



ADRIANO VINÍCIUS DE PAIVA FERREIRA

**PARTIÇÃO DA DIGESTÃO E ESCAPE
RUMINAL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA
LONGA EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS
COM ÓLEO DE SOJA, VITAMINA E e SELÊNIO
ORGÂNICO**

LAVRAS-MG

2016

ADRIANO VINÍCIUS DE PAIVA FERREIRA

**PARTIÇÃO DA DIGESTÃO E ESCAPE RUMINAL DE ÁCIDOS
GRAXOS DE CADEIA LONGA EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS
COM ÓLEO DE SOJA, VITAMINA E e SELÊNIO ORGÂNICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Dr. Márcio Machado Ladeira

**LAVRAS – MG
2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ferreira, Adriano Vinícius de Paiva.

Partição da digestão e escape ruminal de ácidos graxos de cadeia longa em novilhos suplementados com óleo de soja, vitamina E e selênio orgânico / Adriano Vinícius de Paiva
Ferreira. – Lavras : UFLA, 2016.

82 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Márcio Machado Ladeira.
Bibliografia.

1. Ácido linoleico conjugado. 2. Biohidrogenação. 3. Eficiência microbiana ruminal. 4. Lipídeos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ADRIANO VINÍCIUS DE PAIVA FERREIRA

**PARTIÇÃO DA DIGESTÃO E ESCAPE RUMINAL DE ÁCIDOS
GRAXOS DE CADEIA LONGA EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS
COM ÓLEO DE SOJA, VITAMINA E e SELÊNIO ORGÂNICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de setembro de 2016.

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira

UFLA

Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto

UNESP/Botucatu

Prof. Dr. Márcio Machado Ladeira

Orientador

**LAVRAS – MG
2016**

Aos meus pais, que sempre me incentivaram nos estudos e nunca mediram esforços para me incentivar e me manter até esse momento. Que abrem mão dos próprios ideais em busca dos meus, e que sabem me dar amor sem medidas.

Aos meus irmãos pelo apoio, amor e companheirismo.

Ao meu avô (Álvaro Paiva) que sempre me incentivou a construir carreira na área de ciências agrárias.

Aos meus amigos de longa data (Jean, Lucas, Túlio e Wesley) por estarem sempre me acompanhando e aconselhando.

Ao NEPEC pelo carinho e por que me alegrar nos momentos difíceis, além da imprescindível troca de experiência e ajuda.

Amo vocês!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora de Aparecida por ter me dado discernimento para aproveitar todas as oportunidades e abençoar o meu dia a dia.

Aos meus pais, Rogério e Vilma, pelo amor, apoio, incentivos e cobranças.

Aos meus irmãos, Guilherme e Denise, pelo carinho, amizade.

À família “Paiva” e “Ferreira” por todo incentivo, torcida e carinho. Vocês são muito importantes!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Márcio Machado Ladeira, pela confiança, dedicação, amizade e pelos conhecimentos transmitidos. Irei sempre lembrar os seus exemplos de vida como professor, pesquisador e pessoa.

Ao Prof. Dr Otávio Rodrigues Machado Neto pela amizade, conselhos, confiança e ensinamentos repassados desde a graduação.

Aos amigos da UFLA, em especial os de República (Otávio, Toru e Julinho), os de NEPEC (Fabiano, Priscila, Luana, Latinha, Fernando e Cris) pela amizade, dedicação e companheirismo.

À família NEPEC, pelos ensinamentos trocados ao longo desses anos, companheirismo e principalmente pelas amizades verdadeiras que fiz.

Aos meus amigos da pós-graduação, em especial Bruno, Fernanda, Brigadeiro e Chumaço, pela amizade e companheirismo.

Aos estagiários, em especial Carlos e Raphaela, pelas várias horas de dedicação e pela amizade.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia pelo profissionalismo e pela disposição em sempre querer ajudar.

Ao laboratório de Ciência Animal do Departamento de Zootecnia, em nome de Márcio, pelo apoio, dedicação e amizade adquirida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Aos demais amigos da graduação e pós-graduação em Zootecnia.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Rotas de biohidrogenação dos ácidos α -linolênico (A), linoleico (B) e oleico (C).19
- Figura 2 - Valores médios de pH ruminal após a alimentação dos animais. Letras diferentes representam diferença estatística para o teste pdiff ($P<0,05$) em relação ao efeito de tempo após a alimentação. 62
- Figura 3 - Valores médios de amônia ruminal após a alimentação dos animais. Letras diferentes representam diferença estatística para o teste pdiff ($P<0,05$) em relação ao efeito de tempo após a alimentação. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de ingredientes e nutrientes das dietas experimentais..	46
Tabela 2 - Perfil dos principais ácidos graxos das dietas experimentais, sem lipídeo adicional (SLA), e com óleo de soja (OS) (g/100g de ácidos graxos).....	47
Tabela 3 - Consumo de nutrientes de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.	56
Tabela 4 - Digestibilidade total, ruminal e intestinal, porcentagem de nutrientes digestível total de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.	58
Tabela 5 - Frações de degradação de silagem de milho e capim napier no rúmen de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio..	59
Tabela 6 - Valores de pH, síntese de proteína microbiana no rúmen, N-NH ₃ , perfil de ácidos graxos voláteis no conteúdo ruminal e contagem de protozoários totais no rúmen de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.	61
Tabela 7 - Concentração de ácidos graxos no conteúdo omasal (g/100 g), de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio	64

LISTA DE ABREVIACES

AG	cido Graxo
AGL	cido Graxo Livre
AGMI	cido Graxo Monoinsaturado
AGPI	cido Graxo Poli-insaturado
AGS	cido Graxo Saturado
AGV	cidos Graxos Voláteis
CLA	cido Linoleico Conjugado
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
EE	Extrato Etéreo
FDN	Fibra em Detergente Neutro
MS	Matéria Seca
MO	Matéria Orgânica
PB	Proteína Bruta
TGI	Trato Gastrointestinal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Lipídeos na dieta de ruminantes.....	15
2.2	Metabolismo ruminal de lipídeos	17
2.3	Efeitos da suplementação lipídica no ambiente ruminal de bovinos	20
2.4	Suplementação de selênio	23
2.5	Suplementação de vitamina E.....	26
	REFERÊNCIAS.....	29
	CAPITULO 1 PARTIÇÃO DA DIGESTÃO E ESCAPE RUMINAL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE SOJA, VITAMINA E E SELÊNIO ORGÂNICO	39
1	INTRODUÇÃO.....	41
2	MATERIAL E MÉTODOS	45
2.1	Animais, instalações e delineamento experimental.....	45
2.2	Dietas e alimentação	45
2.3	Coleta de dados e de amostras	47
2.4	Digestibilidade total dos nutrientes	48
2.5	Degradabilidade ruminal da matéria seca e da fibra em detergente neutro	49
2.7	Eficiência de síntese de proteína microbiana	50
2.8	Nitrogênio amoniacal, pH ruminal e AGV's	51
2.9	Análises de ácidos graxos de cadeia longa	53
2.10	Análises estatísticas.....	53
3	RESULTADOS	55
4	DISCUSSÃO.....	65
5	CONCLUSÃO.....	71
	REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O aumento da densidade energética em dietas de terminação é uma estratégia para melhorar a eficiência alimentar em bovinos de corte. Esse aumento pode ocorrer pela utilização de fontes de carboidratos não fibrosos, ricos em amido ou fibra solúvel (pectina), e pela suplementação com fontes lipídicas, proporcionando bons resultados no desempenho de bovinos em terminação (NELSON et al. 2004). A utilização de fontes lipídicas é importante em dietas na qual a energia se torna limitante para se obter elevados ganhos de peso. Além disso, a substituição de fontes de energia como os grãos por energia de lipídeos pode reduzir a possibilidade de ocorrência de distúrbios fermentativos em dietas com elevada inclusão de grãos.

A inclusão de fontes de ácidos graxos poli-insaturados em dietas de ruminantes tem o objetivo de melhorar o valor nutricional dos lipídeos presentes no leite e na carne (MACHADO NETO et al. 2015; SHINGFIELD et al. 2008). Esse uso ocorre em função da descoberta dos efeitos nutracêuticos de certos ácidos graxos, primeiro em camundongos e posteriormente sobre a saúde humana, como o ácido linoleico conjugado (CLA) (DOREAU, 2011; LOURENÇO et al. 2010; MARKS et al. 2004).

As pesquisas citadas mostram que é possível, mediante alterações nas dietas, manipular o valor nutricional dos produtos de origem animal, tornando-os benéficos à saúde humana. No entanto, a suplementação de lipídeos (MONTGOMERY et al. 2008), o fornecimento de vitamina E (POTTIER et al. 2006) e selênio (XUN et al. 2012) podem alterar de forma benéfica ou negativa a fermentação e a digestibilidade dos nutrientes no rúmen. Diante disso, experimentos com ruminantes têm avaliado o efeito do selênio sobre a fermentação ruminal, digestão de nutrientes (KIM et al. 1997; SHI et al. 2011),

crescimento de micro-organismos ruminais (EUN et al. 2013), o efeito da vitamina E e selênio sobre a produção de ácidos graxos voláteis (SHI et al. 2011; WEI et al. 2015) e vitamina E sobre a qualidade dos produtos de origem animal (JUÁREZ et al. 2010; MACHADO NETO et al. 2015).

A suplementação de selênio em dietas de ovinos aumentou a concentração de AGV em mM no rúmen e mudou o padrão de fermentação ruminal, aumentou a produção de propionato, reduziu a relação acetato: propionato e o pH (XUN et al. 2012). Também foi verificado neste trabalho que essa suplementação pode aumentar a síntese de proteína microbiana, devido ao aumento da eficiência da degradabilidade ruminal e melhora da digestão dos nutrientes. Certas bactérias ruminais são sensíveis à suplementação de óleo vegetal nas dietas, porque os ácidos graxos insaturados contidos nestes óleos possuem efeitos tóxicos. No entanto, a vitamina E pode influenciar as vias de biohidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), agindo como um inibidor de crescimento e função das bactérias produtoras de C18:1 *trans*-10 no rúmen, o que teria impacto sobre o perfil de ácidos graxos (JUÁREZ et al. 2010; POTTIER et al. 2006). Além disso, pode agir como acceptor de elétrons pelo *Butyrivibrio fibrisolvens* (POTTIER et al. 2006), o que poderia reduzir a biohidrogenação de ácidos graxos ômega-3.

Em experimento *in vitro*, a suplementação de 15-30 UI/kg MS de Vitamina E aumentou a taxa de desaparecimento de MS e a utilização da proteína bruta da dieta. Já a dose de 30 UI/kg de MS aumentou a produção total de AGV, de propionato e tendeu a aumentar acetato e butirato (WEI et al. 2015). Em outro estudo *in vitro*, realizado por Naziroglu et al. (2002), a suplementação de 0,8 mg de Vitamina E aumentou as contagens totais de protozoários do rúmen e os níveis de nitrogênio amoniacal em 6, 12 e 24 h.

Este estudo tem como hipóteses que a suplementação lipídica altera a fermentação ruminal, reduzindo a relação acetato: propionato, ocasionando

redução no consumo de matéria seca e digestibilidade da fibra. No entanto o uso de selênio orgânico reduz a relação acetato: propionato e melhora a eficiência de uso do nitrogênio no rúmen, e a suplementação de vitamina E e selênio pode ser benéfica para os micro-organismos ruminais, contribuindo assim para digestão dos nutrientes e fermentação ruminal. Portanto, objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade total, a degradabilidade ruminal e os parâmetros ruminais de novilhos alimentados com dietas contendo alta inclusão de óleo de soja, com ou não a inclusão de selênio orgânico e vitamina E.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lipídeos na dieta de ruminantes

Em aspectos nutricionais, os lipídeos podem ser agrupados como de reserva (triglicerídeos em sementes), lipídeos das forrageiras (galactolipídeos) e uma mistura de outras estruturas moleculares solúveis em éter (ceras, carotenoides, clorofila etc.). Nas forragens o ácido graxo predominante é o linolênico, enquanto nas oleaginosas predomina o ácido linoleico (KOZLOSKI, 2009; PALMQUIST e MATTOS, 2006).

A inclusão de fontes lipídicas na dieta de ruminantes é uma estratégia nutricional que melhora o desempenho (NELSON et al. 2008), pois pode aumentar o valor energético das dietas, a eficiência alimentar, a capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis e o suprimento de ácidos graxos para os animais (HARVATINE e ALLEN, 2006; PALMQUIST e MATTOS, 2006). Além disso, o uso deste ingrediente na dieta de bovinos também tem como propósito gerar mudanças químicas, físicas e sensoriais na carne, tornando-a benéfica à saúde humana, pela deposição de ácidos graxos anticarcinogênicos, como o CLA (MACHADO NETO et al. 2015).

A variação das fontes de ácidos graxos e o seu nível de inclusão na dieta podem influenciar o consumo de matéria seca (MS), pelo aumento da energia fornecida pelos lipídeos. Sendo o seu fornecimento visto de forma positiva quando se deseja adensar energeticamente a dieta e/ou quando os animais diminuem a ingestão de alimentos devido às altas temperaturas (PALMQUIST e MATTOS, 2006). Contudo, quando há alterações na fermentação ruminal devido à suplementação lipídica pode ocorrer redução no consumo de MS e digestibilidade da fibra (NRC, 2001). O consumo de dietas com altos níveis de EE pode comprometer a ingestão de alimentos por reduzir a digestão da fibra e a

taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal, como resultado do efeito negativo dos lipídeos sobre o crescimento microbiano, sobretudo dos micro-organismos que digerem a fibra dietética (NRC, 2001). Os efeitos da suplementação de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) sobre a fermentação ruminal foram relatados por Kozloski (2009) em que, altos teores de AGPI recobrem as partículas do alimento e, ou, células bacterianas devido a sua propriedade adsortiva, impedindo a adesão dos micro-organismos sobre a superfície da fibra. Além disso, há o efeito tóxico direto sobre os micro-organismos ruminais, ao alterar a permeabilidade e fluidez da membrana plasmática.

Palmquist e Mattos (2006) relataram que o uso de óleos vegetais na dieta, devido ao alto teor de AGPI, reduz a concentração de amônia ruminal (N-NH_3), aumenta a eficiência da síntese microbiana e reduz a produção de metano. Dietas ricas em óleo de soja e, conseqüentemente, ácido linoleico diminuem a taxa de ácidos graxos que são biohidrogenados devido a redução na lipólise, que é um passo anterior à biohidrogenação, aumentando a passagem de ácidos graxos insaturados pelo rúmen (BEAM et al. 2000).

Vargas et al. (2002), estudando o efeito do óleo de soja para vacas leiteiras, com 7% de suplementação lipídica (grão de soja moído e óleo de soja), observaram redução na digestibilidade da MS e degradação da fibra. Estes autores também verificaram redução na taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal (TGI) e decréscimo na relação acetato:propionato.

Para otimizar a suplementação de lipídeos, Zinn e Jorquera (2007) recomendam que a ingestão total em dietas de bovinos confinados não seja superior a 7% da matéria seca da dieta. Pois, segundo Valinote et al. (2005), a adição de lipídeos na ração em níveis superiores a 7% da matéria seca pode prejudicar a degradabilidade da dieta. Em artigo de revisão sobre a utilização de lipídeos para animais submetidos a dietas baseadas em forragem, Hess et al.

(2008) afirmaram que o nível ótimo de inclusão seria de 4% da MS dietética. Sendo assim, a manipulação do metabolismo lipídico no rúmen, alterando a fermentação, as populações microbianas e, o estudo do fluxo pós-ruminal de ácidos graxos (AG) se torna cada vez mais essencial para que sejam entendidos as perdas e os processos pelos quais os ácidos graxos da dieta podem passar até serem absorvidos.

2.2 Metabolismo ruminal de lipídeos

No rúmen os lipídeos esterificados ingeridos pelos animais são hidrolisados por lipases, fosfolipases e galactolipases que estão associadas à membrana celular bacteriana, liberando ácidos graxos livres que podem exercer efeitos antimicrobianos sobre os micro-organismos ruminais (MAIA et al. 2010). Para reduzir os efeitos tóxicos dos AGI os micro-organismos ruminais utilizam a biohidrogenação, com a produção de ácido esteárico (C18:0) ao término das reações, alterando assim o perfil dos ácidos graxos que chegam ao duodeno (HARVATINE e ALLEN, 2006).

A lipólise é influenciada pelo nível de lipídeos na dieta, pH ruminal, utilização de ionóforos, dentre outros (DOREAU e CHILLIARD, 1997). Já a biohidrogenação, consiste na adição de hidrogênio nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados não esterificados pelos micro-organismos ruminais, aumentando o grau de saturação e, assim, reduzindo a toxidez (JENKINS, 1993). Já a galactose e o glicerol são convertidos a AGV e absorvidos no rúmen (OLIVEIRA et al. 2004).

Segundo Krueger et al. (2010), a biohidrogenação ruminal só é possível após ocorrer a lipólise, pois as enzimas responsáveis por este processo atuam somente em ácidos graxos livres. No entanto, o aumento de lipídeos nas dietas de ruminantes acarreta na inibição da lipólise e acúmulo de ácidos graxos poli-

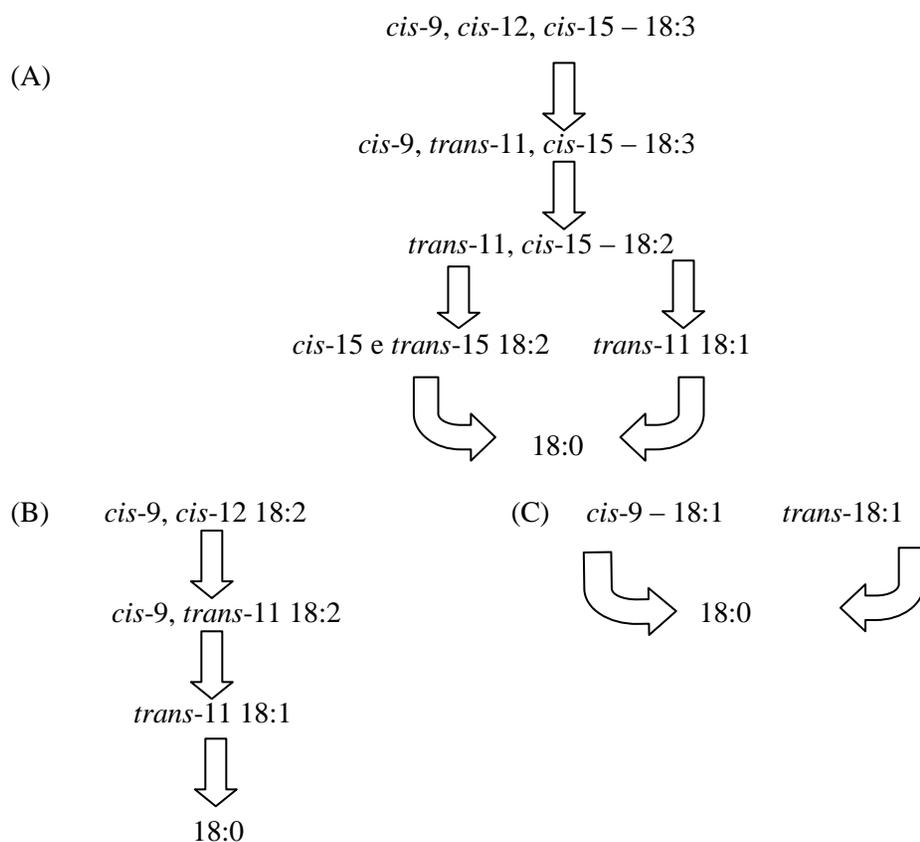
insaturados no ambiente ruminal podendo inibir a biohidrogenação completa (JENKINS e ADAMS, 2002; HESS et al. 2008), aumentando a passagem destes para o intestino delgado, o que possibilita maior absorção e possibilidade de alteração do perfil de ácidos graxos da carne destes animais.

As bactérias gram-positivas, os *Archae* (metanogênicos) e os protozoários são os mais afetados, por isso os AGI precisam ser convertidos em AGS, que são menos prejudiciais (Figura 1). A toxicidade dos ácidos graxos pode estar relacionada à sua capacidade de romper a estrutura das membranas celulares (JENKINS, 1993; PALMQUIST e MATTOS, 2006). Diante disso, para reduzir o efeito negativo dos lipídeos nos micro-organismos ruminais, permitindo que o nutriente potencialize sua função, têm-se estudado várias fontes e seus efeitos na cinética ruminal (VALINOTE et al. 2005).

As taxas de lipólise e biohidrogenação irão depender da quantidade e da característica do lipídeo fornecido (BEAM et al. 2000). A capacidade média de biohidrogenação ruminal é de 70%, podendo variar de 60 a 90% (ZINN et al. 2000). No entanto, variação na biohidrogenação pode ocorrer devido à forma física, perfil de ácidos graxos dietéticos, taxa de passagem, nível de suplementação e pH ruminal (ZINN e JORQUERA, 2007).

A consequência da extensa lipólise e biohidrogenação no rúmen é o fluxo de lipídeos para o intestino delgado, composto principalmente por ácidos graxos saturados livres. Além disso, devido à síntese de lipídeos por micro-organismos do rúmen, o fluxo de ácidos graxos para o intestino delgado de ruminantes normalmente excede a ingestão dietética (ZINN e JORQUERA, 2007), o que pode resultar em digestibilidade negativa.

Figura 1- Rotas de biohidrogenação dos ácidos α -linolênico (A), linoleico (B) e oleico (C).



Fonte: Adaptado de Harvatine e Allen, 2006.

O ácido linoleico conjugado C18:2 *cis*-9, *trans*-11, produzido como consequência da biohidrogenação incompleta do ácido linoleico é considerado o principal isômero de CLA com benefícios sobre a saúde humana (PARIZA, 2004). Além disso, o ácido graxo C18:1 *trans*-11 (ácido vaccênico), que também é um intermediário da biohidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico, é

substrato para a formação de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 no tecido adiposo do animal. Desta forma, estratégias que possibilitem o aumento no fluxo de ácido vaccênico para o intestino delgado e sua posterior absorção colaboram também de forma decisiva para o aumento da concentração de CLA na carne bovina (KNIGHT et al. 2003).

A manipulação das dietas de terminação pode influenciar a síntese de CLA nos ruminantes de três maneiras, apresentando lipídeos disponíveis para síntese de CLA e ácido vaccênico no rúmen; alterando o ambiente ruminal, modificando a população bacteriana responsável pela biohidrogenação; e dietas associadas a substratos lipídicos que alteram a população bacteriana (BAUMAN et al. 1999).

2.3 Efeitos da suplementação lipídica no ambiente ruminal de bovinos

Os ruminantes requerem um período de adaptação ruminal à suplementação de lipídeos, pois, quando estes são adicionados às dietas, a fermentação ruminal pode ser alterada causando redução da digestibilidade dos nutrientes. Esta redução na digestão é acompanhada pela redução na produção de metano, hidrogênio e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa relação acetato: propionato (JENKINS, 1993).

O efeito da suplementação lipídica sobre a digestibilidade ruminal dos nutrientes tem sido relatado na literatura, principalmente no que diz respeito ao seu efeito negativo sobre a digestibilidade ruminal da fibra e de outros carboidratos (OLIVEIRA et al. 2007). Entretanto, a quantidade de lipídeos que deprime a digestibilidade destes nutrientes parece não ser consenso entre os pesquisadores. Este efeito pode ser influenciado por uma série de fatores, especialmente pela característica inerente ao suplemento e sua forma de utilização, como o nível e tipo de suplemento e o tipo da forragem utilizada

durante a suplementação. Além disso, a variabilidade de respostas à suplementação lipídica pode estar relacionada ao pH ruminal (PLASCENCIA et al. 1999).

Oliveira et al. (2007) utilizaram lipídeos na forma de grãos de soja e óleo de soja, e notaram que apenas o óleo de soja influenciou negativamente a digestibilidade da fibra. Portanto, além do nível de extrato etéreo, a fonte pode influenciar a digestibilidade e o desempenho animal. Maia et al. (2006) verificaram efeito negativo da adição de fontes de lipídeos à dieta sobre o coeficiente de digestibilidade da FDN, e sobre a digestão total dos CNF. A digestibilidade da FDN foi maior no tratamento sem lipídeos adicional, que apresentou média de 36%, enquanto nas dietas com suplementação lipídica de 5,1%, o coeficiente de digestibilidade foi em média 24% inferior (27,6; 26,3 e 27,8% para os óleos de arroz, de canola e de soja, respectivamente), sendo que a digestibilidade da FDN não diferiu entre as dietas que continham lipídeos.

Kucuk et al. (2004) avaliaram o efeito da inclusão de 0; 3,2; 6,3 e 9,4% de óleo de soja na dieta de cordeiros alimentados com alta proporção de concentrado (81% da MS). Os autores não observaram efeito da inclusão de óleo sobre o local e extensão da digestão da fibra, amido, matéria orgânica e nitrogênio. Entretanto, o consumo de ração neste experimento foi limitado a 1,74% do peso vivo. Por outro lado, Zinn (1989) observou decréscimo na digestibilidade da fibra, quando foram fornecidos 8% de EE na dieta de bovinos. Neste trabalho os animais tiveram livre acesso à dieta experimental.

Montgomery et al. (2008) avaliaram o efeito de diferentes fontes de lipídeos (sebo bovino, gérmen de milho, óleo de milho e óleo de canola) contendo 6,7% de EE na MS, além de um tratamento sem lipídeo suplementar (3,7% de EE), sobre a digestibilidade ruminal da fibra em bovinos submetidos a dieta com 90% de concentrado. Os autores não observaram efeito dos tratamentos sobre a digestibilidade da FDN e fermentação ruminal.

Doreau e Chilliard, (1997) verificaram que o decréscimo da relação acetato:propionato no rúmen de animais suplementados com lipídeos foi acompanhado por redução na digestibilidade ruminal da matéria orgânica, principalmente da fração fibrosa. Onetti et al. (2001) realizaram um experimento com vacas holandesas em lactação para avaliar o efeito do nível e fonte de lipídeo sobre a fermentação ruminal de vacas alimentadas com dietas contendo 50% de silagem de milho como forragem exclusiva. Os tratamentos consistiram nos níveis de 0, 2 e 4% de sebo. Houve tendência de maior concentração de ácidos graxos voláteis para a dieta sem inclusão de lipídeo. A relação acetato:propionato, que foi reduzida com a inclusão de lipídeo, sendo também afetada pelo maior nível de suplementação.

O efeito da suplementação com lipídeos sobre a concentração ruminal de ácidos graxos voláteis e a relação acetato: propionato é variável. Bateman e Jenkins, (1998) conduziram um experimento para verificar o efeito da adição de óleo de soja em dietas com alto teor de fibra para vacas holandesas não lactantes (dieta com 50% de feno de tifton como volumoso e 50% de concentrado a base de milho e farelo de soja). O óleo substituiu o farelo de soja nos níveis de 2, 4, 6 e 8% da MS dietética e reduziu linearmente a concentração total de ácidos graxos voláteis no fluído ruminal e a relação acetato: propionato. Krysl et al. (1991) realizaram a infusão ruminal de 300 mL de óleo de soja/dia em novilhas alimentadas com feno de gramínea e verificaram aumento da produção ruminal de propionato, que pode ser parcialmente explicado pela fermentação do glicerol presente no triglicerídeo das fontes de lipídeos.

Segundo Jenkins (1993), a variação dos efeitos das fontes de lipídeos sobre a fermentação ruminal pode ser atribuída às diferenças entre as estruturas destas. Dentre esses fatores, o grau de insaturação dos ácidos graxos pode ser considerado característica essencial dos lipídeos utilizados como fonte de energia nas rações de ruminantes. Isso porque os ácidos graxos insaturados

podem inibir a fermentação ruminal em relação a ácidos graxos saturados, ao serem mais tóxicos à microbiota ruminal (PALMQUIST e JENKINS, 1980).

Segundo Tamminga e Doreau, (1991), o efeito geralmente observado sobre a eficiência de síntese microbiana com a inclusão de lipídeos é uma melhoria, ou ausência de efeito. O aumento na eficiência de síntese microbiana é frequentemente observado quando ocorre decréscimo na população ruminal de protozoários. Uma vez que micro-organismos ruminais obtêm pouca energia oriunda da degradação de triglicerídeos, a substituição de grãos de cereais por lipídeos pode reduzir a disponibilidade de substrato para a síntese de proteína microbiana.

2.4 Suplementação de selênio

Minerais e vitaminas são necessários para o funcionamento normal de praticamente todos os processos metabólicos em ruminantes. As deficiências nutricionais ou excesso de certos minerais e vitaminas podem resultar em perdas econômicas substanciais na produtividade animal. A exigência de Se para bovinos de corte é de 0,1 mg/kg de MS, e ainda, segundo o NRC (2000), a concentração máxima recomendada para evitar intoxicação é de 2 mg/kg de MS.

O selênio (Se) é um semimetal que pode existir em vários estados de oxidação, o que lhe permite formar uma série de compostos (DEL CLARO et al. 2013). É um nutriente essencial que ocorre nas formas inorgânica e orgânica, sendo as principais formas de Se inorgânico os sais de Se, ou seja, selenato (SeO_4^{-2}) e selenito (SeO_3^{-2}). A forma orgânica mais comum do Se é a SeMetionina (SeMet) ou SeCistina (SeCist), ou seja, uma forma análoga dos aminoácidos sulfurados (GIERUS, 2007). Também estão disponíveis em leveduras enriquecidas, que crescem sobre um substrato contendo pouco enxofre

e muito selênio. Dessa forma, o Se encontrado é basicamente a SeMet (UDEN et al. 2004).

O organismo possui sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos de eliminação de radicais livres quando estes estão em quantidade excessiva no organismo. Os antioxidantes não enzimáticos são, em sua maioria, absorvidos pela dieta como o selênio, zinco, vitamina E e vitamina A. Já os antioxidantes enzimáticos (ou endógenos) são produzidos pelo próprio organismo, como é o caso da glutathiona peroxidase e do superóxido dismutase (KUSS, 2005). A superóxido dismutase age sobre a transformação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio, enquanto a glutathiona peroxidase degrada os hidroperóxidos (MANSON e AKESSON, 2000).

O selênio é componente essencial da enzima glutathiona peroxidase - GSH-px (ROVER Jr. et al. 2001), que participa como antioxidante na proteção das células, reduzindo hidroperóxidos em produtos menos reativos. No tecido muscular, as funções antioxidantes do Se podem persistir após o abate e retardar o aparecimento de reações de oxidação em carnes e produtos derivados (DEVORE et al. 1983). As espécies reativas de oxigênio em grandes quantidades causam a peroxidação lipídica dos ácidos graxos das membranas celulares provocando ruptura dessas membranas, oxidação dos lipídeos insaturados, formação de resíduos químicos e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989).

Experimento com ovinos e bovinos demonstraram que o selênio dietético fornecido como Se-levedura podem ser administrados em concentrações 20 vezes superiores a 0,3 mg/kg de ração, sem sinais de toxicidade (JUNIPER et al. 2008). O SeMet pode ligar-se de forma não específica às proteínas do corpo no lugar da metionina, levando a maiores concentrações nos tecidos e no leite de ruminantes. A extensão dessa incorporação é dependente do suprimento da metionina para os animais, ou seja,

quando a metionina é limitante, a incorporação de SelMet é aumentada. (FAIXOVÁ et al. 2007).

A suplementação com selênio (2 mg/kg de MS) em dietas com 75% de concentrado de bovinos confinados não alterou a fermentação ruminal, principalmente em relação aos ácidos graxos propiônico e butírico. Entretanto, proporcionou melhor eficiência alimentar sem alterar a ingestão de matéria seca, devido ao aumento do ganho de peso, quando comparado ao grupo controle. Os autores atribuíram a melhor eficiência à ingestão de selênio abaixo do preconizado pelo NRC (2000) que foi de 60% do recomendado no tratamento controle (DEL CLARO et al. 2013).

Suplementação de selênio em dietas de ovinos aumentou a concentração de AGV no rúmen e mudou o padrão de fermentação ruminal, com a redução no pH, aumento na produção de propionato e redução na relação acetato: propionato, devido a melhora na atividade microbiana ruminal na produção de propionato (XUN et al. 2012). Esses mesmos autores relataram que a suplementação de selênio pode aumentar a síntese de proteína microbiana ruminal, devido ao aumento da eficiência da degradabilidade ruminal e melhora da digestão dos nutrientes no trato digestivo total. Por outro lado, Del Razo et al. (2013), estudando níveis de inclusão de selênio em dietas de ovinos, observaram aumento linear na concentração de Se no líquido ruminal, porém, sem efeito sobre o pH e as concentrações de AGV.

Em estudo de Shi et al. (2011), avaliando a suplementação de selênio em dietas de ovinos, observou-se incremento da população microbiana ruminal, o que levou à redução de N amoniacal no rúmen devido ao aumento de sua utilização pelos micro-organismos ruminais. Também foi observado maior crescimento de protozoários ciliados no rúmen de cordeiros suplementados com levedura selenizada em estudo realizado por Mihaliková et al. (2005). Esse incremento de micro-organismos no rúmen é devido ao aumento da resistência e

atividade dos mesmos, pois o selênio é conhecido por atuar como um limpador de radicais livres dentro das membranas celulares, tendo efeito protetor contra os danos oxidativos de lipídeos de membrana (FAIXOVÁ et al. 2007).

2.5 Suplementação de vitamina E

A vitamina E é essencial para as funções corporais tais como crescimento, reprodução, prevenção de várias doenças, proteção da integridade dos tecidos, podendo prevenir a degradação peroxidativa de gordura das células animais e a formação de radicais livres (HATFIELD et al. 2000). A função metabólica da vitamina E está intimamente ligada à do selênio, pois a vitamina E aumenta a retenção de selênio e previne a autooxidação de lipídeos no interior das membranas celulares, evitando a formação de peróxidos. Contudo, somente a glutathione peroxidase pode destruir os peróxidos já formados (SAMÓRA, 2014). Portanto, ambos têm a função de proteger membranas biológicas da degeneração oxidativa (McDOWELL et al. 1996).

O uso de antioxidantes está ganhando o interesse nas dietas de ruminantes por melhorar a saúde animal e a qualidade dos produtos, sendo que níveis de vitamina E mais elevados do que os recomendados pelo NRC (2001) são muitas vezes utilizados para esses animais (TAGLIAPIETRA et al. 2013). No entanto, os requerimentos de Vitamina E para animais adultos ainda não são bem definidos. Radicais livres altamente reativos são gerados a partir do metabolismo celular normal e a partir da ingestão de certos nutrientes. Estes radicais livres, quando acumulados, são capazes de destruir a integridade das membranas celulares, enzimas e o DNA nuclear (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Antioxidantes servem para estabilizar estes radicais livres, mantendo assim a integridade estrutural e funcional das células. Portanto, antioxidantes são muito importantes para a saúde e capacidade de produção dos animais. Entre os

antioxidantes normalmente consumidos por animais, as vitaminas são de particular importância (CHEW, 1996).

A vitamina E é o principal antioxidante no sangue, solúvel em gordura atua principalmente como um antioxidante no metabolismo de animais (WEI et al. 2015). Reage com os radicais peróxidos produzidos a partir de ácidos graxos poli-insaturados em fosfolípidos da membrana ou lipoproteínas para produzir um hidroperóxido de lipídeo estável (CHEW, 1996). Esta atividade antioxidante da vitamina E na prevenção da peroxidação lipídica é um dos possíveis mecanismos pelo qual a vitamina E melhora a resposta imune (CHEW, 1996). Assim é amplamente utilizada tendo impacto positivo sobre a cor e a estabilidade de lipídeos na carne fresca ou congelada (LIU et al. 1995).

O ambiente ruminal é relativamente livre de oxigênio e adequado para a colonização e crescimento de micro-organismos que são anaeróbios. Contudo, uma pequena quantidade de oxigênio, que é prejudicial para micro-organismos ruminais, pode ir para o rúmen com a saliva, alimentos, água potável e difusão do sangue para dentro do rúmen. Portanto, a suplementação de vitamina E para aliviar os efeitos de oxidação a partir de oxigênio pode ser benéfico para os micro-organismos e, conseqüentemente, contribuir para a digestão dos nutrientes (WEI et al. 2015).

Outro ponto é que certas bactérias ruminais são sensíveis à suplementação de óleo vegetal nas dietas, porque os ácidos graxos insaturados contidos nestes óleos possuem efeitos tóxicos. Dessa forma, suplementação com vitamina E pode neutralizar as alterações nas vias de biohidrogenação promovendo o crescimento e a função de bactérias produtoras de *trans*-11 (JUÁREZ et al. 2010).

No entanto, quando a suplementação com ácidos graxos insaturados excede a capacidade de biohidrogenação, o crescimento bem como a funções das bactérias ruminais são prejudicados. A vitamina E pode influenciar as vias de

biohidrogenação ruminal de AGPI, agindo como um inibidor de crescimento e função das bactérias produtoras de C18:1 *trans*-10 no rúmen, o que teria impacto sobre o perfil de ácidos graxos (JUÁREZ et al. 2010; POTTIER et al. 2006). Além disso, pode agir como acceptor de elétrons pelo *Butyrivibrio fibrisolvens* (POTTIER et al. 2006), o que poderia reduzir a biohidrogenação de ácidos graxos ômega-3.

Em experimento *in vitro*, a suplementação de 15-30 UI/kg MS de Vitamina E aumentou a taxa de desaparecimento de MS e a utilização da proteína bruta da dieta. Já a dose de 30 UI/kg de MS aumentou a produção total de AGV e de propionato e tendeu a aumentar acetato e butirato (WEI et al. 2015). Em outro estudo *in vitro*, realizado por Naziroglu et al. (2002), a suplementação de 0,8 mg de Vitamina E aumentou as concentrações de acetato e propionato no período de 24 h de incubação, em comparação ao controle. Neste estudo, as contagens totais de protozoários do rúmen e os níveis de nitrogênio amoniacal em 6, 12 e 24 h também foram maiores no grupo suplementado com Vitamina E, indicando que a suplementação dessa vitamina pode aumentar o número de protozoários no rúmen e níveis de nitrogênio amoniacal.

REFERÊNCIAS

BATEMAN, H.G.; JENKINS, T.C. 1998. 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.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A; GRIINARI, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated acid in ruminants. **Proceedings of American Society of Animal Science**, v.4, n.1, p. 01-15.

BEAM T. M.; JENKINS, T. C.; MOATE P. J. 2000. Effects of amount and source of fat on therates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. **Journal of Dairy Science**.83, 2564–2573.

CHEW, B. P. 1996. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. **Animal Feed Science Technology**. v. 59, p. 103-114.

DEL CLARO, G.R.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; VILELA, F.G.; MELO, M.P.; CORREA, L.B.; FREITAS JR. J. E. 2013. Efeito da suplementação de cobre e selênio na dieta de novilhos Brangus sobre o desempenho e fermentação ruminal. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 65, n.1, p. 255-261.

DEL RAZO, R. O. E.; RAMIREZ B. J. E.; LOPEZ, A. R.; REVILLA, V. A.L.; GONZALEZ, M. S. S.; COBOS, P. M. A.; HERNANDEZ, C. L. M.; MCDOWELL, L. R. 2013. Effects of dietary level of selenium and grain on digestive metabolism in lambs. **Czech Journal Animal Science**, v. 58, n. 6, p. 253–261.

DEVORE, V. R., G. L. COLNAGO, L. S. JENSEN, AND B. E. GREENE. 1983. Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium supplemented diet. **Journal Food Science** v.48, p.300–301.

DOREAU M.; CHILLIARD Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**. v.78 (Suppl. 1), p.15–35.

DOREAU, M. 2011. Biohidrogenação Ruminal de Ácidos Graxos, IN: **Simpósio internacional avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes**, p.46-58.

EUN, J.-S.; DAVIS, T. Z.; VERA, J. M. †; MILLER, D. N.; PANTER, K. E. ‡; ZOBELL, D. R. †. 2013. A addition of high concentration of inorganic selenium in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) hay diet does not interfere with microbial fermentation in mixed ruminal microorganisms in continuous cultures. **The Professional Animal Scientist**. v. 29, p. 39–45.

FAIXOVA, Z., FAIX, S., LENG, L., VACZII, P., MAKOVA, Z., SZABOOVA, R. 2007. Haematological, blood and rumen chemistry changes in lambs following supplementation with Se-yeast. **Acta Veterinaria Brno**. v. 76, p. 3–8.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 1997; 43(1): 61-8.

GIERUS, M. 2007. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1212-1220.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. 1989. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. **Free radicals in biology and medicine**, v. 2, p. 188-218.

HATFIELD, P.G., DANIELS, J.T., KOTT, R.W., BURGESS, D.E., EVANS, T.J., 2000. Role of supplemental vitamin E in lamb survival and production: a review. **Journal of Animal Science**. 77, 1–9.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. 2006. Fat Supplements Affect Fractional Rates of Ruminal Fatty Acid Biohydrogenation and Passage in Dairy Cows. **The Journal of Nutrition**. v. 136, n. 3, p. 677-685.

HESS, B. W.; MOSS, G. E.; RULE, D. C. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, p. 188-204,

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

JENKINS, T.C.; ADAMS, C.S. 2002. The biohydrogenation of linoleamide *in vitro* and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. **Journal of Animal Science**. v. 80, p.533–540.

JUÁREZ, M., DUGAN, M. E. R., ALDAI, N., AALHUS, J. L., BASARAB, J. A., BARON, V. S., MCALLISTER, T. A. 2010. Dietary vitamin E inhibits the *trans* 10–18:1 shift in beef backfat. **Canadian Journal of Animal Science**, 90, 9–12.

JUNIPER, D.T.; PHIPPS, R. H.; GIVENS, D. I.; JONES, A. K.; GREEN, C.; BERTIN, G. 2008. Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium enriched yeast. **Journal Animal Science** v.86, p.197–204.

KIM J.; VAN SOEST P. J; COMBS G. F. Jr. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation *in vitro*. **Biological Trace Element Research**, v.56, p.203-213.

KNIGHT, T.W.; KNOWLES, S.; DEATH, A.F. 2003. Factors affecting the variation in fatty acid concentrations in lean beef from grass-fed cattle in New Zealand and the implications for human health. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 46, pp. 83–95.

KOZLOSKI, G.V. 2009. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. – Santa Maria: Ed. Da UFSM, p. 216.

KRUEGER, N. A.; ANDERSON, R. C.; TEDESCHI, L. O.; CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; NISBET, D. J. 2010. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes *in vitro*. **Bioresearch Technology**, 101, 8469–8472.

KRYSL, L. J.; JUDKINS, M. B.; BOHMAN, V. R. 1991. Influence of ruminal or duodenal soybean oil infusion on intake, ruminal fermentation, siet and extent of digestion, and microbial protein synthesis in beef heifers consuming grass hay. **Journal Animal Science**, 69:2585-2590.

KUCUK, O.; HESS, B.W.; RULE, D.C. 2004. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. **Journal Animal Science**, v.82, p.2985-2994.

KUSS, F. 2005. **Agentes oxidantes e Antioxidantes**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LIU, Q.; LANARI, M.C.; SCHAEFER, D.M. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. **Journal of Animal Science** 73, 3131–3140.

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

MACHADO NETO, O. R.; LADEIRA, M. M.; CHIZZOTTI, M. L.; RAMOS, E.M.; OLIVEIRA, D.M.; LANNA, D. P. D.; RIBEIRO, J. S.; DESCALZO, A. M.; AMORIM, T.R. 2015. Fatty acid profile and meat quality of young bulls fed ground soybean or ground cottonseed and vitamin E. **Animal**. p. 1-11.

MAIA, F. J.; BRANCO, A. F.; MOURO, G. F.; CONEGLIAN, S. M.; SANTOS, G. T.; MINELLA, T. F.; MACEDO, F. A. F. 2006. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **Revista Brasileira da Zootecnia**, v.35, p. 1496-1503.

MAIA MRG, CHAUDHARY LC, BESTWICK CS, RICHARDSON AJ, MCKAIN N, LARSON TR, GRAHAM IA; WALLACE RJ 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. **BMC microbiology**, v. 10, p. 52.

MANSSON, L.H.; AKESSON, B. 2000. Antioxidative factors in milk. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.103-110.

MARKS, D. J.; NELSON, M. L.; BUSBOOM, J. R.; CRONRATH, J. D.; FALEN, L. 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: II. Fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat. **Journal Animal Science**. V. 82, p. 3611–3616.

MCDOWELL L.R., WILLIAMS S.N., HIDIROGLOU N., NJERU C.A., HILL G.M., OCHOA L., WILKINSON N.S. 1996. Vitamine E supplementation for the ruminant, **Animal Feed Science and Technology**. 60. 273–296.

MIHALIKOVA, K., GRESAKOVA, L., BOLDIZAROVA, K., FAIX, S., LENG, L., KISIDAYOVA, S. 2005. The effects of organic selenium supplementation on the rumen ciliate population in sheep. **Folia Microbiologica**. 50, 353–356.

MONTGOMERY, S. P.; DROUILLARD, J. S.; NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C.; SINDT, J. J. 2008. Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. **Journal Animal Science**. v.86, p.640-650.

NAZIROGLU M, GÜLER T, YÜCE A. 2002. Effect of vitamin E on ruminal fermentation *in vitro*. **Journal of Veterinary Medicine**. Series A 49, 251–255.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2000. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6. ed. Washington, DC: National Academy Press.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2001. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academic Press.

NELSON, M. L., D. J. MARKS, J. R. BUSBOOM, J. D. CRONRATH AND L. FALEN. 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: I. Feedlot performance, carcass traits, appearance, water binding, retail storage, and palatability attributes. **Journal Animal Science**. v. 82, p. 3600-3610.

NELSON, M. L.; BUSBOOM, J. R.; ROSS, C. F.; O'FALLON, J. V. 2008. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed corn finishing diets. **Journal Animal Science** v.86, p.936–948.

OLIVEIRA, R. L., ASSUNÇÃO, D. M. P., BARBOSA, M. A. A. F., LADEIRA, M. M., SILVA, M. M. P., MASCARENHAS, A. G., SNEL-OLIVEIRA, M. V., OLIVEIRA, R. L. 2007. Effect of different fat sources on intake, digestibility and blood urea nitrogen of feedlot water buffalo steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, p. 733–738.

OLIVEIRA, S. G.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. 2004. 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.

ONETTI S, G.; GRUMMER, R. R. 2004. 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.

ONETTI, S. G.; SHAVER, R. D.; MCGUIRE, M. A.; GRUMMER, R. R. 2001. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal Dairy Science** v.84, p.2751-2759.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T.C. 1980. Fat in lactation rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 1-14.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. 2006 Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal: FUNEP, n cap. 10, p. 287-310.

PLASCENCIA, A.; ESTRADA, M.; ZINN, R. A. Influence of free fatty acid content on the feeding value of yellow grease in finishing diets for feedlot cattle. **Journal Animal Science** v.77, p. 2603–2609, 1999.

PARIZA, M.W. 2004. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p. 1132–1136.

POTTIER, J.; FOCANT, M.; DEBIER, C.; DE BUYSSER, G.; GOFFE, C.; MIGNOLET, E.; FROIDMONT, E.; LARONDELLE, Y. 2006. Effect of Dietary Vitamin E on Rumen Biohydrogenation Pathways and Milk Fat Depression in Dairy Cows Fed High-Fat Diets. **Journal Dairy Science** 89:685–692.

ROVER JR., L. HÖEHR, N.F.; e VELLASCO, A. P. 2001. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estress oxidativo. **Química Nova**, v.24, p.112-119.

SAMÓRA, T. S. 2014. **Efeito da suplementação de selênio, vitamina E e óleo de girassol nas respostas imunofisiológicas de vacas Jersey em lactação**, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, Nova Odessa.

SHI, L. G.; XUN, W. J.; YUE, W. B.; ZHANG, C. X.; REN, Y. S.; LIU, Q.; WANG, Q.; SHI, L. 2011. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. **Animal Feed Science Technology** 163:136–142.

SHINGFIELD, K. J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J. M. 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. **British Journal of Nutrition**. V. 99, p. 971–83.

TAMMINGA, S.; DOREAU, M. 1991. Lipids and rumen digestion. In: **Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion**. Ed. JOUANY, J. P. pp. 151±163. Paris: INRA.

TAGLIAPIETRA F., CATTANI M., HANSEN H.H., BITTANTE G., SCHIAVON S. 2013. High doses of vitamin E and vitamin C influence *in vitro* rumen microbial activity. **Animal Feed Science and Technology**, 183, 210–214.

UDEN, P. C.; BOAKYE, H. T.; KAHAKACHCHI, C.; TYSON, J. F. 2004. Selective detection and identification of Se containing compounds—review and recent developments. **Journal of Chromatography**, v.1050, p. 85–93.

VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; PAULO ROBERTO LEME, P. R.; SILVA, S. L.; CUNHA, J. A. 2005. Fontes de Lipídeos e Monensina na Alimentação de Novilhos Nelore e sua Relação com a População de Protozoários Ciliados do Rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v. 34, n. 4, p. 1418-1423.

VARGAS L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A. B. 2002. Adição de lipídeos na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529.

WEI, C.; LIN, S.X.; WU, J.L.; ZHAO, G.Y.; ZHANG, T.T.; ZHENG, W.S. 2015. Effects of supplementing vitamin E on *in vitro* rumen gas production, volatile fatty acid production, dry matter disappearance rate, and utilizable crude protein. **Czech Journal of Animal Science.**, 60, (8): 335–341.

XUN, W.; SHI, L.; YUE, W.; ZHANG, C.; REN, Y.; LIU, Q. 2012. Effect of high dose nano-selenium and selenium-yeast on feed digestibility, rumen fermentation and purine derivatives in sheep. **Biological Trace Element Research.**, v. 150(1-3). p. 130-136.

ZINN, R. A. 1989. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for steers: Feedlot cattle growth and performance. **Journal Animal Science** v. 67, p.1029–1037.

ZINN, R.A.; GULATI, S.K.; PLASCENCIA, A.; SALINAS, J. 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. **Journal Animal Science** 78:1738.

ZINN, R.A.; JORQUERA, A.P. 2007. Feed value of supplemental fats used in feedlot cattle diets. **Veterinary Clinics Food Animal**, v.23, p.247-268.

CAPÍTULO 1

PARTIÇÃO DA DIGESTÃO E ESCAPE RUMINAL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE SOJA, VITAMINA E E SELÊNIO ORGÂNICO

RESUMO

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade no trato digestivo total, os parâmetros ruminiais, a degradabilidade da MS e o escape ruminal de AGCL em novilhos suplementados com 6% de óleo de soja (OS), selênio orgânico (Se) e vitamina E (V). Foram utilizados cinco animais canulados no rúmen, distribuídos em um delineamento em quadrado latino 5×5. As dietas foram formuladas para ganho de peso de 1,3 kg/dia e os níveis de suplementação de V e Se foram, respectivamente, 1.500 UI/dia e 5 g/dia via cânula ruminal. Os tratamentos foram: SLA (sem lipídeo adicional); OS (6% de OS); OS+V (6% de OS + V); OS+Se (6% de OS + Se); OS+Se+V (6% de OS + Se + V). A suplementação com OS diminuiu o consumo de MS (P=0,02), MS em relação ao peso vivo (g/kg PV; P<0,01), MO (P=0,05), PB (P=0,02), FDN (P=0,01), cinzas (P=0,05) e CNF (P<0,01). Porém, maior consumo de EE foi verificado para essas dietas (P<0,01). As dietas OS diminuíram a digestibilidade total da MS (P=0,05), MO (P=0,05), CNF (P=0,04) e digestibilidade total da FDN (P<0,01). E aumentou a digestibilidade total do EE (P<0,01;). A fração B e a degradabilidade potencial da silagem de milho e do capim napier foram maiores para a dieta SLA em relação às outras dietas (P≤0,01). Os valores médios de pH ruminal tenderam aumentar com a suplementação de lipídeos, (P=0,06), e os valores máximos foram maiores para essas dietas. Entretanto, o pH caiu após a alimentação dos animais (P< 0,01). As dietas não afetaram a eficiência de síntese de proteína microbiana, no entanto a adição de óleo diminuiu a excreção de N microbiano (P=0,01). A concentração de N-NH₃ não foi afetada pelas dietas experimentais, porém foi influenciada pelo tempo após a alimentação matinal dos animais. A suplementação com lipídeo tendeu a diminuir a relação acetato:propionato (P=0,08), e o Se nas dietas com óleo aumentou as concentrações dos principais AGVs no rúmen. As dietas OS diminuíram a contagem de protozoários totais (p<0,01), e alterou a maioria dos AGCL que passou do rúmen para o omaso, diminuindo os ácidos C12:0, C14:0, C15:0, C16:0 (P<0,01), C17:0 (P=0,02), C18:0 (P<0,01), C18:2 *cis* 9,12 (P=0,01), aumentando o C18:1 *trans*-9 (P=0,02) e o C18:2 *trans*-10 *cis*-12 (P<0,01). A adição de óleo diminuiu a concentração de AGPI em relação à dieta SLA, porém, a suplementação de Se tendeu a aumentar a concentração destes (P=0,07) e do ácido linoleico (C18:2 *cis* 9,12; P=0,07).

Palavras-chave: Ácido linoleico conjugado. Biohidrogenação. Eficiência microbiana ruminal. Lipídeos.

ABSTRACT

In this work, the consumption, the digestibility aimed to value in the total digestive treatment, you chew the parameters, the degradabilidade of the MS and the leak ruminal of AGCL in young bulls supplemented with 6 % of oil of soy (THEM), organic selenium (If) and vitamin E (V). Five animals were used canulados in the rumen, distributed in a delineation in Latin square 5×5. The diets were formulated for profit of 1,3 kg / day weight and the levels of suplementação of V and 1.500 went away, respectively, Ouch / day and 5 g/dia was seeing cânula ruminal. The treatments were: SLA (without lipídeo additional); (6 % of THEM); OS+V (6 % of THEM + V); OS+Se (6 % of THEM + If); OS+Se+V (6 % of THEM + If + V). The suplementação with THEM reduced the consumption of MS (P=0,02), MS regarding the lively weight (g/kg PV; P <0,01), MILLSTONE (P=0,05), PB (P=0,02), FDN (P=0,01), ashes (P=0,05) and CNF (P <0,01). However, bigger consumption of EE was checked for these diets (P <0,01). The diets reduced THEM the total digestibility of the MS (P=0,05), MILLSTONE (P=0,05), CNF (P=0,04) and total digestibility of the FDN (P <0,01). And it increased the total digestibility of the EE (P <0,01). The fraction B and the potential degradabilidade of the ensilage of corn and of the grass napier they were bigger for the diet SLA regarding other diets (P≤0,01). The middle values of pH ruminal tended to increase with the suplementação of lipídeos, (P=0,06), and the very values were bigger for these diets. Meantime, the pH fell after the food of the animals (P <0,01). The diets did not affect the efficiency of synthesis of microbial protein, however the addition of oil reduced the excretion of N microbial (P=0,01). The concentration of N-NH₃ was not affected by the experimental diets, however it was influenced by the time after the morning food of the animals. The suplementação with lipídeo had a tendency to reduce the relation acetato:propionato (P=0,08), and it If in the diets with oil it increased the concentrations of main AGVs in the rumen. The diets reduced THEM the counting of protozoários totals (p <0,01), and it altered most of the AGCL that passed of the rumen for the omaso, reducing the acids C12: 0, C14:0, C15:0, C16:0 (P <0,01), C17:0 (P=0,02), C18:0 (P <0,01), C18:2 cis 9,12 (P=0,01), increasing the C18:1 trans-9 (P=0,02) and the C18:2 trans-10 cis-12 (P <0,01). The oil addition reduced the concentration of AGPI regarding the diet SLA, however, the suplementação of one tended to increase the concentration of these (P=0,07) and of the acid linoleico (C18:2 cis 9,12; P=0,07).

Keywords: Acid linoleico conjugated. Biohidrogenação. Microbial efficiency ruminal. Lipídeos.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da densidade energética em dietas de terminação é estratégia eficiente para melhorar a eficiência alimentar em bovinos de corte. Esse aumento pode ocorrer pela utilização de fontes de carboidratos não fibrosos ricos em amido ou pela suplementação com fontes lipídicas, proporcionando bons resultados no desempenho de bovinos em terminação (NELSON et al. 2004). Além disso, a inclusão de fontes de ácidos graxos poli-insaturados em dietas de ruminantes tem o objetivo de melhorar o valor nutricional dos lipídeos presentes no leite e na carne (MACHADO NETO et al. 2015; SHINGFIELD et al. 2008). Esse interesse ocorreu devido à descoberta dos efeitos nutraceuticos de certos ácidos graxos sobre a saúde humana, como o ácido linoleico conjugado (CLA) (DOREAU, 2011; LOURENÇO et al. 2010; MARKS et al. 2004).

As pesquisas mostram que é possível, mediante alterações nas dietas, manipular o valor nutricional dos produtos de origem animal, tornando-os benéficos à saúde humana. No entanto, a suplementação de lipídeos (MONTGOMERY et al. 2008), o fornecimento de vitamina E (POTTIER et al. 2006) e de selênio (XUN et al. 2012) podem alterar a fermentação e digestibilidade dos nutrientes no rúmen. Altas inclusões de lipídeos nas dietas podem reduzir o consumo de MS, a digestibilidade da fibra e o crescimento microbiano. Em contrapartida, experimentos têm sido realizados para avaliar o efeito do selênio sobre a fermentação ruminal e digestão de nutrientes (KIM et al. 1997; SHI et al. 2011), crescimento de micro-organismos ruminais (EUN et al. 2013), vitamina E e selênio sobre a produção de ácidos graxos voláteis (SHI et al. 2011; WEI et al. 2015), observando-se melhora destes parâmetros, podendo desse modo complementar o uso de fontes lipídicas em dietas de ruminantes.

A suplementação de selênio em dietas de ovinos aumentou a concentração de AGV em mM no rúmen e mudou o padrão de fermentação

ruminal, com a redução no pH, aumento na produção de propionato e redução na relação acetato: propionato (XUN et al. 2012). Também foi verificado neste trabalho que essa suplementação pode aumentar a síntese de proteína microbiana ruminal, devido ao aumento da eficiência da degradabilidade ruminal e melhora da digestão dos nutrientes. Certas bactérias ruminais são sensíveis à suplementação de óleo vegetal nas dietas, porque os ácidos graxos insaturados contidos nestes óleos possuem efeitos tóxicos. No entanto, a vitamina E pode influenciar as vias de biohidrogenação ruminal de AGPI, agindo como um inibidor de crescimento de bactérias produtoras de C18:1 *trans*-10 no rúmen, o que teria impacto sobre o perfil de ácidos graxos (JUÁREZ et al. 2010; POTTIER et al. 2006). Além disso, pode agir como acceptor de elétrons pelo *Butyrivibrio fibrisolvens* (POTTIER et al. 2006), o que poderia reduzir a biohidrogenação de ácidos graxos ômega-3.

Diante disso, objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade total, a degradabilidade ruminal e o escape ruminal de ácidos graxos de dietas contendo 6% de óleo de soja, com ou não a suplementação de selênio e vitamina E.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais envolvendo os animais seguiram os preceitos éticos para estudos com animais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade sob o protocolo 023/2014.

2.1 Animais, instalações e delineamento experimental

O experimento foi realizado no Setor de Bovinocultura de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizados cinco novilhos da raça Tabapuã canulados no rúmen, com peso vivo médio inicial de $398 \pm 28,7$ kg. Os animais foram alojados em baias individuais com bebedouros automáticos e cochos de alvenaria. O processo de fistulação seguiu a técnica descrita por Muzzi et al. (2009).

Os animais foram identificados, pesados, tratados contra endo e ectoparasitas (Dectomax®, Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda., Brasil) e distribuídos aleatoriamente a uma sequência de 5 tratamentos em delineamento quadrado latino 5×5 . Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo os 14 dias iniciais para adaptação às dietas e sete dias de coleta de dados. Os animais foram alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia, às 7h e 17h, permitindo um mínimo de sobras de no mínimo 5 %.

2.2 Dietas e alimentação

As dietas foram formuladas para atender as exigências dos animais segundo o NRC (2000) (Tabela 1), para ganho de peso de 1,3 kg/dia e os níveis de suplementação de vitamina E (MICROVIT E PROMIX 50, Adisseo Brasil

Nutrição Animal Ltda. São Paulo, Brasil) e selênio orgânico (SEL-PLEX, ALLTECH do Brasil Agroindustrial Ltda. Paraná, Brasil) foram, respectivamente, 1.500 UI/cabeça/dia e 5 g/dia do produto, fornecidos em cartuchos de papel via cânula ruminal, representando os seguintes tratamentos: SLA (sem lipídeo adicional); OS (6% de óleo de soja); OS+V (6% de óleo de soja + Vitamina E); OS+Se (6% de óleo de soja + Selênio); OS+V+Se (6% de óleo de soja + Vitamina E + Selênio).

A proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica das dietas experimentais estão apresentados na Tabela 1 e o perfil de ácidos graxos na Tabela 2.

Tabela 1- Composição de ingredientes e nutrientes das dietas experimentais.

Ingredientes	% da MS				
	SLA	OS	OS+V	OS+Se	OS+V+Se
Silagem de Milho	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0
Milho Integral	48,8	39,3	39,3	39,3	39,3
Farelo de Soja	14,4	14,4	14,4	14,4	14,4
Farelo de Glúten Milho	-	3,50	3,50	3,50	3,50
Óleo de Soja	-	6,00	6,00	6,00	6,00
Núcleo Mineral*	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Nutrientes					
Proteína Bruta	12,4	12,4	12,4	12,4	12,4
Fibra em Detergente Neutro	27,2	27,2	27,2	27,2	27,2
Carboidratos Não Fibrosos	53,2	47,3	47,3	47,3	47,3
Extrato Etéreo	3,00	8,80	8,80	8,80	8,80
Cinzas	4,15	4,21	4,21	4,21	4,21

*Níveis de garantia por quilograma do produto: Ca: 200g; P: 40g; S: 10g; F: 400 mg; Na: 125 g; Mg: 5.000 mg; Zn: 2.260 mg; Cu: 619,5 mg; Fe: 224 mg; Mn: 902 mg; Co: 22 mg; I: 42 mg; Se: 14 mg.

Tabela 2 - Perfil dos principais ácidos graxos das dietas experimentais, sem lipídeo adicional (SLA), e com óleo de soja (OS) (g/100g de ácidos graxos).

Ácidos graxos		Dietas	
		SLA	OS
Mirístico	C14:0	0,444	0,475
Palmítico	C16:0	12,9	13,0
Palmitoleico	C16:1 <i>cis</i> 9	nd*	0,004
Heptadecanoico	C17:0	nd*	0,005
Esteárico	C18:0	5,32	5,19
Oleico	C18:1 <i>cis</i> 9	26,2	24,9
Linoleico	C18:2 <i>cis</i> 9, 12	35,7	36,4
Alfa-Linolênico	C18:3 <i>cis</i> 9, 12, 15	1,00	2,29
EPA	C20:5 <i>cis</i> 5, 8, 11, 14, 17	nd*	0,008
Outros ácidos graxos	-	18,4	17,7

*nd - não detectado.

2.3 Coleta de dados e de amostras

Os animais foram pesados no 10º dia de cada período experimental, depois de jejum alimentar de 16 horas. A partir desse dia, quantidades de dieta oferecida, de sobra alimentar e amostras da silagem de milho, dos ingredientes do concentrado foram coletadas diariamente e congeladas a -20 °C até o 21º dia. Uma amostra composta por animal em cada período foi formada com base em quantidades idênticas de matéria natural. Estas amostras foram pré-secadas em estufa ventilada por 72 horas a 55°C, trituradas em peneira com crivos de 1 mm em moinho do tipo Thomas-Willey, e uma subamostra foi desidratada a 100°C por 24 horas para determinação do teor de MS. A proteína bruta (PB) foi analisada por um destilador a vapor do tipo Microkjeldhal (AOAC, 1990). A determinação de extrato etéreo (EE) foi realizada após extração com éter de petróleo em extrator contínuo de Soschlet, segundo a AOAC (1990). As cinzas

foram determinadas por incineração da amostra a 550°C por 8 horas. O teor de FDN foi analisado por um determinador de fibra TE-149 (TECNAL, Piracicaba, Brasil).

2.4 Digestibilidade total dos nutrientes

Para quantificação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes no trato digestivo total foram realizadas coletas totais de fezes nos dias 15°, 16° e 17° de cada período experimental. Ao final de cada dia de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e uma amostra, de aproximadamente 250 gramas, retirada. Estas amostras foram pré-secadas em estufa ventilada por 72 horas a 55°C, trituradas em peneira com crivos de 2 mm em moinho do tipo Thomas-Willey e uma amostra composta foi feita por animal, em cada período, com base no peso pré-seco total referente a cada dia de coleta.

O cálculo da digestibilidade total foi realizado utilizando a quantidade média consumida de matéria seca (MS) e nutriente nos dias 14°, 15° e 16° de cada período experimental, e a quantidade média de fezes e nutrientes excretados, durante os três dias de coleta de fezes. Para cálculo das digestibilidades parciais ruminal e intestinal foi utilizada a coleta omasal. A determinação do fluxo de matéria seca omasal foi realizada utilizando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador da fase sólida. As coletas da digesta omasal foram realizadas nos dias 18°, 19° e 20° de cada período experimental, sendo a primeira coleta antes da alimentação matinal dos animais (Tempo 0) e as demais realizadas a cada 09 horas. Assim os horários das coletas foram: 7h e 16h no dia 1; 01h, 10h e 19h no dia 2; 4h, 13h e 22h no dia 3, simulando 24 horas de coletas com intervalos de 3 horas (ALLEN e LINTON, 2007).

A coleta da digesta omasal foi realizada introduzindo-se no rúmen, através da fístula ruminal, uma das extremidades do tubo coletor, conduzindo-o em direção ao orifício retículo-omasal, até que a parte inicial ultrapassasse o referido orifício, onde foi mantido seguro com a mão durante o período da coleta. A outra extremidade do tubo coletor foi adaptada em uma das aberturas do kitassato e a mangueira de bomba a vácuo, na outra abertura do mesmo. No momento da coleta, a bomba a vácuo foi acionada e, por sucção, a digesta foi coletada através da mangueira até o kitassato (PUNIA et al. 1988). Uma amostra de digesta de aproximadamente 500 mL foi obtida por coleta de cada animal. As amostras coletadas foram acondicionadas em potes plásticos e congeladas a -20°C, para formação de amostras compostas de cada animal no final do período experimental, para posteriores análises.

Para calcular o coeficiente de digestibilidade ruminal (CDR) foi utilizada a quantidade média consumida e a quantidade estimada de MS e nutrientes no líquido omasal. Para o cálculo da digestibilidade intestinal, utilizou-se a quantidade de MS e nutrientes analisada no líquido omasal e a quantidade de MS e nutrientes nas fezes.

2.5 Degradabilidade ruminal da matéria seca e da fibra em detergente neutro

No 12º dia de adaptação às dietas foi realizado um ensaio de degradabilidade ruminal da silagem de milho (31% MS, 6,9% PB, 50,3% de FDN) e amostra de *Pennisetum purpureum* cultivar napier (21,9% MS, 7,43% PB, 77,4 % de FDN), com o intuito de avaliar a influência do alto teor de óleo sobre a degradabilidade da matéria seca destes alimentos.

Amostras dos três ingredientes foram moídos a 2 mm e 1,4 g foram acondicionados em saquinhos de TNT, respeitando a relação de 20 mg/cm² (NOCEK, 1988). Os saquinhos, com medidas de 7,0 x 5,0 cm e tamanho médio

do poro de 36 micra, em triplicatas/animal/tempo de incubação, foram incubados diretamente no rúmen de cada animal em sacos de náilon, em ordem decrescente de 96, 72, 48, 36, 24, 12, 6 e 0 horas.

Ao final do ensaio de degradabilidade *in situ*, todos os sacos foram retirados do rúmen e, juntamente com os sacos do tempo zero, lavados em água corrente, até que a água ficasse completamente limpa. Os resíduos remanescentes das incubações foram secos em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 48 h e armazenados para serem analisados, a fim de se determinar as variáveis em estudo. Os dados sobre desaparecimento da MS foram calculados baseando-se na diferença entre o peso incubado e os resíduos após a incubação.

2.6 Análises químico-bromatológicas

As análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) das dietas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFLA, de acordo com AOAC (1990). As concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) foram analisadas segundo o procedimento descrito por Van Soest et al. (1991). Os carboidratos não fibrosos foram obtidos pela expressão $CNF = [100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \%Cinzas)]$, segundo o NRC (2001).

2.7 Eficiência de síntese de proteína microbiana

A urina foi coletada durante os dias 15º, 16º e 17º de cada período experimental, utilizando-se funis coletores, conectados à mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até um recipiente de plástico contendo 200 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 20%. Ao término do período de 24 horas, de cada dia de coleta, a urina foi pesada e quantificado seu volume,

homogeneizada, amostrada e armazenada em frascos plásticos a -20°C para quantificação de derivados de purinas.

Amostras de 20 mL de urina foram utilizadas para análise dos derivados de purinas (ácido úrico e alantoína). As análises de alantoína e de ácido úrico foram feitas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina e expressas em mmol/dia. As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (Y, mmol/dia), por intermédio da equação $Y = 0,85X + 0,385$ PV0,75, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e 0,385 PV0,75, a contribuição endógena para a excreção de purinas segundo Verbic et al. (1990), citados por Chen e Gomes, (1992).

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Y, gN/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação descrita por Chen e Gomes, (1992): $Y = 70x/0,83x0,116x1000$, em que 70 é o conteúdo de N de purinas (mgN/mol); 0,116, a relação N purina:N total nas bactérias, e 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas.

2.8 Nitrogênio amoniacal, pH ruminal e AGV's

Foram realizadas coletas de líquido ruminal no 21º dia do período experimental com o objetivo de determinar os valores de pH, nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e ácidos graxos voláteis (AGV) num intervalo de 2 em 2 horas. Amostras de conteúdo ruminal foram coletadas manualmente do saco ventral dos animais, nos tempos 0 (antes da alimentação), 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a alimentação matinal.

Aproximadamente 400 mL de conteúdo ruminal foram coletados e filtrados em dupla camada de gaze. O pH do fluido foi imediatamente mensurado por meio de peagâmetro digital. Duas amostras de 30 mL do fluido ruminal, de cada horário, foram destinadas para análise de AGV e N-NH₃, respectivamente. As amostras para AGV foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -20 °C para posterior análise. As amostras para N-NH₃ foram acidificadas com 1,0 mL de ácido sulfúrico a 20%, para que ocorresse a interrupção da fermentação ruminal e armazenadas a -20 °C, para posterior análise.

As amostras de AGV foram preparadas como descrito por Filipek e Dvorak (2009) e analisadas por cromatografia gasosa. Aproximadamente 2,0 mL de fluido do rúmen foi centrifugado (13.000 x g; 15 min; 4 ° C; Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, CT, EUA) com ácido fórmico a 98-100% (Merck KGaA). Após centrifugação, cerca de 0,5 mL de sobrenadante foi transferido para frascos de cromatográficos. A concentração de AGV foi determinada por injeção de 0,5 mL de amostra no cromatógrafo em fase gasosa (GC HP 7890A; Injector HP 7683B, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 15 m; 0,320 milímetro; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies Inc; Palo Alto, CA, EUA). O gás transportador foi hélio a uma taxa de fluxo de 1 mL/min. O programa de temperatura do forno foi de 1 min a 60 °C, seguido por um aumento para 200 °C a uma taxa de 5 °C/min. A temperatura do injetor foi 270 °C, e o detector de temperatura foi 300 °C. A amostra foi injetada num sistema de divisão/splitless (split proporção 1:10). A curva de calibração foi feita utilizando padrões cromatográficos (Serviço Chem, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (99,5%; CAS 64-19-97), ácido propiônico (99%; CAS 79-09-4), ácido isobutírico (99%; CAS 79-31-2), ácido butírico (98,7%; CAS 107-92-6), ácido isovalérico (99%; CAS 503-74-2) e de ácido valérico (99%; CAS 109- 52-4).

A concentração de N-NH₃ foi obtida após destilação de Kjeldahl, conforme técnica descrita pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Ciência Animal (INCT, 2012).

2.9 Análises de ácidos graxos de cadeia longa

O perfil de ácidos graxos do conteúdo omasal foi determinado pelo método de extração de Folch, et al. (1957), a gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). Para o processo de metilação foram utilizados dois padrões internos, o ácido esteárico (C18:0) e o ácido nonadecanoico (C19:0) para quantificação das perdas do processo.

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC-2010 Plus - Shimadzu, autoinjeter AOC 20i), usando a coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70°C, com aquecimento progressivo (13°C/min) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto foi iniciado até 215°C, mantendo durante 31 minutos. Hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm³ /s.

2.10 Análises estatísticas

Os dados referentes aos consumos, digestibilidades totais, parciais, taxas de degradação, AGV, protozoários e AG de cadeia longa foram analisados, utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (versão 9.4), em que as dietas e período representaram o efeito fixo do modelo, enquanto que animal representaram os efeitos aleatórios.

$$Y_{ijk} = \mu + A_j + P_y + D_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, ($i = 1$ a 5), A_j = efeito aleatório de animal ($j = 1$ a 5), P_y = efeito fixo de período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito fixo de dieta ($k = 1$ a 5), e_{ijk} = erro.

Os dados relativos ao pH e nitrogênio amoniacal foram analisados como medida repetida no tempo por intermédio do procedimento MIXED do SAS (versão 9.4). Os efeitos fixos considerados foram a dieta, o período e o tempo de coleta e a interação entre dieta x tempo. Animal foi considerado como efeito aleatório no modelo.

$$Y_{ijkl} = \mu + A_j + P_y + D_k + e_{ijk} + T_l + D*T + e_{lk}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente, μ = média geral, ($i = 1$ a 5), A_j = efeito aleatório de animal ($j = 1$ a 5), P_y = efeito aleatório de período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito fixo de dieta ($k = 1$ a 5), e_{ijk} = erro1, T_l = efeito fixo de tempo ($l = 1$ a 7), e_{lk} = erro2.

Os contrastes ortogonais foram usados para testar o efeito da adição de óleo (SLA vs OS, OS+V, OS+Se e OS+V+Se), efeito da vitamina E (OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se), efeito do selênio (OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V) e efeito da associação de vitamina E e selênio (OS+V+Se vs OS+Se e OS+V). Diferenças foram consideradas significativas a $P < 0,05$ e tendência $0,06 \leq P < 0,10$.

3 RESULTADOS

Não foram observados efeitos da associação de selênio e vitamina E (OS+V+Se *vs* OS+V e OS+Se) para consumo de MS e nutrientes. A suplementação com óleo de soja diminuiu o consumo de MS (P=0,02), consumo de MS em relação ao peso vivo (g/kg PV; P<0,01), matéria orgânica (P=0,05), proteína bruta (P=0,02), fibra em detergente neutro (P=0,01), cinzas (P=0,05) e carboidrato não fibroso (P<0,01) quando óleo de soja foi adicionado às dietas (Tabela 3). Porém, maior consumo de extrato etéreo foi verificado para as dietas suplementadas com óleo de soja em relação à dieta sem lipídeo adicional (P<0,01).

Tabela 3 Consumo de nutrientes de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.

Item	SLA	Com Vit E		Sem Vit E		EPM	Valor de <i>p</i>			
		Sem Se	Com Se	Sem Se	Com Se		Óleo	Vit.	Se	Conj
CMS, kg	10,6	9,78	9,77	9,76	9,96	0,37	0,02	0,75	0,73	0,76
CMS, g/kg PV	23,1	21,1	21,0	20,9	21,2	0,69	<0,01	0,96	0,87	0,78
CMO, kg	10,8	10,1	9,83	9,99	9,93	0,41	0,05	0,94	0,69	0,70
CPB, kg	1,36	1,26	1,23	1,26	1,26	0,04	0,02	0,74	0,71	0,48
CFDN, kg	3,52	3,22	3,19	3,25	3,16	0,12	0,01	0,98	0,58	1,00
CCZ, kg	0,51	0,48	0,48	0,48	0,46	0,02	0,05	0,6	0,41	0,91
CEE, kg	0,33	0,86	0,84	0,84	0,86	0,03	<0,01	0,94	0,94	0,56
CCNF, kg	5,11	4,27	4,14	4,22	4,24	0,20	<0,01	0,87	0,76	0,60

CMS: Consumo de matéria seca; CPB: consumo de proteína bruta; CFDN: consumo de fibra em detergente neutro; CZZ: consumo de cinzas; CEE: consumo de extrato etéreo; CNF: consumo de carboidratos não fibrosos;

ÓLEO = Efeito OS, OS+V, OS+Se, OS+V+Se vs SLA; VIT E = Efeito OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se; SE = Efeito OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V;

EPM: Erro Padrão da Média.

A suplementação com óleo de soja diminuiu a digestibilidade total da matéria seca ($P=0,05$), matéria orgânica ($P=0,05$), carboidrato não fibroso ($P=0,04$) e digestibilidade total da fibra em detergente neutro ($P<0,01$). Porém, aumentou a digestibilidade total do extrato etéreo ($P<0,01$; Tabela 4).

A digestibilidade ruminal e intestinal da MS, MO não foram influenciadas pela adição de óleo (Tabela 4).

Tabela 4- Digestibilidade total, ruminal e intestinal, porcentagem de nutrientes digestível total de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.

Item	SLA	Com Vit E		Sem Vit E		EPM	Valor de <i>p</i>			
		Sem Se	Com Se	Sem Se	Com Se		Óleo	Vit.	SE	Conj
Digestibilidade Total, g/kg										
DMS	760	717	720	737	730	15,5	0,05	0,32	0,89	0,85
DMO	759	716	719	736	729	15,5	0,05	0,32	0,89	0,85
DPB	755	758	749	751	754	12,1	0,85	0,94	0,79	0,61
DEE	826	904	914	904	867	21,6	<0,01	0,21	0,46	0,22
DCNF	845	808	809	825	814	15,2	0,04	0,40	0,69	0,87
DFDN	639	543	562	593	570	16,3	<0,01	0,09	0,88	0,78
Digestibilidade ruminal, g/kg										
DMS	524	494	465	523	485	15,9	0,09	0,15	0,05	0,22
DMO	523	495	465	523	485	15,8	0,09	0,15	0,05	0,22
DPB	511	485	417	489	459	23,2	0,05	0,26	0,02	0,04
DEE	-56,5	306	159	318	251	53,2	<0,01	0,27	0,03	0,05
DCNF	563	617	587	638	591	34,1	0,15	0,64	0,17	0,60
DFDN	587	501	494	526	502	12,9	<0,01	0,20	0,24	0,62
Digestibilidade intestinal, g/kg										
DMS	236	223	255	214	245	20,5	0,92	0,64	0,13	0,39
DMO	236	221	254	213	244	20,4	0,90	0,65	0,12	0,38
DPB	245	273	332	262	295	26,9	0,05	0,23	0,03	0,06
DEE	882	598	755	586	616	56,0	<0,01	0,09	0,04	0,01
DCNF	282	191	222	187	223	55,9	0,04	0,95	0,29	0,69
DFDN	52,7	42,3	68,3	67,2	67,2	7,79	0,33	0,14	0,11	0,17

DMS: Digestibilidade da matéria seca; DMO: Digestibilidade da matéria orgânica; DPB: digestibilidade da proteína bruta; DEE: Digestibilidade do extrato etéreo; DCNF: Digestibilidade carboidrato não fibroso; DFDN: Digestibilidade da fibra em detergente neutro; NDT: Nutriente digestível total;

ÓLEO = Efeito OS, OS+V, OS+Se, OS+V+Se vs SLA; VIT E = Efeito OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se; SE = Efeito OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V;

EPM: Erro Padrão da Média.

A silagem de milho apresentou fração solúvel (A) próximo de 30,0%, não apresentando diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 5). No entanto, a fração insolúvel potencialmente degradável (B) da silagem de milho

foi maior para a dieta SLA em relação às dietas com OS ($P < 0,01$). Já para o capim Napier, a fração A foi próximo de 26,0% para todas as dietas, no entanto a fração B foi maior para a dieta SLA em relação as demais dietas. A degradabilidade efetiva foi semelhante para todas as dietas nas duas forrageiras. Porém, a degradabilidade potencial dos alimentos foi maior para as dietas SLA (Tabela 5).

Tabela 5 - Frações de degradação de silagem de milho e capim napier no rúmen de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.

Item	SLA	Com Vit E		Sem Vit E		EPM	Valor de <i>p</i>			
		Sem Se	Com Se	Sem Se	Com Se		Óleo	Vit.	Se	Conj
SILAGEM DE MILHO										
A (%)	30,0	31,3	30,6	30,6	31,0	0,96	0,39	0,81	0,85	0,64
B (%)	27,2	21,6	22,1	23,0	21,3	0,97	<0,01	0,78	0,52	0,55
C (%)	42,7	47,1	47,2	46,4	47,8	1,39	<0,01	0,94	0,40	0,85
Kd (%/h)	3,00	3,60	3,20	3,90	3,80	0,48	0,17	0,32	0,55	0,37
DEF 2 (%)	45,6	44,6	43,8	45,4	44,1	1,11	0,17	0,45	0,16	0,56
DEF 4 (%)	41,1	41,2	40,2	41,7	40,6	0,99	0,84	0,53	0,17	0,42
DEF 6 (%)	38,6	39,2	38,2	39,4	38,7	0,93	0,76	0,62	0,21	0,39
DP (%)	57,3	52,9	52,8	53,6	52,2	1,40	<0,01	0,95	0,41	0,84
NAPIER 60 DIAS										
A (%)	26,6	26,6	25,6	26,7	26,6	0,51	0,59	0,25	0,26	0,09
B (%)	33,0	28,6	30,5	29,5	27,2	2,21	0,01	0,35	0,88	0,10
C (%)	40,4	44,9	43,9	43,9	46,3	2,30	<0,01	0,59	0,57	0,29
Kd (%/h)	3,25	3,31	3,51	4,46	3,24	0,33	0,31	0,19	0,13	0,55
DEF 2 (%)	46,7	43,9	44,7	46,4	43,1	2,17	0,13	0,70	0,29	0,44
DEF 4 (%)	41,1	39,1	39,8	41,8	38,6	1,94	0,31	0,51	0,27	0,53
DEF 6 (%)	38,0	36,4	36,9	38,9	36,1	1,71	0,43	0,41	0,25	0,61
DP (%)	59,6	55,1	56,1	56,2	53,7	2,29	<0,01	0,60	0,57	0,29

A: fração solúvel; B: fração potencialmente degradável; C: fração não degradável; Kd: taxa de degradação da fração B nos tempos de incubação; DEF degradabilidade efetiva; DP: degradabilidade potencial;

ÓLEO = Efeito OS, OS+V, OS+Se, OS+V+Se vs SLA; VIT E = Efeito OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se; SE = Efeito OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V;

EPM: Erro Padrão da Média.

Os valores médios de pH ruminal tenderam aumentar com a suplementação de lipídeos, ($P=0,06$; Tabela 6), e os valores máximos foram maiores para as dietas suplementadas com OS. Entretanto, o pH caiu após a alimentação dos animais ($P < 0,01$; Figura 1). As dietas não afetaram a eficiência de síntese de proteína microbiana, no entanto a adição de óleo diminuiu a excreção de N microbiano ($P=0,01$).

A concentração de $N-NH_3$ não foi afetada pelas dietas experimentais, porém foi influenciada pelo tempo após a alimentação matinal dos animais, sendo que o pico na produção de $N-NH_3$ aconteceu 2 horas após a alimentação (Figura 2). A suplementação com lipídeo tendeu a diminuir a relação acetato:propionato ($P=0,08$) no líquido ruminal (Tabela 6). O uso de selênio ou nas dietas com óleo aumentou as concentrações dos principais AGVs no rúmen. A adição de lipídeos nas dietas diminuiu a contagem de protozoários totais ($p < 0,01$).

Tabela 6 - Valores de pH, síntese de proteína microbiana no rúmen, N-NH₃, perfil de ácidos graxos voláteis no conteúdo ruminal e contagem de protozoários totais no rúmen de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.

Item	SLA	Com Vit E		Sem Vit E		EP M	Valor de <i>p</i>			
		Sem Se	Com Se	Sem Se	Com Se		Óleo	Vit.	Se	Conj
pH médio	6,18	6,42	6,30	6,32	6,30	0,12	0,06	0,54	0,40	0,49
pH máximo	6,64	6,88	6,89	6,76	6,89	0,08	0,01	0,50	0,33	0,98
pH mínimo	5,82	6,11	5,84	5,96	5,84	0,13	0,36	0,69	0,19	0,30
N microbiano										
mMol	278	240	194	231	194	25,9	0,01	0,72	0,13	0,16
g /dia	202	175	141	168	141	18,9	0,01	0,72	0,13	0,16
Alantoina (mMol)	257	218	165	196	165	30,4	0,03	0,88	0,24	0,17
Ac. úrico (mMol)	25,4	19,1	18,0	29,8	18,0	3,08	0,20	0,16	0,03	0,93
g Nmic/kg MODR	25,8	27,5	22,0	25,2	22,0	3,23	0,75	0,93	0,31	0,24
g Nmic/kg NDTLL	27,6	30,3	24,0	27,4	24,0	3,66	0,94	0,88	0,37	0,22
N-NH ₃ , mg/dL	6,49	5,77	5,80	5,07	5,80	1,04	0,30	0,74	0,47	0,89
mMol										
Acetato	36,5	30,3	35,6	30,6	35,6	2,62	0,15	0,93	0,04	0,27
Propionato	18,0	16,4	19,1	15,6	19,1	1,67	0,63	0,50	0,04	0,25
Isobutirato	1,05	1,09	1,09	1,12	1,09	0,07	0,40	0,50	0,80	0,75
Butirato	9,99	8,40	9,53	8,34	9,53	0,89	0,13	0,99	0,05	0,45
Isovalerato	1,82	1,98	1,84	1,61	1,84	0,13	0,54	0,76	0,08	0,55
Valerato	2,00	1,60	2,07	1,61	2,07	0,25	0,33	0,66	0,06	0,17
Acetato/Propionato	2,07	1,87	1,90	2,02	1,90	0,09	0,08	0,23	0,64	0,95
Soma	66,4	64,5	66,4	58,4	66,4	5,35	0,70	0,65	0,20	0,98
Cel. 10 ³ /mL										
Protozoário	380,0	50,0	60,0	30,0	40,0	79,7	<0,01	0,79	0,89	0,87

MODR: Matéria orgânica degradável no rúmen; NDTLL: Nutriente digestível total livre de lipídeos;

ÓLEO = Efeito OS, OS+V, OS+Se, OS+V+Se vs SLA; VIT E = Efeito OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se; SE = Efeito OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V;

EPM: Erro Padrão da Média.

Figura 2- Valores médios de pH ruminal após a alimentação dos animais. Letras diferentes representam diferença estatística para o teste pdiff ($P < 0,05$) em relação ao efeito de tempo após a alimentação.

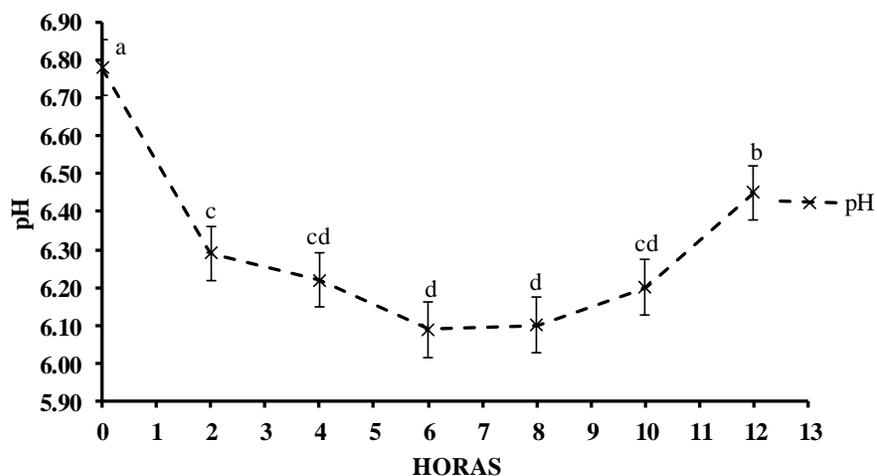
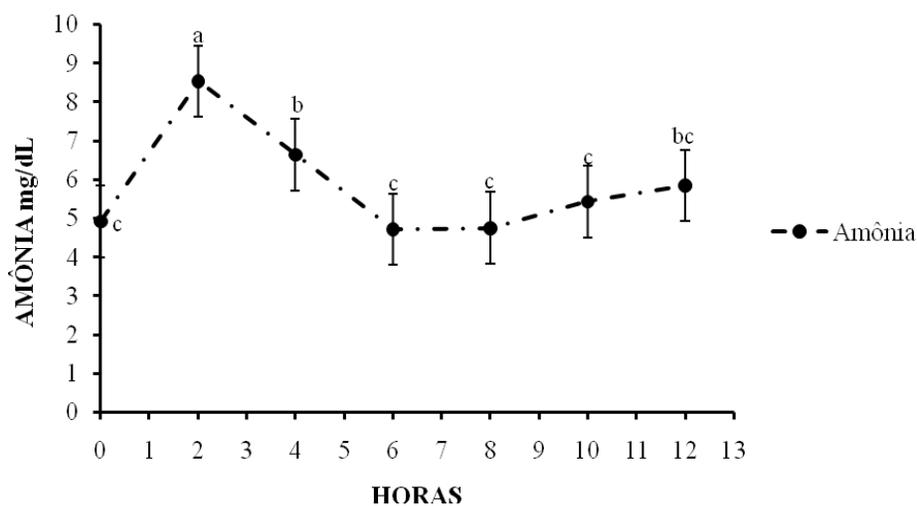


Figura 3 - Valores médios de amônia ruminal após a alimentação dos animais. Letras diferentes representam diferença estatística para o teste pdiff ($P < 0,05$) em relação ao efeito de tempo após a alimentação.



A suplementação com óleo alterou a maioria dos ácidos graxos de cadeia longa que passou do rúmen para o omaso (Tabela 7), diminuindo os ácidos láurico (C12:0; $P < 0,01$), mirístico (C14:0; $P < 0,01$), pentadecanoico (C15:0; $P < 0,01$), Palmítico (C16:0; $P < 0,01$), heptadecanoico (C17:0; $P = 0,02$), oleico (C18:1 *cis*-9; $P < 0,01$), linoleico (C18:2 *cis* 9,12; $P = 0,01$), aumentando o elaídico (C18:1 *trans*-9; $P = 0,02$), e o ácido linoleico conjugado (C18:2 *trans*-10 *cis*-12) ($P < 0,01$). A adição de óleo diminuiu a concentração de AGPI em relação à dieta SLA, porém, a suplementação de selênio orgânico tendeu aumentar a concentração destes ($P = 0,07$) e do ácido linoleico (C18:2 *cis* 9,12; $P = 0,07$).

Tabela 7 - Concentração de ácidos graxos no conteúdo omasal (g/100 g), de novilhos alimentados com óleo de soja, vitamina E e selênio.

Ácidos Graxos	SLA	Com Vit E		Sem Vit E		EPM	Valor de p				
		Sem Se	Com Se	Sem Se	Com Se		Óleo	Vit.	Se	Conj	
Láurico	C12:0	0,35	0,10	0,16	0,14	0,14	0,06	<0,01	0,90	0,58	0,53
Mirístico	C14:0	1,21	0,44	0,47	0,43	0,53	0,11	<0,01	0,80	0,55	0,87
Pentadecanoico	C15:0	0,60	0,15	0,20	0,18	0,29	0,06	<0,01	0,32	0,15	0,85
Palmitico	C16:0	15,6	12,8	13,0	12,4	12,8	0,44	<0,01	0,48	0,57	0,76
Palmitoleico	C16:1 <i>cis</i> -9	0,16	0,07	0,07	0,06	0,05	0,03	0,01	0,64	0,97	0,84
Heptadecanoico	C17:0	0,34	0,22	0,24	0,22	0,22	0,04	0,02	0,75	0,78	0,70
Estearico	C18:0	65,2	68,9	67,8	70,7	66,20	1,79	0,12	0,95	0,13	0,92
Elaídico	C18:1 <i>trans</i> -9	0,27	0,62	0,68	0,47	0,70	0,13	0,02	0,63	0,27	0,91
Octadecanoico	C18:1 <i>trans</i> -10	0,17	2,67	3,30	2,69	2,66	1,51	0,12	0,75	0,75	0,61
Vaccênico	C18:1 <i>trans</i> -11	2,16	1,95	1,92	1,64	2,46	0,37	0,69	0,75	0,30	0,53
Oleico	C18:1 <i>cis</i> -9	3,85	2,33	2,74	1,78	2,36	0,30	<0,01	0,13	0,11	0,29
Linoleico	C18:2 <i>cis</i> 9,12	3,09	1,95	2,25	1,69	2,56	0,31	0,01	0,94	0,07	0,99
Alfa linolênico	C18:3 <i>cis</i> -9,12,15	0,14	0,09	0,13	0,11	0,17	0,04	0,81	0,39	0,16	0,94
Linoleico conj.	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> 11	0,23	0,20	0,18	0,16	0,18	0,07	0,53	0,83	0,96	0,86
Linoleico conj.	C18:2 <i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12	nd [#]	0,05	0,03	0,05	0,03	0,01	0,01	0,64	0,13	0,41
EPA	C20:5 <i>cis</i> -5,8,11,14,17	0,29	0,17	0,21	0,19	0,26	0,04	0,11	0,37	0,21	0,89
AGS	-	84,7	83,7	82,9	85,2	81,4	1,41	0,38	0,99	0,11	0,86
AGI	-	10,3	10,1	10,9	8,89	11,1	1,10	0,94	0,61	0,19	0,79
AGMI	-	6,31	7,04	7,46	6,20	7,14	0,90	0,52	0,52	0,46	0,74
AGPI	-	3,75	2,45	2,80	2,21	3,20	0,35	0,01	0,81	0,07	0,94
AGS/AGI	-	8,37	8,67	8,73	10,20	8,05	1,13	0,67	0,72	0,37	0,78

ÓLEO = Efeito OS, OS+V, OS+Se, OS+V+Se vs SLA; VIT E = Efeito OS+V e OS+V+Se vs OS e OS+Se; SE = Efeito OS+Se e OS+V+Se vs OS e OS+V;

EPM: Erro Padrão da Média.

*Não foi encontrado efeito estatístico para uso em conjunto ou separado de VE e Se.

[#]nd - não detectado.

4 DISCUSSÃO

Os resultados de consumo de MS em dietas de ruminantes suplementadas com lipídeos têm sido inconsistentes na literatura, pois devem ser considerados o tipo e o nível de suplementação lipídica utilizados. No entanto, o consumo de matéria seca diária nesse experimento diminuiu com a suplementação lipídica, devido à menor digestibilidade da MS das dietas suplementadas com OS. Por outro lado, segundo Allen et al. (2009), a liberação de hormônios intestinais e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos podem suprimir a ingestão de alimentos. No entanto, Dhiman et al. (2000) e Duckett e Gillis (2010) não observaram redução de consumo de bovinos alimentados com dietas suplementadas com valores próximos de 4% de óleo. O menor consumo de nutrientes como MO, PB e FDN para as dietas com lipídeos suplementar em relação à SLA é condizente, pois o resultado do consumo de nutrientes é uma combinação do consumo de matéria seca e a concentração do nutriente. O consumo de EE foi maior para as dietas com adição de óleo de soja, o que era objetivo do estudo. Essa maior ingestão de lipídeos provocou o menor consumo de carboidrato não fibroso nas dietas com óleo. Esta alteração é devido à composição dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, em que as dietas com adição de óleo apresentaram 8,8% de EE e 47,3% de CNF contra 3,0 % de EE e 53,2% de CNF na dieta SLA (Tabela 1).

A digestibilidade dos nutrientes pode ser influenciada por uma série de fatores, e isso faz com que resultados na literatura sejam divergentes. Nesse estudo a digestibilidade da MS e MO foram menores para as dietas com lipídeos suplementar; isso foi devido à menor digestibilidade do CNF e da FDN para essas dietas. Um dos principais efeitos da inclusão de lipídeos em dietas para ruminantes é a interferência sobre a fermentação ruminal, que provoca reduções

na digestibilidade dos nutrientes, especialmente da fibra. Altos teores de AGPI recobrem as partículas do alimento e as células bacterianas impedindo a ação dos micro-organismos sobre a superfície da fibra. Além disso, ocasionam efeito tóxico ao alterar a permeabilidade e fluidez da membrana plasmática dos micro-organismos ruminais (KOZLOSKI, 2009; NAGARAJA et al. 1997). Segundo Valinote et al. (2005), a adição de lipídeos na dieta em níveis superiores a 7% da matéria seca pode prejudicar a degradação dos alimentos e, no presente trabalho, as dietas com adição de óleo de soja apresentaram valores de EE acima de 8% da MS. No entanto, a digestibilidade do EE foi maior para as dietas com OS como era esperado, pois segundo Doreau e Chilliard (1997) o aumento de ácidos graxos insaturados de cadeia longa que chegam ao intestino eleva a digestibilidade e a eficiência de absorção do EE.

No ensaio de degradabilidade ruminal da MS as frações B da silagem de milho e do capim napier foram maiores para a dieta SLA em relação à dieta OS; isso pode ser decorrente do alto teor de óleo presente na dieta que complexou substratos, alterando a porosidade dos saquinhos e causando obstrução dos poros (BERAN et al. 2005). Já as degradabilidades potenciais das forrageiras foram menores para as dietas com OS em comparação com a dieta SLA.

A adição de fontes de lipídeos nas dietas de bovinos, como o óleo de soja, eleva as concentrações de C18:2 e, com o processo de biohidrogenação ruminal, promove maior eficiência de aproveitamento de hidrogênio livre no rúmen, o que resulta em maiores valores de pH ruminal (JENKINS e BRIDGES, 2007). Colaborando com esse estudo, onde os valores de pH ruminal foram maiores para as dietas com suplementação lipídica. Entretanto, Schmidely et al. (2008), relataram que o pH ruminal não é afetado pelo consumo de AG ou pela fonte de lipídeos nas dietas. Houve efeito do tempo após alimentação no pH ruminal, o que era esperado. Pois, o aumento do consumo de nutrientes após o

fornecimento da dieta favoreceu a fermentação ruminal, devido à maior ingestão de substrato, assim liberando hidrogênio no meio e reduzindo os valores de pH.

As produções de N microbiano diminuíram com a adição de óleo de soja nas dietas, uma vez que micro-organismos ruminais não obtêm energia oriunda da degradação de triglicerídeos, e o consumo de CNF foi menor para essas dietas em relação à SLA. Desse modo, a substituição de grãos de cereais por lipídeos pode reduzir a disponibilidade de substrato para crescimento microbiano. A queda dos ácidos graxos C15:0 e C17:0 no omaso também representa menor síntese microbiana no rúmen, pois constituem a maior parte dos ácidos graxos da membrana lipídica dos micro-organismos (VLAEMINCK et al. 2005). Todavia, a eficiência de síntese de proteína microbiana com base na MODR e NDTLL, não foi afetada pela suplementação lipídica. A concentração de N-NH₃ não foi afetada pelas dietas experimentais, porém foi influenciada pelo tempo após a alimentação matinal dos animais, sendo que o pico na produção de N-NH₃ aconteceu 2 horas após a alimentação; isso se deu pelo consumo de proteína bruta em relação ao tempo zero e, conseqüentemente, pela maior disponibilidade de nitrogênio advindo da dieta.

Não houve efeito das dietas sobre as concentrações dos principais AGV's, acetato, propionato e butirato em proporção molar. No entanto, houve uma tendência de redução na relação acetato: propionato no líquido ruminal com a adição de OS nas dietas. A adição de selênio nas dietas com OS aumentou a concentração da maioria dos AGV's no rúmen. A adição de lipídeos nas dietas de ruminantes está relacionada com a diminuição da contagem de protozoários do rúmen, o que era esperado com a suplementação de óleo de soja. Pois, estudo com incubações *in vitro* mostrou que os ácidos linoleico e linolênico exercem efeito negativo forte sobre a contagem de protozoários (HRISTOV et al. 2004).

A adição de óleos nas dietas de bovinos leva a ocorrer a biohidrogenação no rúmen pelo processo de autodefesa dos micro-organismos

ruminais, convertendo ácidos graxos insaturados em ácidos graxos saturados, tendo como ácidos graxos intermediários da via o CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) e o ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11) quando o ácido linoleico é biohidrogenado (PALMQUIST e MATTOS, 2006). Nesse estudo, a suplementação com óleo alterou o escape ruminal da maioria dos ácidos graxos de cadeia longa. De forma geral, observou-se redução da passagem de ácidos graxos contendo menos que 16 carbonos para o pós rúmen. Neste contexto, parece haver relação negativa entre as concentrações de ácidos graxos de C4 a C16 e as concentrações de C18 no duodeno (LOOR e HERBEIN, 2003). Esses autores observaram redução das concentrações de C4 a C16 em 83 a 85% em vacas que tiveram o teor de gordura reduzido pela infusão de C18:2 *trans*-10 *cis*-12 no rúmen, e aumento da concentração de C18:0 do leite.

Os resultados de C18:0 e queda dos ácidos graxos insaturados mostraram que a maior ingestão de lipídeos não foi suficiente para inibir a biohidrogenação ruminal, o que pode ter ocorrido devido ao valor de pH ter se mantido elevado. No entanto, houve alteração na rota de biohidrogenação, pois ocorreu aumento do escape de C18:1 *trans*-10 e do ácido linoleico conjugado (C18:2 *trans*-10 *cis*-12). Segundo Bauman e Griinari, (2003), essa mudança ocorre em dietas com baixos níveis de forragem e redução do pH ruminal, e consequentemente mudança na população de bactérias ruminais. Porém, em estudo de Loor et al. (2004), com relação forragem:concentrado de 35:65, semelhante à desse experimento, e suplementação de 3% de óleo de linhaça foi suficiente para elevar a concentração de C18:1 *trans*-10 no duodeno dos animais. Os autores propuseram que as mudanças nas vias de biohidrogenação em dietas com maior proporção de concentrado é mais dependente a mudanças no teor de amido das dietas do que o pH ruminal.

A biohidrogenação pode ocorrer de forma completa e incompleta. Sendo considerada completa quando as concentrações de ácido esteárico (C18:0) são

elevadas, sendo este o produto final do processo ruminal de biohidrogenação (CHILLIARD et al. 2007). Sendo que a biohidrogenação do ácido linoleico para ácido esteárico é por vezes incompleta, produzindo vários intermediários, incluindo vários ácidos octadecenoico *trans* ou *cis* e isômeros de CLA (BAUMAN et al. 1999). Segundo a meta-análise realizada por Glasser et al. (2008) sobre o fluxo duodenal de ácidos graxos, os óleos vegetais têm alta correlação com o aumento de isômeros de C18 no pós rúmen. Além disso, a utilização de silagem de milho como volumoso pode causar mudanças na população bacteriana no rúmen, favorecendo micro-organismos responsáveis pela formação de CLA *trans-10*, *cis-12*, e isômeros C18:1 *trans* (ONETTI e GRUMMER 2004). A bactéria *Megasphaera elsdenii* utiliza o lactato proveniente da silagem de milho como substrato, e como, possuem a isomerase *trans-10* produzem o CLA *trans-10*, *cis -12* como o primeiro produto da biohidrogenação (KIM et al. 2002).

5 CONCLUSÃO

A inclusão de lipídeos na dieta reduziu o consumo de matéria seca diária, diminuiu a digestibilidade da fibra, modificou a fermentação ruminal e a via de biohidrogenação. Diante disso, o uso em dietas de ruminantes é interessante quando se busca modular o metabolismo. O uso de vitamina E e/ou selênio não alterou a digestibilidade dos nutrientes, no entanto o uso de selênio pode ser uma alternativa para elevar as concentrações de AGPI no pós rúmen.

REFERÊNCIAS

ALLEN, M. S., BRADFORD, B. J.; OBA, M. 2009. Board invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**. 87:3317–3334. doi:10.2527/jas.2009-1779.

ALLEN, M. S.; LINTON, J. A. V. 2007. *In vivo* methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In. RENNÓ, F.P.; SILVA, L.F.P. (Eds.) Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, Pirassununga, **Anais...** Pirassununga 2007. p.72-89.

AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. **Association of Official Analysis Chemists**, Arlington, VA.

AZAIN, M. J. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. **Journal of Animal Science**. v. 82, p. 916-924.

BARBOSA, G.S.S.C.; SAMPAIO, I.B.M.; GONÇALVES, L.C. RODRIGUEZ, N. M; MENEZES, J. M. C. 1998. Fatores que afetam os valores de degradabilidade *in situ* da matéria seca de forrageiras tropicais: I. Dieta basal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.731-735.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A; GRIINARI, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated acid in ruminants. **Proceedings of American Society of Animal Science**, v.4, n.1, p. 01-15.

BAUMAN, D. E., AND J. M. GRIINARI. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review Nutrition** 23: 203-227.

BERAN, F. H. B.; SILVA, L. D. F.; RIBEIRO, E. L. A.; CASTRO, V. S.; CORREA, R. A.; KAGUEYAMA, E. O.; ROCHA, M. A. 2005. Degradabilidade ruminal in situ da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta de alguns suplementos concentrados usados na alimentação de bovinos. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 405-418.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an overview of technical details. **Bucksburn: Rowett Research Institute**, p. 21.

CHEN, G.; RUSSELL, J. B. 1989. More monensin-sensitive, ammonia-producing bacteria from the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1052–1057.

CHEW, B. P. 1996. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. **Animal Feed Science Technology**. v. 59, p. 103-114.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J. AND DOREAU, M. 2007. Dieta, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **Europe Journal Science Technology**, v.109, p. 828-825.

DEHORITY, B. A. 2003. **Rumen Microbiology**. Nottingham: Nottingham University Press, p. 372.

DHIMAN, T. R., L. D. SATTER, M. W. PARIZA, M. P. GALLI, K. ALBRIGHT, AND M. X. TOLOSA. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**. 83:1016–1027.

DOREAU M.; CHILLIARD Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**. v.78 (Suppl. 1), p.15–35.

DOREAU, M. 2011. Biohidrogenação Ruminal de Ácidos Graxos, IN: **Simpósio internacional avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes**, p.46-58.

DUCKETT, S. K.; ANDRAE, J. G. AND OWENS, F. N. 2002. Effect of high oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**. 80:3353–3360.

DUCKETT, S. K., AND M. H. GILLIS. 2010. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**. 88:2684–2691.

EUGENE, M.; ARCHIMEDE, H.; SAUVANT, D. 2004. Quantitative metaanalysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. **Livestock Production Science**. 85:81–97.

EUN, J.-S.; DAVIS, T. Z.; VERA, J. M. †; MILLER, D. N.; PANTER, K. E. ‡; ZOBELL, D. R. †. 2013. Addition of high concentration of inorganic selenium in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) hay diet does not interfere with microbial fermentation in mixed ruminal microorganisms in continuous cultures. **The Professional Animal Scientist**. v. 29, p. 39–45.

FERREIRA, E. M.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; BIEHL, M. V.; RENATO SHINKAI GENTIL, R. S.; PARENTE, M. O. M.; POLIZEL, D. M.; RIBEIRO, C. V. M.; ALMEIDA, E. 2016. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**. 216 30–39.

FILIPEK, J.; DVORAK, R. 2009. Determination of the volatile fatty acids content in the rumen liquid: comparison of gas-chromatography and capillary isotachopheresis. **Acta Veterinaria Brno**, v.78, p.637-633.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. 1957. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues, **Journal of Biology and Chemistry**, v. 226, p. 497–509.

GLASSER, F.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. 2008. Oilseed Lipid Supplements and Fatty Acid Composition of Cow Milk: A Meta-Analysis, **Journal of Dairy Science**. V.91, p. 4687- 4703.

GUDLA, P.; ABUGHAZALEH, A. A.; ISHLAH, A.; JONES, K. 2012. The effect of level of forage and oil supplement on biohydrogenation intermediates and bacteria in continuous cultures. **Animal feed Science and Technology**. v. 171, p. 108-116.

HESS, B. W.; MOSS, G. E.; RULE, D. C. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, p. 188-204,

HRISTOV. A. N.; IVAN. M.; MCALLISTER. T. A. 2004. *In vitro* effects of individual fatty acids on protozoal numbers and on fermentation products in ruminal fluid from cattle fed a high-concentrate, barley-based diet. **Journal of Animal Science**. v. 82, p. 2693–2704.

INCT. Métodos para Análise de Alimentos. 2012. 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. 2012. **Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p.214.

JENKINS, T. C.; BRIDGES W. C. 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle, **Europe Journal Lipid Science technology**, v 109, p,778-789.

JUÁREZ, M., DUGAN, M. E. R., ALDAI, N., AALHUS, J. L., BASARAB, J. A., BARON, V. S., MCALLISTER, T. A. 2010. Dietary vitamin E inhibits the *trans* 10–18:1 shift in beef backfat. **Canadian Journal of Animal Science**, 90, 9–12.

KIM J.; VAN SOEST P. J; COMBS G. F. Jr. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation *in vitro*. **Biological Trace Element Research**, v.56, p.203-213.

KIM, Y.J.; LIU, R.H.; RYCHLIK, J.L.; RUSSELL, J.B. 2002. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. **Journal of Applied Microbiology** 92:976–982.

KOTARSKI, S. F., WANISKA, R. D. AND THURN, K. K. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, 122, 178–90.

KOZLOSKI, G.V. 2009. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. – Santa Maria: Ed. Da UFSM, p. 216.

KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R. 1997. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. **Lipids**, v. 32, p. 1219–1228.

KRUEGER, N. A.; ANDERSON, R. C.; TEDESCHI, L. O.; CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; NISBET, D. J. 2010. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes *in vitro*. **BioResearch Technology**, 101, 8469–8472.

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

LOOR, J. J.; UEDA, K.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. 2004. Biohydrogenation, Duodenal Flow, and Intestinal Digestibility of *Trans* Fatty Acids and Conjugated Linoleic Acids in Response to Dietary Forage:Concentrate Ratio and Linseed Oil in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2472-2485.

LOOR, J. J.; HERBEIN, H. 2003. Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous *trans*10, *cis*12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. **Journal of Dairy Science**. 86:1354–1369.

MACHADO NETO, O. R.; LADEIRA, M. M.; CHIZZOTTI, M. L.; RAMOS, E.M.; OLIVEIRA, D.M.; LANNA, D. P. D.; RIBEIRO, J. S.; DESCALZO, A. M.; AMORIM, T.R. 2015. Fatty acid profile and meat quality of young bulls fed ground soybean or ground cottonseed and vitamin E. **Animal**. p. 1-11.

MARKS, D. J.; NELSON, M. L.; BUSBOOM, J. R.; CRONRATH, J. D.; FALEN, L. 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: II. Fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat. **Journal Animal Science**. V. 82, p. 3611–3616.

MELLO, A.C.L.; LIRA, M.A.; DUBEUX, J.C.B.; SANTOS, M.V.F.; FERREIRA, R.L.C.; CUNHA, M.V. 2006. Degradação ruminal da matéria seca de clones de capim-elefante em função da relação folha/colmo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 4, p. 1316-1322.

MESSANA, J. D. **Teores de lipídeos em dietas de novilhos nelore sobre parâmetros ruminais, desempenho e características de carcaça**. 2009. 100 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP.

MIR, Z.; MACLEOD, G.K.; BUCHANAN-SMITH, J.G. GRIEVE, D. G.; GROVUM, W. L. 1984. Methods for protecting soybean and canola proteins from degradation in the rumen. **Canadian Animal Science**, v.64, p.853-865.

MONTGOMERY, S. P.; DROUILLARD, J. S.; NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C.; SINDT, J. J. 2008. Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. **Journal Animal Science**. v.86, p.640-650.

MUZZI L.A.L.; MUZZI R.A.L.; GABELLINI, E.L.A. 2009. Técnica de fistulação e canulação do rúmen em bovinos e ovinos. **Ciência agrotecnologia** vol.33 n.spe Lavras.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2000. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6. ed. Washington, DC: National Academy Press.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 2001. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academic Press.

NELSON, M. L., D. J. MARKS, J. R. BUSBOOM, J. D. CRONRATH AND L. FALEN. 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: I. Feedlot performance, carcass traits, appearance, water binding, retail storage, and palatability attributes. **Journal Animal Science**. v. 82, p. 3600-3610.

NOCEK, J. E. 1988. *In situ* and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 8, p. 2051-2069.

OBSEN, T.; FAERGEMAN, N.; CHUNG, S.; MARTINEZ, K.; GOBERN, S.; LOREAU, L.; WABITSCH, L.; MANDRUP, SM.; MCINTOSH, M. 2012. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry** 23: 580-590.

OLIVEIRA, R. L., ASSUNÇÃO, D. M. P., BARBOSA, M. A. A. F., LADEIRA, M. M., SILVA, M. M. P., MASCARENHAS, A. G., SNEL-OLIVEIRA, M. V., OLIVEIRA, R. L. 2007. Effect of different fat sources on intake, digestibility and blood urea nitrogen of feedlot water buffalo steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, p. 733-738.

ONETTI S, G.; GRUMMER, R. R. 2004. 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.

ORSKOV, D.R.; McDONALD, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.499-503.

PAILLARD D, MCKAIN N, CHAUDHARY L.C, WALKER N.D, PIZETTE F, KOPPOVA I, MCEWAN N.R, KOPECNY J, VERCOE P.E, LOUIS P, WALLACE, R.J. 2006. Relation between phylogenetic position, lipid metabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-like bacteria from the rumen. **Ant Van Leeuwen**. 91:417–22.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. 2006 Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal: FUNEP, n cap. 10, p. 287-310.

POTTIER, J.; FOCANT, M.; DEBIER, C.; DE BUYSSER, G.; GOFFE, C.; MIGNOLET, E.; FROIDMONT, E.; LARONDELLE, Y. 2006. Effect of Dietary Vitamin E on Rumen Biohydrogenation Pathways and Milk Fat Depression in Dairy Cows Fed High-Fat Diets. **Journal Dairy Science** 89:685–692.

PUNIA, B. S.; LEIBHOLZ, J.; FAICHNEY, G. J. 1988. 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.

SALAS-SALVADO, J.; MARQUEZ-SANDOVAL, F.; BULLO, M. 2006. Conjugated linoleic acid intake in humans: A systematic review focusing on its effect on body composition, glucose, and lipid metabolism. **Crit. Rev. Food Science & Nutrition**. v. 46, p. 479-488.

SCHMIDELY, P.; GLASSER, F.; DOREAU, M.; SAUVANT, D. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. **Animal**, v. 2, p. 677-690, 2008.

SHI, L. G.; XUN, W. J.; YUE, W. B.; ZHANG, C. X.; REN, Y. S.; LIU, Q.; WANG, Q.; SHI, L. 2011. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. **Animal Feed Science Technology** 163:136–142.

SHINGFIELD, K. J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J. M. 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. **British Journal of Nutrition**. V. 99, p. 971–83.

SILVA, L.F.P.; CASSOLI, L.D.; ROMA JUNIOR, L.C.; RODRIGUES, A.C.O.; MACHADO, P.F. 2008. *In situ* degradability of corn stover and elephant-grass harvested at four stages of maturity. **Scientia Agricola**, v.65, n. 6, p. 595-603.

VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; PAULO ROBERTO LEME, P. R.; SILVA, S. L.; CUNHA, J. A. 2005. Fontes de Lipídeos e Monensina na Alimentação de Novilhos Nelore e sua Relação com a População de Protozoários Ciliados do Rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 34, n. 4, p. 1418-1423.

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

VLAEMINCK, B.; DUFOUR, C.; VAN VUUREN, A. M. 2005. Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. **Journal of Dairy Science**. 88: 1031– 1042.

WALLACE R. J, CHAUDHARY L. C, MCKAIN N, MCEWAN N. R, RICHARDSON A. J, VERCOE P. E, WALKER N. D, PAILLARD D. 2006. *Clostridium proteoclasticum*: a ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid. **FEMS Microbiology Letters**. 265:195–201.

WEI, C.; LIN, S.X.; WU, J.L.; ZHAO, G.Y.; ZHANG, T.T.; ZHENG, W.S. 2015. Effects of supplementing vitamin E on *in vitro* rumen gas production, volatile fatty acid production, dry matter disappearance rate, and utilizable crude protein. **Czech Journal of Animal Science**. 60, (8): 335–341.

XUN, W.; SHI, L.; YUE, W.; ZHANG, C.; REN, Y.; LIU, Q. 2012. Effect of high dose nano-selenium and selenium-yeast on feed digestibility, rumen fermentation and purine derivatives in sheep. **Biological Trace Element Research**. v. 150(1-3). p. 130-136.