela fase líquida provinda da pouca motilidade do omaso, pela fase sólida que foi selecionada através das folhas e parte da digesta que teve escape através da movimentação desse órgão (FRANDSON et al.; 2003).

Em revisão descrita por HARMON e RICHARDS (1997), a cirurgia abomasal, pode ser muito invasiva e as dificuldades da manter as fístulas, fez com que houvesse diminuição da utilização de animais fistulados no abomaso, gerando um desafio de seguir adiante com esta técnica. Outro porém, foi a manutenção do material da fístula abomasal devido ao pH ácido



do abomaso e a retenção da fístula ainda era impedida pelas dobras dos tecidos e a motilidade, fazendo com que ao decorrer do tempo, houvesse prolapso da fístula.

Com as limitações cirúrgicas, o uso de poucos animais experimentais tornou-se propenso a erros amostrais no abomaso em função do tipo de dieta experimental ou ainda pela contaminação da digesta com as secreções abomasais (IPHARRAGUERRE et al., 2006).

Entre outros, com as dificuldades nas coletas da amostragem homogênea, essa técnica resultou no seu pouco uso para avaliar o processo de digestão de ruminantes (VALADARES FILHO et al., 2011).

## **2.5 Uso de marcadores para determinação das fases da digesta em ruminantes**

Segundo BERCHIELLI et al. (2006), os marcadores são substâncias indigestíveis, de fácil determinação, podendo ser ministrados diretamente na dieta (marcadores internos) ou incubados via fístula ruminal (marcadores externos).

Os indicadores em estudos de nutrição são comumente utilizados para determinação da estimativa da produção fecal, fluxo da digesta e cinética ruminal. FRANCE e SIDDON (1986), pioneiramente apresentaram o método de duplo ou triplo marcadores para reconstituição da digesta. Todavia, o uso de um ou dois marcadores não são representativos para realização da reconstituição da digesta verdadeira através de amostras spot (HUHTANEN et al.; 1997; AHVENJÄRVI et al.; 2000).

O emprego do acetato de itérbio para caracterizar pequenas partículas da digesta; cromo e FDNi para caracterizar grandes partículas da digesta e o complexo LiCoEDTA para caracterizar a fase líquida da digesta foi proposto por AHVENJÄRVI et al. (2003), que observaram que o conjunto desses marcadores podiam reconstituir a digesta com maior acurácia em vacas leiteiras. IPHARRAGUERRE et al. (2006), usaram para comparar o fluxo da digesta em dois sítios de amostragem (omaso e duodeno) em vacas leiteiras, o sistema de três marcadores proposto por FRANCE e SIDDON (1986): FDNi, Yb-acetato e CoEDTA associados a grandes partículas, pequenas partículas e fase líquida da digesta, respectivamente. KRIZSAN et al. (2010), também trabalharam com metodologia semelhante a IPHARRAGUERRE et al. (2006) em vacas leiteiras avaliando a digesta reticular e omasal e comparando estes sítios de amostragem com as dietas (tipos de silagem de gramíneas com diferentes teores de FDN) e concluíram que o método de três marcadores utilizado para

reconstituição da digesta reticular é promissor, pela menor interferência no animal além de ser menos laborosa e necessitar de material de coleta.

### **3. OBJETIVOS**

Objetivou-se no presente estudo avaliar a influência de dietas para vacas holandesas contendo ácidos graxos sobre a composição da digesta abomasal e sobre os sítios de amostragem (retículo, omaso e abomaso) nas fases de grandes partículas (>1 mm), pequenas partículas (<1 mm) e fase líquida.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Local, instalações, animais e delineamento experimental**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (LPBL) do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), situado no campus Administrativo de Pirassununga, no período de junho a agosto de 2012.

Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, com peso vivo de  $600 \pm 30$  Kg , múltíparas, não-lactantes, com características semelhantes entre si (produção de leite da última lactação, peso corporal, ordem de partos e escore de condição corporal) canuladas no rúmen e no abomaso (CROCKER et al., 1998; ROBINSON et al., 1985). As vacas foram alojadas em baias individuais do tipo “free-stall” providas de comedouros e bebedouros. Após o trato da manhã as vacas permaneciam aproximadamente uma hora em um curral de descanso para que fossem avaliadas as ocorrências de cios permitindo concomitantemente que elas se exercitassem.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um quadrado latinos 4x4, constituído por quatro períodos, sendo 12 dias para adaptação e 10 dias para avaliar as variáveis mensuradas, perfazendo um total de 22 dias por período.

#### **4.2 Dietas experimentais**

As dietas fornecidas aos animais foram formuladas para serem isonitrogenadas com aproximadamente 14% de PB, de forma a atenderem a exigências nutricionais de vacas não

lactantes com aproximadamente 600 Kg de peso corporal, conforme recomendações do NRC (2001), tendo elas: 1) Controle (CT), composta por uma dieta basal a base de farelo de soja e milho; 2) Óleo de soja (OS), composta por uma dieta baseada na inclusão de 3% de óleo de soja na matéria seca total; 3) Grão de soja (GS), composta por uma dieta baseada na inclusão de 16% de grão de soja cru e integral na matéria seca total e; 4) Sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG), composta por uma dieta baseada na inclusão de aproximadamente 3,0% de MEGALAC-E (Química Geral do Nordeste e Arm & Hammer, Inc.) na matéria seca total .

O volumoso utilizado foi a silagem de milho na proporção 80:20, misturado com o concentrado no cocho e fornecido em forma de dieta completa. As dietas foram ofertadas duas vezes ao dia, às 8 e às 13 horas, de forma *ad libitum*, juntamente com água, estimando as sobras entre 5 e 10%, durante todo o período experimental.

### 4.3 Análise dos alimentos

A composição químico-bromatológica dos ingredientes e a proporção dos ingredientes na dieta total estão descritas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Item	Ingrediente						
	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®)	Oleo de soja	Uréia
MS <sup>1</sup>	35,00	92,11	93,94	94,17	97,23	99,88	100,0
MO <sup>2</sup>	95,94	94,14	98,59	95,18	75,24	-	-
MM <sup>3</sup>	4,06	5,86	1,41	4,82	24,76	-	-
PB <sup>4</sup>	8,02	50,00	8,40	38,00	-	-	280,0
EE <sup>5</sup>	2,41	1,89	4,04	19,09	85,77	99,88	-
FDN <sup>6</sup>	40,41	20,93	12,07	18,00	-	-	-
CNF <sup>7</sup>	47,51	23,21	78,12	39,18	-	-	-
FDNi <sup>8</sup>	17,61	0,84	1,44	1,14	-	-	-

<sup>1</sup>Matéria seca (%MN); <sup>2</sup>Matéria orgânica (%MS); <sup>3</sup>Matéria mineral (%MS); <sup>4</sup>Proteína bruta (%MS); <sup>5</sup>Extrato etéreo (%MS); <sup>6</sup>Fibra em detergente neutro (%MS); <sup>7</sup>Carboidratos não fibrosos (%MS); <sup>8</sup>Fibra em detergente neutro indigestível (%MS).

Após o período de adaptação, no final de cada período experimental, as amostras dos ingredientes foram coletadas formando um *pool* e congeladas para posteriores análises. Foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM),

proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) nas amostras dos ingredientes (SILVA e QUEIROZ, 2002). Os teores de fibra detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método descrito por VAN SOEST e MASON (1991). A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi determinada como resíduo de FDN depois de 288 horas de incubação no rúmen (KRIZSAN e HUHTANEN, 2013). Os teores de carboidratos não-fibrosos foram calculados como proposto por HALL (1998):  $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Uréia} + \% \text{ Uréia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$ .

Tabela 2. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e químico-bromatológica das dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas Experimentais			
	CT <sup>1</sup>	OS <sup>2</sup>	GS <sup>3</sup>	SCAG <sup>4</sup>
Silagem de Milho	80,00	80,00	80,00	80,00
Milho Moído	11,48	7,49	2,28	7,28
Farelo de soja	6,01	7,01	-	7,01
Óleo de Soja	-	3,00	-	-
Grão de Soja	-	-	16,02	-
Sais de Cálcio de ácidos graxos	-	-	-	3,20
Uréia	1,13	1,13	0,32	1,13
Sulfato de Amônio	0,16	0,16	0,16	0,16
Fosfato Bicálcico	0,25	0,25	0,25	0,25
Calcário	0,30	0,30	0,30	0,30
Mineral <sup>5</sup>	0,25	0,25	0,25	0,25
Núcleo ADE	0,12	0,12	0,12	0,12
Sal Comum	0,30	0,30	0,30	0,30
<b>Composição químico-bromatológica (%)</b>				
Matéria seca	44,25	44,44	45,21	44,36
Matéria orgânica	93,73	90,74	79,15	90,72
Proteína bruta	13,55	13,71	13,59	13,70
Ácidos graxos	2,43	4,73	4,28	4,74
Fibra em detergente neutro	34,97	34,70	32,63	34,67
Carboidratos não-fibrosos	48,37	45,49	39,85	45,32
Matéria mineral	4,73	4,73	4,26	4,79
Fibra em detergente neutro indigestível	14,30	14,25	14,30	14,25

<sup>1</sup>CT = Controle; <sup>2</sup>OS = Óleo de soja; <sup>3</sup>GS = Grão de soja; <sup>4</sup>SCAG = Sais de cálcio de ácidos graxos, (Megalac-E®); <sup>5</sup>Níveis de garantia (com base na matéria seca): Co, 125 g/kg; Mn, 18125 mg/kg; Cu, 5625 mg/kg; S, 9 mg/kg; Cu, 312 mg/kg; Fe, 5000 mg/kg; Se, 144 mg/kg; Zn, 23750 mg/kg; vitamin A, 2000 IU/kg; vitamin D, 500 IU/kg; and vitamin E, 12500 IU/kg; <sup>6</sup>Valor expresso em % da matéria seca.

#### 4.4 Coletas reticular, omasal e abomasal

As amostras da digesta reticular, omasal e abomasal foram coletadas a cada 9 horas durante o 13<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup> e 15<sup>o</sup> dia de cada período experimental, perfazendo um total de 8 amostras representativas no período de 72 horas (KRIZSAN et al., 2010). Foram coletadas amostras com quantidades aproximadas de 750 mL sendo esta dividida em três sub-amostras, segundo metodologia desenvolvida por HUHTANEN et al. (1997) e modificada por AHVENJÄRVI et al. (2000).

As amostras foram armazenadas a -20° C para posterior análises. Em seguida foram descongeladas e misturadas para formação da amostra composta formada pelas 8 sub-amostras para separação das fases. A amostra composta foi pesada e filtrada em malha de 1 mm, para a separação da fase semi-líquida da fase sólida, sendo o material retido na malha considerado como fase de grandes partículas (FGP- para partículas > 1mm). A fase semi-líquida foi centrifugada a 1000 x g por 10 minutos, o sobrenadante foi aspirado e considerado a fase líquida (FL), e o precipitado foi considerado como fase de pequenas partículas (FPP - para partículas < 1mm). Após processamento, as sub-amostras foram liofilizadas e moídas em peneiras de 1 mm, para análise dos teores de MS, MO e FDN (SILVA & QUEIROZ, 2002; VAN SOEST e MASON, 1991).

#### 4.5 Análises estatísticas

Todos os dados foram analisados usando o modelo procedimento PROC MIXED (Versão 9.2, SAS Institute, Cary, NC 2010), ao nível de 5% de significância, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + S(A)_{il} + P_j + D_k + S_l + (DS)_{kl} + e_{ijklm}$$

Onde:  $Y_{ijklm}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $S(A)_{il}$  = efeito randomizado (sitio no animal),  $P_j$  = efeito fixo de período (j = 1 a 4),  $D_k$  = efeito fixo de dieta (k =1 a 4),  $(DS)_k$  = interação entre dieta e sitio de amostragem, e  $e_{ijklm}$  = erro.

Foram considerados os contrastes ortogonais para avaliação dos efeitos dos tratamentos sobre a composição das fases da digesta no abomaso: C1 = controle *versus* as fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos), com o objetivo de comparar a dieta controle com as fontes de ácidos graxos (livre e complexada); C2 = óleo de soja *versus* grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos com o objetivo de comparar uma

fonte de ácidos graxos livres do óleo de soja com duas fontes de ácidos graxos complexados provenientes do grão de soja e de sais de cálcio de ácidos graxos e; C3 = grão de soja *versus* sais de cálcio de ácidos graxos com o objetivo de comparar as duas diferentes formas de ácidos graxos complexados.

Para avaliar se houve diferença da característica química da digesta entre os sítios de amostragem (retículo, omaso e abomaso) foi utilizado o teste de médias proposto por Tukey ao nível de 5% significância.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores de MS e FDN na fase de grandes partículas (FGP), fase de pequenas partículas (FPP) e fase líquida (FL) do abomaso não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelas fontes de ácidos graxos nas dietas (Tabela 3), observado pelos contrastes 1, 2 e 3. As diferentes dietas tinham valores próximos de FDN na sua composição e como o abomaso é o estômago químico nos ruminantes, a ação da digestão é realizada de forma enzimática.

Entretanto, as concentrações de MO na FGP e FPP ( $P<0,05$ ) foram maiores para nas dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados, quando comparadas à dieta controle avaliado pelo contraste 1 (C1) (Tabela 3). Essa diferença nas concentrações de MO da digesta pode ser atribuída aos maiores teores de extrato etéreo nas dietas OS, GS e SCAG em relação à dieta controle (Tabela 2), visto que, fontes de gorduras possuem 2,25 vezes mais energia do que carboidratos e proteínas (NRC, 2001). Possivelmente, a maior concentração de extrato etéreo nas dietas com ácidos graxos causaram uma barreira física na fibra impedindo a ação das bactérias ruminais sobre a celulose, conservando assim diferentes teores de MO no abomaso (JENKINS et al., 1993). Além disso, os ácidos graxos podem estar adsorvidos nas partículas dos alimentos devido à lipólise do triacilglicerídeo (PALMQUIST e MATTOS, 2006). Não houve efeito das dietas sobre as concentrações de MO na fase líquida (FL) ( $P>0,05$ ) de acordo com os contrastes 1, 2 e 3.

Tabela 3. Efeito de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta sobre a composição das fases da digesta do abomaso de vacas holandesas

Item <sup>1</sup>	Dietas Experimentais <sup>2</sup>				CV (%)	Valor de P <sup>3</sup>		
	CT	OS	GS	SCAG		C1	C2	C3
Matéria Seca (%)								
FGP (> 1mm)	20,9	20,1	19,7	19,6	23,80	0,26	0,60	0,94
FPP (< 1 mm)	16,7	15,7	15,2	16,3	39,91	0,15	0,93	0,19
FL	1,6	1,8	1,7	1,8	15,98	0,25	0,84	0,26
Matéria orgânica (% MS)								
FGP (> 1mm)	85,9	90,1	89,7	90,7	2,08	< 0,01	0,94	0,57
FPP (< 1 mm)	81,7	86,2	85,5	86,8	2,75	0,03	0,96	0,62
FL	55,9	53,7	54,7	56,6	6,56	0,46	0,15	0,22
Fibra em detergente neutro (% MS)								
FGP (> 1mm)	71,8	71,9	71,6	68,6	15,51	0,45	0,23	0,09
FPP (< 1 mm)	47,9	47,5	47,2	46,9	20,88	0,75	0,87	0,83
FL	10,5	8,8	10,0	7,8	74,66	0,18	0,89	0,13

<sup>1</sup>FGP = Fase de grandes partículas, FPP = Fase de pequenas partículas, FL = Fase líquida; <sup>2</sup>CT = controle, OS = óleo de soja, GS = grão de soja, SCAG = sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®); <sup>3</sup>C1= controle x fontes de gordura (óleo de soja, grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos); C2= óleo de soja x sais de cálcio e grão de soja; C3= grão de soja x sais de cálcio de ácidos graxos.

Considerando o efeito do sítio de amostragem sobre a composição da digesta (Tabela 4), houve diferença ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de matéria seca nas fases de grandes e pequenas partículas (FGP e FPP) do retículo e omaso para o abomaso, considerado este, o compartimento a ser substituído pelas novas técnicas de amostragem. Porém não houve diferença ( $P > 0,05$ ) para os teores de matéria seca entre os sítios de amostragem avaliados para a fase líquida (FL) (Tabela 4). A digesta nesses compartimentos (retículo e omaso) apresentam a maior parte dos nutrientes em forma diluída e somente após passagem pelo omaso, a capacidade absorptiva passa a ser correspondente a área de superfície em mais de 10% da existente no rúmen (BERCHIELLI et al., 2006). A matéria seca que se encontra concentrada no abomaso, evidencia maiores concentrações de MS entre os diferentes sítios de amostragem para as fases de grandes e pequenas partículas ( $P < 0,05$ ). PUNIA et al. (1988), trabalhando com metodologia semelhante no presente estudo, observou 4,1% MS na digesta omasal. Diversos autores (ENGELHARDT e HAUFFE, 1975; EDRISE et al., 1986; HUHTANEN et al., 1997) citaram que baixos teores de MS no omaso pode ser atribuído ao carácter absorptivo do mesmo, mas que outra parte dessa variação pode ser atribuída aos erros de amostragem.

Tabela 4. Efeito do sítio de amostragem de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta sobre a composição das fases da digesta de vacas holandesas

Item <sup>1</sup>	Sítios de amostragem			CV (%)	Valor de P <sup>2</sup>	
	Retículo	Omaso	Abomaso		S	S x D
Matéria Seca (%)						
FGP (> 1mm)	18,8 <sup>b</sup>	17,5 <sup>b</sup>	23,8 <sup>a</sup>	15,07	<0,01	0,76
FPP (< 1 mm)	12,4 <sup>b</sup>	11,2 <sup>b</sup>	24,3 <sup>a</sup>	27,70	<0,01	0,98
FL	1,7 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	4,17	0,26	0,41
Matéria orgânica (% MS)						
FGP (> 1mm)	90,3 <sup>a</sup>	86,2 <sup>a</sup>	90,9 <sup>a</sup>	17,36	<0,01	0,20
FPP (< 1 mm)	88,0 <sup>a</sup>	81,7 <sup>b</sup>	85,4 <sup>ab</sup>	14,67	0,02	0,62
FL	56,6 <sup>a</sup>	55,9 <sup>a</sup>	53,2 <sup>a</sup>	17,64	0,03	0,38
Fibra em detergente neutro (% MS)						
FGP (> 1mm)	75,5 <sup>a</sup>	78,9 <sup>a</sup>	58,5 <sup>b</sup>	6,48	<0,01	0,81
FPP (< 1 mm)	41,5 <sup>b</sup>	49,7 <sup>a</sup>	51,0 <sup>a</sup>	15,71	<0,01	<0,01
FL	9,3 <sup>b</sup>	15,7 <sup>a</sup>	2,9 <sup>c</sup>	9,31	<0,01	0,30

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas respectivamente não diferem entre si, pelo Teste de Tukey. (P>0,05). <sup>1</sup>FGP = fase de grandes partículas, FPP = fase de pequenas partículas e FL = fase líquida. <sup>2</sup>S = diferença entre sítios de amostragem; SxD = diferença dos sítios de amostragem e as dietas contendo diferentes fontes de ácidos graxos.

As diferentes fontes de ácidos graxos oriundas das dietas experimentais não interferiram na MS da digesta nos diferentes sítios de amostragem (Tabela 4). KRISAN et al. (2010), em estudo semelhante ao presente, porém avaliando diferentes concentrações de FDN em três tipos de silagem de gramíneas, também não observaram diferenças de MS entre os sítios de amostragem (retículo e omaso) e os diferentes tipos de dietas.

Não houve efeito (P>0,05) dos sítios de amostragem sobre os teores médios de MO para a FGP e FL entre os sítios de amostragem (Tabela 4). A FPP no sítio de amostragem do retículo, foi superior no teor médio de MO (%MS) em relação ao omaso (P<0,05). Devidamente, como o retículo é considerado como o órgão propulsor dos nutrientes, e que, com a dificuldade de coleta no omaso devido a sua anatomia ser constituídos de folhas, a amostragem homogênea se torna difícil. KRIZSAN et al. (2010), corroboraram que existem diferenças entre os sítios de amostragem na FGP, porém estes autores não analisaram a FL. Entretanto, como o processo de digestão continua no omaso, não se pode determinar exatamente a composição da digesta através de amostras devido a possibilidade de ocorrer refluxo de grandes partículas para o retículo, comprovado que o ORO seleciona a passagem



de grande partículas, mas não impede suas passagem para o omaso (McBRIDE et al., 1984). Não houve associação da MO (%MS) entre os sítios de amostragem e as dietas com diferentes fontes de ácidos graxos ( $P>0,05$ ) tanto na fase sólida da digesta, quanto na fase líquida.

As concentrações de FDN (%MS) na FGP no abomaso, foram menores ( $P<0,05$ ) em relação ao retículo e o omaso (Tabela 4); a FPP no retículo apresentou menores concentrações de FDN no retículo em relação ao omaso e abomaso. Entretanto, os teores de FDN (%MS) apresentaram diferenças entre os sítios de amostragem para todas as fases ( $P<0,05$ ). Em revisão, FACIOLA (2014), relata que, altos teores de FDN, FDA e minerais foram encontrados na digesta omasal, mas que este órgão indica degradação da fibra e absorção de ácidos graxos voláteis (AGV) e minerais. KRIZSAN et al. (2010) observaram na fase de grandes partículas, 7 pontos percentuais de FDN a mais no omaso que no retículo, havendo diferença entre estes os sítios de amostragem, corroborando com este estudo; resultado este não representado pelos autores PUNIA et al. (1988) e AHVENJÄRVI et al. (2000), por não haver evidências da digestão da fibra no omaso. A retenção de partículas no retículo é inversamente proporcional a sua densidade específica, mas no abomaso ela é diretamente proporcional, devido à retenção seletiva de partículas dependendo do fluxo distal do abomaso, do piloro para o duodeno (LECHNER-DOLL et al., 1991; FAICHNEY, 1986; BARRY et al., 1985).

A medida em que ocorreu a passagem da FPP pelos diferentes sítios de amostragem (retículo, omaso e abomaso), também ocorreu aumento dos teores de FDN, possivelmente pela inclusão de diferentes fontes de ácidos graxos das dietas ( $P<0,05$ ) (Tabela 4). Isso pode ser explicado, sendo que após a lipólise no rúmen (quando não protegidos), estes ácidos graxos podem se apresentar na sua forma não esterificada e protonada, portanto, adsorvidos nas partículas, formando uma camada protetora, indisponibilizando a ação bacteriana no decorrer do fluxo da digesta (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

## **6. CONCLUSÕES**

As fontes de ácidos graxos utilizados nas dietas alteram os teores de matéria orgânica (%MS) no abomaso na fase de pequenas e grandes partículas e os teores de fibra em detergente neutro (%MS) na fase de pequenas partículas nos sítios de amostragem (retículo, omaso e abomaso).

## 7. REFERÊNCIAS

- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; VARVIKKO, T. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K. J.; HUHTANEN, P. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. **British Journal of Nutrition**, v. 90, p. 41-52, 2003.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- BARLETTA, R. V. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras**. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.
- BARRY, T. N.; FAICHNEY, G. J.; REDEKOPP, C. Gastro-intestinal tract function in sheep infused with somatostatin. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 38, p. 361-388, 1985.
- BATEMAN, H. G.; JENKINS, T. C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.81, p. 2451-2458, 1998.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, 583 p.
- BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J. M. R.; PORTUGAL, A. V. Reticulo-rumen biohydrogenation and enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, p.201-211, 2000.
- CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1439-1444, 1984.
- CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 828-855, 2007.
- CROCKER, L. M.; DePETERS, E. J.; FADEL, J. G.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; WYCKOFF, J. A.; ZINN, R. A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2394-2407, 1998.
- DARDILLAT, C.; BAUMONT, R. Sur la retention des particules de grande taille dans le reticulum chez la vache. **Reproduction of Nutrition Development**, v. 28, p. 137-138, 1988.
- DARDILLAT, C.; BAUMONT, R. Physical characteristic of reticular content in the bovine and consequences on reticular outflow. **Reproduction of Nutrition Development**, v. 32, p. 21-36, 1992.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 593-607, 1999.
- DERESZ, F.; FERNANDES, A. M.; MATOS, L. L. M.; TEIXEIRA, J. C. 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.
- DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2. ed., Washington, DC, USA, Library of Congress, 2005. ISBN 0-85199-814-3.

- DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal Nutrition**, v. 78, p. 15–35, 1997.
- DOREAU, M. Biohidrogenação Ruminal de Ácidos Graxos, **In: III Simposio internacional ‘Avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes**, Pirassununga, São Paulo, p. 46-58, 2011.
- EDRISE, B. M.; SMITH, R. H.; HEWITT, D. Exchanges of water and certain water soluble minerals during passage of digesta through the stomach compartments of young ruminating bovines. **British Journal of Nutrition**, v. 55, p. 157, 1986.
- ENGELHARDT, W. V.; HAUFFE, R. Role of the omasum in absorption and secretion of water and electrolytes in sheep and goats. In: MCDONALD, I. W e WARNER, A. C. I. **Digestion and Metabolism in the Ruminant**. 1 ed., University of New England Publishing Unit, Armidale, Australia, 1975, p. 216.
- FACIOLA, A. Omasal and reticular sampling techniques for assessing ruminal digestion, nutrient, and microbial protein flow. **In: 4° International Symposium on Advances on Ruminant Nutrition Research Techniques**. Pirassununga, SP, Brazil, 2014.
- FAICHNEY, G. J. The kinetics of particulate matter in the rumen. In: MILLIGAN, L. P., GROVUM, W. L.; DOBSON, A. **Control of Digestion and Metabolism in Ruminants**. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1986, p. 173–195.
- FERNANDES, M. F. **Qualidade do leite de cabras mestiças mocotó suplementadas com diferentes fontes e níveis de óleos vegetais**. 2007. 67 p. Dissertação de mestrado (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB, 2007.
- FRADSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia do sistema digestório**. 6° ed., Guanabara Koogan, 2003, 454 p.
- FRANCE, J.; SIDONS, R. C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v. 121, p. 105–120, 1986.
- FREITAS JUNIOR, J. E. **Biohidrogenação e fluxo intestinal de ácidos graxos em vacas leiteiras**. 2012. 136 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal – SP, 2012.
- FUNCK, L. G.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J. M. Ácido linoléico conjugado (CLA) e sua relação com a doença vascular e os fatores de risco associados. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 56, n. 2, p. 123-134, 2006.
- GONZALEZ, M. F.; BAS, M. F.; LUQUE, L. V. Effect of the supplementation of hydrogenated fat (GHP) and a calcium salt of fatty acids, derived from fish oil, on in vitro digestibility of cell wall and volatile fatty acids production. **Nutrition Abstract Reviews**, v. 69, p. 797, 1998.
- GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by D9-Desaturase. **The Journal of Nutrition**, v. 9, p. 2285-2291, 2000.
- HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9, 1998, Gainesville - FL, **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 1998, p. 108-121.
- HARMON, D. L.; RICHARDS, C. J. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2248-2255, 1997.

- HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Milk Yield and Energy Balance of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.1081–1091, 2006.
- HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J.; BEITZ, D. C. Response of Milk Fatty Acid Composition to Dietary Supplementation of Soy Oil, Conjugated Linoleic Acid, or Both. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 260–270, 2008.
- 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.
- IPHARRAGUERRE, I. R.; REYNAL, S. M.; LIÑEIRO, M.; BRODERICK, G. A.; CLARK, J. H. A comparison of sampling sites, digesta and microbial markers, and microbial references for assessing the postruminal supply of nutrients in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1904-1919, 2006.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3851-3863, 1993.
- JENKINS, T. C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 397-412, 2007.
- KING, K. W.; MOORE, W. E. C. Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. **Journal of Dairy Science**, v. 40, p. 528, 1957.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3ª edição. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2011, 214 p. ISBN 9788573910902.
- 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 sapling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 3, p. 1138-1147, 2010.
- KRIZSAN, S. J.; HUHTANEN, P. Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 1715-1726, 2013.
- LADEIRA, M. M.; SANTAROSA, L. C.; CHIZZOTTI, M. L.; RAMOS, E. M.; MACHADO NETO, O. R.; OLIVEIRA, D. M.; CARVALHO, J. R. R.; LOPES, L. S.; RIBEIRO, J. S. Fatty acid profile, color and oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. **Meat Science**, Barking, v. 1, n. 8, 2013.
- LECHNER-DOLL, M.; KASKE, M.; ENGELHARDT, W. V. Factors affecting the mean retention time of particles in the forestomach of ruminants and camelids. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. **Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants**. Academic Press, London, 1991, p. 455–482.
- McBRIDE, B. W.; MILLIGAN, L. P.; TURNER, B. V. Endoscopic observation of digesta transfer from the reticulo-rumen to omasum of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 84-85, 1984.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC 2001, **Nutrient requirements of dairy cattle**, 7. ed., Washington, D.C., National Academic Press, 381p.
- OLIVEIRA, S. G.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. Suplementação com diferentes fontes de gordura em dietas com alta e baixa inclusão de concentrado para vacas em lactação. **Ars Veterinária**, v.20, n. 2, p. 160-168, 2004.
- OLIVEIRA, E. A.; SAMPAIO, A. A.; HENRIQUE, W.; PIVARO, T. M.; ROSA, B. L.; FERNANDES, A. R.; ANDRADE, A. T. Quality traits and lipid composition of meat from nellores young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. **Meat Science**, Barking, v. 90, n. 1, p. 28-35, 2012.

- ONNETI, G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: A meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, p. 65-82, 2004.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.
- PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: Orsov, E. R. **Feed Science**, Ed. Elsevier Science, Amsterdam – Netherlands, 1988, p. 293-311.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal: Funep, 2006, cap. 10, p. 287-310.
- PUNIA, B. S.; LEIBHOLZ, J.; FAICHNEY, G. J. Effects of level of intake and urea supplementation of alkali-treated straw on protozoal and bacterial nitrogen synthesis in the rumen and partition of digestion in cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 39, p. 1181, 1988.
- REID, C. S. W. 1984. The progress of solid feed residues through the rumino-reticulum: the ins and outs of particles. In: Ruminant Physiology Concepts and Consequences, 1984, Western Australia, **Proceedings Symp Western Australia**, p. 79-84, 1984.
- ROBINSON, P. H.; SNIFFEN, C. J.; SMITH, D. F. Development of a one-piece reentrant cannula for the proximal duodenum of dairy cows, **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 4, p. 986-995, 1985.
- SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 2990-3002, 1992.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. ed., Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002, 235p. ISBN 85-7269-105-7.
- 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.
- SILVA, M. M. C.; RODRIGUES, M. T.; BRANCO, R. H.; RODRIGUES, C. A. F.; SARMENTO, J. L. R.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, S. P. Suplementação de lipídeos em dietas para cabras em lactação: consumo e eficiência de utilização de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 257-267, 2007.
- SANTOS, A. D. F.; TORRES, C. A. A.; RENNO, F. P.; DRUMOND, M. R. S.; FREITAS JUNIOR, J. E. Utilização de óleo de soja em rações para vacas leiteiras no período de transição: consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1367-1371, 2009.
- STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2001, Lavras - MG. **Anais...** Lavras:UFLA, p. 161-178, 2001.
- SUTHERLAND, T. M. Particle separation in the forestomach of sheep. In: DOBSON, A.; DOBSON, M. J. **Aspects of digestive physiology in ruminants**. 1 ed., Ithaca, Ithaca Comstock Publishing Associates, 1988, p.43-47.
- SUTTON, J. D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 2801-2814, 1989.
- VAN NEVEL, C. P.; DEMEYER, D. I. Effect of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their Ca-salts by rumen micro-organisms in vitro. **Archives of Animal Nutrition**, v. 49, p. 151-157, 1996.

UEDA, K. ; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999-4007, 2003.

VALADARES FILHO, S. C.; ROTTA, P. P.; COSTA E SILVA, L. F. Técnicas de coleta duodenal, abomasal, omasal e reticular na avaliação do fluxo ruminal. In: RENNO, F. P. e PRADA E SILVA, L. F. **Simpósio Internacional Avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes**, 3. Pirrassununga, São Paulo, p. 14-45, 2011.

VAN SOEST, P. J.; MASON, V.C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds, **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VARGAS L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A. B. 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.

VILELA, D.; ALVIM, M. J.; MATOS, L. L.; MATIOLLI, J. B. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras em pastagem de coast-cross. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1503-1509, 2002.

WAGHORN, G. C.; REID, C. S. W.; ULYATT, M. J. et al. Feed comminution, particle composition and distribution between a the four compartments of the stomach in sheep feed chopped lucerne hay at two feeding frequencies and intake level. **J. Agric. Sci.**, v. 106, p. 287-296, 1986.