UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MODULAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS POR MEIO DA ADIÇÃO DO LIGNOSULFONATO E DA EXTRUSÃO DO GRÃO DE CANOLA

Autora: Carolina Antunes Neves
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

"Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
dezembro – 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MODULAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS POR MEIO DA ADIÇÃO DO LIGNOSULFONATO E DA EXTRUSÃO DO GRÃO DE CANOLA

Autora: Carolina Antunes Neves
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

"Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
dezembro – 2007

Se olhares para o tempo que se foi

Com a convicção de ter aprendido
Com a serenidade do dever cumprido
Com o sorriso do amor doado
Com o prazer de ter sido amado

Se olhares para o tempo que se foi

Sem mágoa pela dor sentida
Sem os queixumes da partida
Sem o ranço da ignorância
Sem vestígios de intolerância, verás

Que o dia de hoje é o mais ditoso
Que o teu viver é maravilhoso
Que o teu sonho hás de realizar
Que não perdes por esperar

Não permitas que teu coração
Se esconda na desilusão
Não deixes que tua doçura
Se corrompa na armagura

Confia naquilo que podes
Nunca te acomodes
Aceita o que não modificas
Invista no que edificas
Voe nas asas da tua liberdade
Pois não há maldade alguma
Em ter vivido, amado e sentir saudade

Autor desconhecido

Aos meus pais Eraldo e Inês, meu exemplo, meu estimulo, minha estrutura. Minha vida! Obrigada por tudo!

À Karina e André, irmãos adoráveis que sempre me apoiaram em todos os momentos de minha vida. Obrigado por existirem!

Ao Eloi, pelo amor, companheirismo, e paciência em todos os momentos difícieis nessa batalha. Obrigada!

Á Talita, Mel e Própolis, seres incríveis que iluminam a minha vida e estão sempre com um sorriso imenso em todas as horas. Amo vocês!

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pela orientação, pela confiança, pelo incentivo, pela paciência, tolerância sem a qual não seria possível a realização deste trabalho. Muito Obrigada!

À Universidade Estadual de Maringá e à Fazenda Experimental de Iguatemi, por terem viabilizado a realização do experimento e do trabalho.

A Helene Petit pela valiosa colaboração nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Makoto Matsushita pela valiosa contribuição nas análises dos ácidos graxos.

A Profª Drª Paula Pinto que ajudou no desafio de fazer as manteigas, com muita dedicação.

A Profª Drª Carla Nússio, USP pela grande ajuda na determinação dos ácidos graxos voláteis e pela disponibilidade que foi fundamental.

À Melbar Produtos de Lignina Ltda pelo fornecimento do lignosulfonato.

Aos Professores e amigos Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, Dr. Clóves Cabreira Jobim, Dr. Antônio Claudio Furlam, Dr. Júlio César Damasceno e Dr. Antônio Ferriani Branco pela amizade e ajuda na realização deste trabalho.

À COPEBRAS, pelo incentivo, liberação e cooperação, especialmente ao Sr. João Bosco Olivito Nonino e Eduardo Haberland, que foram especiais, e também aos amigos Luiz Roberto Santos Silva, Ortemar Miranda Gonçalves, Ana Cláudia Pires Guimarães, Carlos Roberto Tavares, Maria do Carmo Silva..

A Daniele Cristina da Silva, Wallacy Barbacena, Eloi Machado Alves pela amizade, companheirismo e ajuda sem as quais não seria possível a realização desta tese.

A grande amiga Marina Hitomi Mitsui, Daniel Trentini e Lygia Trentini, pela amizade, carinho, hospedagem, paciência, que foram incondicionais.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de leite da FEI, Vicente Faleiros, Antônio Silvério Sobrinho, Luis Casari e demais funcionários que colaboraram na execução do experimento.

Às funcionárias do Laboratório de Análise de Alimentos, Dilma Figueiredo, Creuza Azevedo e Cleuza Volpato, ao funcionário do Laboratório de Química, Dirceu Batista e ao funcionário do Laboratório de Agronomia, Leocir pela paciência e auxílio.

Aos bolsistas Francilaine De Marchi e Raphael Fernando V. Barbosa pela colaboração nos trabalhos a campo e de laboratório que foram fundamentais para a realização do trabalho.

Por todos àqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Carolina Antunes Neves, filha de Eraldo Neves e Maria Inês Antunes , nasceu em Araraquara, São Paulo, no dia 20 de julho de 1979.

Em março de 2002, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em abril de 2004, defendeu sua dissertação de Mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Produção Animal, especialidade Produção e Nutrição de Bovinocultura de leite.

Em agosto de 2004 ingressou na Empresa Copebrás, pertencente ao Grupo Anglo-American, atuando na parte técnica e comercial.

No dia 14 de dezembro de 2007, submeteu-se à banca para defesa da tese de doutorado, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Produção Animal, especialidade Produção e Nutrição de Bovinocultura de leite

ÍNDICE

RESUMO ..... **VIII**

ABSTRACT ..... **X**

INTRODUÇÃO **1**

OBJETIVOS GERAIS **16**

CAPÍTULO I – ARTIGO I **17**

QUALIDADE DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA ALIMENTADAS COM GRÃOS DE CANOLA MOÍDAS OU EXTRUSADAS COM OU SEM LIGNOSULFONATO. 17

Introdução *19*

Material e métodos *21*

Resultados e discussão *26*

Conclusões *34*

Literatura citada *35*

CAPÍTULO II – ARTIGO II **38**

PARÂMETROS DIGESTIVOS DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA ALIMENTADAS COM GRÃOS DE CANOLA MOÍDAS OU EXTRUSADAS COM OU SEM LIGNOSULFONATO 38

Introdução *40*

Material e métodos *41*

Resultados e discussão *46*

Conclusões *55*

Literatura citada *55*

CÁPITULO III – ARTIGO III **60**

DEGRADABILIDADE *IN SITU* E DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES QUE CONSTITUEM A PROTEÍNA E OS CARBOIDRATOS TOTAIS DOS GRÃOS DE CANOLA PROCESSADOS 60

Introdução *62*

Material e métodos *64*

Resultados e Discussão *68*

Conclusões *73*

Literatura citada *74*

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar o fornecimento de grãos de canola processados na produção, composição, perfil dos ácidos graxos do leite e nos parâmetros nutricionais de vacas da raça Holandesa. Os tratamentos avaliados foram: grãos de canola moídos (CM), grãos de canola extrusados (CE), grãos de canola moídos e tratados com lignosulfonato (CML) e grãos de canola extrusados e tratados com lignosulfonato (CEL). Foram utilizadas oito vacas distribuídas em um delineamento em duplo quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos com 21 dias cada. A proporção volumoso/concentrado foi de 57/43. A produção de leite foi de 18,80, 19,51, 18,64 e 19,01 kg/dia para os tratamentos CM, CE, CML e CEL, respectivamente, de forma que não houve diferença entre os processamentos avaliados (P>0,05). Os tratamentos avaliados não alteraram a composição físico-química do leite (P>0,05), entretanto, os tratamentos extrusados resultaram no decréscimo da concentração de gordura no leite (P<0,05) devido ao aumento da concentração do isômero 18:2 10t 12c, sendo este responsável pela redução da atividade lipogênica na glândula mamária. O processamento do grão de canola alterou o perfil dos ácidos graxos do leite, onde a extrusão proporcionou o aumento do ácido graxo 18:1 11t e 18:2 10t 12c, e a redução dos ácidos graxos 18:3 n-3, 22:4 n-6 e 22:5 n-3, reduzindo a concentração de n-3, n-6, mas aumentando a proporção n-6/n-3. O processamento não alterou a concentração de ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados, e a concentração do isômero 18:2 9c 11t no leite. Os parâmetros nutricionais avaliados foram consumo, digestibilidade dos nutrientes, parâmetros ruminais, metabólitos sangüíneos, degradabilidade *in situ* e fracionamento das proteínas e carboidratos dos grãos de canola. Os tratamentos não influenciaram (P>0,05) no consumo de MS, PB, FDN e FDA, entretanto, foi verificado maior consumo (P<0,05) de EE e CNE para os

tratamentos extrusados e para a associação entre a extrusão e o lignosulfonato, respectivamente. A digestibilidade aparente da MS, MO e CNE foi menor (P<0,05) nos tratamentos contendo lignosulfonato, todavia não foram verificadas diferenças (P>0,05) entre os demais tratamentos. Com relação aos parâmetros ruminais e aos parâmetros sangüíneos, não foi observada diferença entre as dietas avaliadas, todavia o processamento do grão de canola alterou as proporções dos parâmetros da equação de degradabilidade da MS e PB. A degradabilidade efetiva da MS a uma taxa de passagem de sólidos de 2% e 5% não apresentou diferenças para os tratamentos avaliados, entretanto, verificou-se redução da degradabilidade efetiva na taxa de passagem de 8% para os tratamentos extrusados. A degradabilidade efetiva da PB não apresentou diferença nas taxas de passagem de 2%, 5% e 8% para os processamentos utilizados nesta pesquisa. Tal oleaginosa apresentou grande proporção da fração B2, da proteína, e apresentou baixa quantidade da fração C, dos carboidratos. O fornecimento do grão de canola processado para vacas em lactação alterou o perfil dos ácidos graxos do leite, entretanto não alterou os parâmetros nutricionais.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the supply of processed canola grain on milk production, composition and fat acid profile and nutritional parameters of Holstein cows. The evaluated treatments were: ground canola (GC), extruded ground canola (EC), ground canola with lignosulfonate (GCL) and extruded ground canola with lignosulfonate (ECL). Eight cows, allotted in a double Latin square, with four treatments and four periods with 21 days each one, were utilized. The forage/concentrate relationship was 57/43. Milk production was 18.80, 19.51, 18.64 and 19.01 kg/day for GC, EC, GCL and ECL, respectively, and did not have any difference for the evaluated processing ($P>0.05$). The treatments did not affect milk physic-chemical composition, however the extrusion resulted in low milk fat concentration because the increase of 18:2 10t 12c isomer concentration, responsible for lipogenic active reduction on mammary gland. The canola processing altered the milk fat profile, where the extrusion increased 18:1 11t and 18:2 10t 12c, and provided reduction of the fatty acids 18:3 n-3, 22:4 n-6 and 22:5 n-3, decreasing n-3 and n-6 concentration, but increasing n-6/n-3 relationship. The processing did not affect the saturated, unsaturated, polyunsaturated and 18:2 9c 11t isomer on milk fatty acids concentration. The nutritional parameters evaluated were intake, nutrients digestibility, ruminal parameters, blood components, in situ degradability and canola protein and carbohydrate fractions. The treatments did not influence ($P>0.05$) DM, CP, NDF and ADF intake, however, it was verified a high EE and NSC intake ($P<0.05$) for extruded and extruded with lignosulfonate treatments, respectively. The total apparent digestibility of DM, OM and NSC was low ($P<0.05$) for lignosulfonate treatments, however, differences were not verified ($P>0,.5$) among others treatments. For ruminal components and blood parameters, was not observed any difference among evaluated diets, however, the

processing of canola ground modified the DM and CP degradability parameters. The DM effective degradability at 2% and 5% passage rate did not show differences among evaluated treatments, but verified a reduction in the effective degradability at 8% passage rate for extruded treatments. The CP effective degradability was not different for the processing used in this research. This oilseed had high protein "B_2" fraction, but presented low carbohydrate "C" fractions. The processed canola grain supply for lactating cows modified the milk fat acid profile, however, did not altered the nutritional parameters.

INTRODUÇÃO

A nutrição animal é um fator limitante para se obter resposta produtiva satisfatória, representando alto custo e exigindo uma combinação equilibrada de proteína, energia, fibra, minerais e vitaminas. Desta forma, as dietas devem ser formuladas com o objetivo de atender a demanda nutricional de cada animal e a falta ou o excesso de um nutriente poderá prejudicar o metabolismo do outro.

As vacas leiteiras são exigentes nutricionalmente devido a grande demanda metabólica para mantença e lactação, e muitas vezes a necessidade energética não são supridas, principalmente no início de lactação. Uma alternativa muito utilizada para atender adequadamente as necessidades nutricionais desta categoria é utilização de lipídeos na dieta.

O uso de lipídeos aumentam a densidade energética das rações, podendo proporcionar diversos benefícios nutricionais atendendo a alta demanda calórica podem melhorar a eficiência energética de produção de leite (Smith, 1990), conter ácidos graxos essenciais e melhorar a absorção de compostos lipossolúveis (Church, 1988).

Entretanto, tal suplementação tem que ser utilizada com cautela, pois as gorduras influenciam os processos fermentativos nos ruminantes e podem alterar a qualidade do leite e provocar outras alterações metabólicas.

O excesso de lipídeos na dieta dos ruminantes, principalmente quando possui alto teor de ácidos graxos insaturados, pode inibir a fermentação e o crescimento microbiano ruminal. Esta inibição pode ser em razão de um efeito da gordura sobre as fibras, impedindo a aderência bacteriana e o acesso das enzimas fibrolíticas ao seu substrato, ou ainda, a um efeito tóxico dos ácidos graxos insaturados sobre as células bacterianas. Este efeito tóxico estaria associado a uma mudança da composição lipídica e das propriedades físico-químicas das membranas celulares (Kozloski, 2002).

A influência desta fonte de nutrientes sobre o metabolismo depende da digestibilidade, da quantidade e da fonte dos mesmos. Os lipídeos insaturados e os ácidos graxos de cadeia curta apresentam mais efeitos negativos sobre os microorganismos ruminais do que os saturados e os ácidos graxos de cadeia longa (Valadares Filho & Pina, 2006). Estes ácidos graxos podem ainda afetar o consumo, a fermentação ruminal e a digestibilidade dos outros componentes da dieta (DePeters & Cant, 1992; Chilliard, 1993).

Além de contribuir para a densidade energética das rações para vacas leiteiras, a suplementação lipídica é muito utilizada para alterar a composição química do leite, principalmente dos ácidos graxos, sendo que a incorporação de ácidos graxos insaturados a gordura do leite é de grande benefício para a saúde humana.

Os estudos direcionados para o aumento da produção animal estão diretamente relacionados com a qualidade e a composição do produto gerado, de forma que trabalhos com fontes de gordura associados com a manipulação do ambiente ruminal são necessários, com o objetivo de produzir alimentos diferenciados e também pela alta demanda do mercado consumidor para obter tais produtos, como o leite e a manteiga.

Entre os componentes do leite, a gordura é a mais facilmente manipulada pela dieta, em termos de quantidade e composição. Entretanto, a quantidade de gordura dietética transferida diretamente para o leite é influenciada por três fatores que são a biohidrogenação ruminal, a absorção e digestibilidade dos nutrientes e a deposição no tecido animal (Palmquist & Beaulieu, 1993).

A gordura do leite tem em sua composição ácidos graxos de cadeia curta e média (com 4 a 14 carbonos), sintetizados a partir de ácidos graxos produzidos no rúmen (precursores: acetato e butirato) e ácidos graxos de cadeia longa (16 a 20 carbonos), que derivam da absorção da gordura intestinal ou de reservas de gordura acumuladas e mobilizadas (Santos, 2002). Destes, 70% são de ácidos graxos saturados, 25% de ácidos graxos monoinsaturados e 5% de ácidos graxos poliinsaturados em média (Grummer & Carrol, 1991).

Na glândula mamária há intensa atividade lipogênica. A síntese *de novo* é feita a partir de acetato e do beta-hidroxibutirato, sendo que este contribui com cerca de 15% do carbono fixado como gordura. Estes precursores dão origem aos ácidos graxos de cadeia curta e média. Os ácidos graxos com mais de 16 carbonos não são sintetizados pela glândula mamária de ruminantes, pois o sistema enzimático (Tioesterase I) de determinação dos ciclos de condensação da sintetase de ácidos graxos produz 14:0 e,

predominantemente, 16:0 e a glândula mamária lactante não é capaz de elongar de 16:0 para 18:0 (Chilliard et al., 2000). Desta forma, os ácidos graxos com mais de 18 carbonos têm origem exógena, oriundos da mobilização das reservas corporais ou de ácidos graxos absorvidos da dieta (Demeyer & Doreau, 1999).

Estes ácidos graxos insaturados com mais de 18 carbonos estão relacionados com uma alimentação saudável para os seres humanos, já que, em dietas balanceadas se preconiza a ingestão de mais ácidos graxos poliinsaturados, ômega 3 (ácido α linolênico) e ácido linoléico conjugado (CLA). A ingestão de alimentos ricos em ácidos graxos da série ômega 3 pode ser responsável pela redução na incidência de doenças cardiovasculares (Sangiovani et al., 2000; Bucher et al., 2002; Lorgeril & Salen, 2002), prevenção de arteriosclerose e trombose, resultante da modificação do metabolismo dos lipídeos e lipoproteínas no sangue (Grummer & Carrol, 1991; Petit, 2002).

Entretanto, dentre estes ácidos graxos benéficos para saúde, o que mais se destaca e é alvo de muitos estudos é o CLA, já que foi identificado como um potente anticarcinogênico natural (Pariza & Ha, 1990; Ip et al., 1991; Ip et al., 1994; McGuire & McGuire, 2000). Outros estudos, usando diferentes modelos animais, relacionaram o CLA a vários outros efeitos positivos que poderiam favorecer a saúde humana, incluindo a redução da arterioesclerose, prevenção e tratamento de diabetes mellitus não-dependente da insulina, propriedades antitrombóticas e efeitos imuno-estimulatórios (Sebedio et al., 1999). O CLA representa uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido linoléico (18:2) com duplas ligações conjugadas, que se encontram em alta concentração nos alimentos derivados dos animais ruminantes (Solomon et al., 2000; Modesto, 2002), sendo o isômero 18:2 9c 11t - o mais abundante (85%) (Parodi, 1999).

O CLA é formado durante a biohidrogenação ruminal incompleta do ácido linoléico pela enzima ácido linoléico isomerase, proveniente da bactéria anaeróbica ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens,* que isomeriza o ácido linoléico preferencialmente para a forma 9c, 11t (Parodi, 1999) ou formado na glândula mamária a partir do 18:1 11t, um outro intermediário da biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen (Church, 1988; Chouinard et al., 1998). O aumento da concentração de 18:1 11t, pode ser parcialmente atribuído ao escape de ácidos graxos insaturados da biohidrogenação, assim como a ação de enzimas dessaturase na glândula mamária, que podem converter 18:0 a 18:1 (Tymchuk et al., 1998).

A concentração de CLA pode ser aumentada no rúmen ou na glândula mamária. No rúmen o processo ocorre por intermédio da enzima 12c 11t, isomerase, que age durante o primeiro passo da biohidrogenação, transformando o 18:2 n-6 em CLA. Na glândula mamária o processo ocorre por intermédio da enzima Δ^9-dessaturase, que age sobre o 18:1 11t, para produzir o 18:2 9c 11t (Loor et al., 2002). Embora o CLA seja um intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico, a maior fonte deste ácido graxo é a síntese endógena via a enzima Δ^9-dessaturase (Griinari et al., 2000).

Nesse contexto, já que é possível alterar a composição do leite através da dieta, o fornecimento de alimentos ricos em ácidos graxos poliinsaturados poderia aumentar o teor de CLA e de outros ácidos graxos benéficos no leite para a saúde humana, contudo, a adição destes ácidos na dieta de animais ruminantes não é garantia de que apareçam na carne ou leite. Os ruminantes possuem um processo particular denominado biohidrogenação ruminal, onde os ácidos graxos insaturados são hidrogenados a ácidos graxos saturados (Medeiros, 2002).

A biohidrogenação é o principal aspecto que afeta a composição de ácidos graxos exógenos disponíveis para a glândula mamária, sendo este um obstáculo ao fornecimento de ácidos graxos insaturados para a deposição no tecido adiposo ou incorporação pela glândula mamária. Em média, 80% do linoléico e 92% do linolênico são saturados devido a biohidrogenação (Fellner et al., 1995).

A biohidrogenação é um ato de defesa natural dos microrganismos do rúmen, pois certos ácidos graxos, especialmente poliinsaturados são tóxicos aos microorganismos ruminais, e desta forma os microrganismos convertem ácidos graxos insaturados em saturados, já que estes são menos tóxicos. Portanto, uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados na dieta podem prejudicar a degradação da fibra, pois afetam alguns microorganismos tais como as bactérias Gram (+), metanogênicas e protozoários, afetando a integridade da barreira seletiva (Jenkins, 1993; Palmquist & Mattos, 2006), e conseqüentemente atrapalhando a atividade ruminal.

A hidrogenação de 18:1 11t parece ser um passo limitante na seqüência da biohidrogenação e, como conseqüência, este intermediário acumula-se no rúmen e torna-o mais disponível para a absorção (Bauman et al., 1999). Além disso, aumento da concentração de ácidos graxos insaturados diminui a extensão da biohidrogenação do 18:1, 11t (Harvatine & Allen, 2004). Após a fase de formação do ácido vacênico, os microorganisos secundários hidrogenam a ligação 11 t, formando o produto final que é o ácido esteárico (Palmquist & Mattos, 2006). Em dietas convencionais, quase todo

18:2 n-6 (Ácido linoléico) e 18:3 n-3 (Ácido α-linolênico) são biohidrogenados. e mesmo em animais contendo altas concentrações de ácidos graxos insaturados, o passo final é inibido e a concentração de 18:1 11t aumenta (Palmquist & Mattos, 2006).

Se por um lado evitar a biohidrogenação pode aumentar a concentração de ômega 3, nos produtos de origem animal, tais como o leite e a manteiga, por outro lado preservar a biohidrogenação incompleta auxilia a incorporação de CLA nos mesmos produtos. A biohidrogenação pode ser evitada com o uso de métodos de proteção dos ácidos graxos no rúmen, seja através do fornecimento de grãos inteiros de oleaginosas, com lenta liberação da gordura, via sais de cálcio de ácidos graxos, usando técnicas de processamentos térmicos ou ainda com a utilização de ionóforos que alteram a presença de microrganismos ruminais responsáveis pela biohidrogenação (Silva et al., 2007).

Várias fontes de gordura podem ser utilizadas na dieta de ruminantes. Estas se estendem desde o óleo de soja, comumente utilizado, até gorduras protegidas comercialmente, de origem animal ou vegetal (Hightshoe et al., 1991), além de grãos inteiros de oleaginosas.

O uso de oleaginosas na alimentação de vacas leiteiras tem sido amplamente estudado com o intuito de fornecer proteína e energia de alto valor nutricional e ainda melhorar a qualidade do produto final, que é o leite. Neste contexto, Delbecchi et al., (2001) verificaram que os grãos de oleaginosas, adicionados à dieta de vacas em lactação promoveram a diminuição da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, enquanto ocorreu um aumento da concentração dos ácidos graxos de cadeia longa, tais como o esteárico (18:0) e oléico (18:1). Outra pesquisa utilizando a suplementação com óleos de plantas ou grãos, com alto teor de gordura, contendo altos teores de ácidos graxos poliinsaturados, resultou em aumentos substanciais do teor de CLA e de outros ácidos graxos insaturados na gordura do leite (Tanaka, 2005).

A canola pode ser uma boa alternativa para esta suplementação lipídica. É um alimento rico em proteína bruta (21 a 25,5%) (Baier & Roman, 1992; Bett et al., 1999) e possui uma variação de 40% a 50% de gordura, constituída primariamente por ácidos graxos insaturados, como ácido oléico (51%), linoléico (25%) e linolênico (14%). O grão intacto é relativamente resistente a digestão tanto no rúmen, quanto no intestino, devido a uma cápsula rígida, e esta particularidade é responsável pela redução de sua digestão, a menos que seja exposto a algumas formas de processamento (Khorasani et al., 1992). Desta forma, o estudo de métodos que fracione o grão de canola é de extrema importância para maximizar o valor nutricional desta oleaginosa (Wang et al., 1999).

"Canola" é uma sigla canadense para "Canadian Oil Low Acid", que difundiu no mundo, por apresentar altos teores de ácidos graxos insaturados, baixos de saturados e níveis inferiores a 2 mg de ácido erúcico/g de óleo (Bell, 1993). A canola (*Brassica campestris* e *Brassica napus*) é uma planta oleaginosa, desenvolvida no Canadá a partir de variedades de colza com baixos teores de ácido erúcico e glicosinolatos.

Assim as técnicas de processamento ou técnicas de proteção dos alimentos podem ser utilizadas nos grãos de oleaginosas com dois objetivos, sendo o primeiro a proteção dos ácidos graxos poliinsaturados das bactérias ruminais, evitando a biohidrogenação ruminal, e o segundo seria na melhoria do aspecto nutricional deste ingrediente. Dentre os métodos destacam-se o uso da extrusão, peletização, sais de cálcio, misturas de gordura de origem vegetal, ou ainda a utilização de grãos inteiros de oleaginosas (Ashes et al., 1997). Estas técnicas de processamento de alimentos podem ser utilizadas para melhorar a dieta animal em termos de teor e aproveitamento dos nutrientes, com respostas na produção e composição do leite (Whitlock et al., 2002).

A extrusão é um processo de cozimento sob pressão, umidade e elevadas temperaturas. Várias funções podem ser provindas da extrusão incluindo moagem, hidratação, mistura, tratamento térmico, gelatinização, desnaturação protéica, destruição de microrganismos e outros componentes tóxicos, expansão, alteração da textura e desidratação parcial (Chang & Wang, 1998). A tecnologia da extrusão é considerada como uma das mais promissoras tecnologias para o processamento de ingredientes assim como de alimentos a fim de aumentar a digestibilidade destes. Segundo Whitlock et al., (2002) a suplementação com alimentos concentrados extrusados pode diminuir o teor de gordura do leite e alterar sua composição. Este processamento reduz a solubilidade da proteína no rúmen, aumentando o suprimento de aminoácidos do intestino delgado (Aldrich et al., 1993; Chouinard et al., 1997).

Este processamento também aumenta a degradação ruminal dos carboidratos não estruturais, reduzindo assim, a relação acetato/propionato no rúmen e diminuindo perdas com os processos de fermentação. Chouinard et al., (1997) avaliaram o efeito da extrusão da soja no desempenho de vacas leiteiras e observaram que a soja extrusada proporcionou maior produção quando comparada a soja crua. Os mesmos autores verificaram baixa digestibilidade dos ácidos graxos de uma dieta contendo grão de soja tostado a 130ºC, quando comparada com uma dieta contendo grão de soja sem tratamento térmico, explicado pelas alterações químicas na proteína acoplada aos ácidos

graxos, fazendo com que estes fiquem menos disponíveis para a digestão; desta maneira o aquecimento do grão de soja poderia favorecer a passagem ruminal da fração lipídica.

Abughazaleh et al., (2002) mostraram que a adição de óleo de peixe, do grão de soja extrusado ou a combinação de ambos, resultou em um aumento de 18:2 9c 11t e 18:1 11t na concentração da gordura sem causar prejuízos para a produção e a composição do leite de vacas. Chouinard et al., (1997) verificaram aumento na proporção de 18:1 11t na gordura do leite de vacas recebendo soja extrusada quando comparada com vacas recebendo soja sem processamento térmico, entretanto, a proporção de 18:0, 18:2 e 18:3 foi menor com o uso de soja extrusada.

Além dos processamentos físicos, há outras técnicas de processamentos como por exemplo, o químico através do lignosulfonato. Os lignosulfonatos são complexos polímeros orgânicos, derivados da lignina da madeira e classificam-se, quanto as suas propriedades, como tensoativas aniônicas solúveis em água. A lignina é o segundo maior componente da madeira, representando de 20 a 30% do seu peso seco. Ela é separada da celulose por meio de um processo de cozimento químico dos cavacos de madeira. Algumas reações químicas ocorrem no processo, dentre as quais a sulfonação e a hidrólise ácida, ocasionando a solubilidade da lignina, de alguns carboidratos de baixo peso molecular, de açúcares redutores e de outros componentes menores, resultando na lixívia ou licor negro.

A lixívia, contendo predominantemente lignosulfonatos, representa a matéria-prima bruta que submetida a processos químicos posteriores vai dar origem a diversos produtos (Melbar, 2000). Dentre as propriedades dos lignosulfonatos, destacam-se as tensoativas, aglomerantes, dispersantes, emulsificantes, umectantes, sequestrantes e a de combinar-se com proteínas (Melbar, 2000). Na indústria de alimentos para animais, os lignosulfonatos de cálcio e magnésio são empregados na peletização, proporcionando um aglutinante energético com excelente propriedade palatabilizante (Melbar, 2000).

Neste contexto, este produto poderia atuar protegendo os ácidos graxos poliinsaturados presentes nos grãos de canola, proteger a proteína dos microrganismos ruminais e a associação do lignosulfonato com a extrusão poderia potencializar a proteção tanto das gorduras, quanto das proteínas da dieta. Segundo Windschitl & Stern, 1988 e Petit et al., 1999, o lignosulfonato atua diminuindo a degradação ruminal da proteína do grão de soja, pois protege a proteína verdadeira da ação dos microrganismos ruminais, aumentando a concentração de proteína não degradável no rúmen. Outras pesquisas foram realizadas utilizando processamentos químicos, de forma que Ashes et

al., (1992) utilizando grão de canola protegido verificaram redução nas proporções dos ácidos graxos saturados 12:0, 14:0 e 16:0, e aumento nas proporções dos ácidos graxos 18:0, 18:1, 18:2 e 18:3 no leite de vacas. Em consequência da transferência destes ácidos graxos da dieta para o leite.

Outro aspecto que se deve observar na suplementação de lipídeos para ruminantes é com relação ao desempenho dos animais, a digestibilidade e a fermentação ruminal. Segundo Grummer, (1995), uma fonte lipídica ideal deve ser aquela que tem mínima interferência sobre a fermentação ruminal e alta digestibilidade no intestino delgado.

Vários autores afirmam que teores de gordura na dieta maiores que 7% interferem negativamente na fermentação ruminal, afetando principalmente a digestão da fibra (Palmquist, 1989; Jenkins, 1993), entretanto, a suplementação com ácidos graxos insaturados, como o grão de canola, podem minimizar o efeito inibitório sobre os microrganismos celulolíticos. Byers & Schelling, (1989) relataram que se a fonte de gordura adicionada a ração for proveniente de grãos de oleaginosas, que são um tipo de gordura protegida, pois possuem os lipídeos presos na matriz protéica do grão, podem minimizar os efeitos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos lipídeos com os microrganismos.

Um dos fatores determinantes para o valor nutritivo do alimento é a digestibilidade e esta está relacionada ao teor de energia e as características estruturais dos alimentos utilizados para ruminantes. Alguns fatores podem influenciar a digestibilidade *in vivo*, entre eles, o nível de consumo, o efeito associativo entre os alimentos, o processamento do alimento e a espécie animal (Kitessa et al., 1999). As diminuições que ocorrem na digestibilidade são, geralmente, resultantes da competição entre digestão e passagem. Um aumento significativo no consumo pode levar a ampliação na taxa de passagem, reduzindo a digestibilidade (Van Soest, 1994).

Chouinard et al., (1998) forneceram sais de cálcio de ácido graxo de soja, linhaça e canola, para vacas lactantes e observaram maior digestibilidade da MS, PB, EE e FDN para os sais de cálcio em relação à dieta controle. Os autores justificaram que os sais de Ca substituíram parte do milho da dieta em relação à dieta controle, diminuindo o amido e conseqüentemente os carboidratos fermentáveis no rúmen. Isso modifica a energia disponível para a síntese microbiana de proteína e aumenta a perda de NH_3N ruminal, o que resulta em maior digestibilidade aparente da PB. Além disso, o lipídio de sais de cálcio é mais digestível.

A digestibilidade da MS, da PB e da FDA não foi diferente em vacas lactantes, recebendo ração controle ou suplementadas com óleo de canola ou canolamide (ácido oléico complexado com aminoácidos para reduzir biohidrogenação), em estudo conduzido por Loor et al., (2002).

O valor energético de um alimento não depende apenas das quantidades dos diversos nutrientes em sua composição, mas, sobretudo das frações desses nutrientes que o animal pode digerir e utilizar. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) representam uma das mais comuns medidas do conteúdo energético dos alimentos, em função de sua praticidade em procedimentos de avaliação de alimentos e cálculo de dietas para os animais. O uso da energia para fêmeas leiteiras depende da extensão da fermentação microbiana, a qual ocorre no rúmen. A extensão e o tipo de fermentação determinam a natureza e a quantidade dos vários metabólitos que são absorvidos no trato digestório (NRC, 2001).

A avaliação de um alimento para ruminantes deve incluir investigações sobre o padrão de fermentação ruminal, o que seria indicativo do potencial do alimento em promover melhores desempenhos. Desta forma, o pH ruminal está diretamente relacionado aos produtos finais da fermentação, bem como a taxa de crescimento dos microrganismos ruminais (Church, 1979). O pH ruminal é influenciado pelo tipo de alimento ingerido, e a sua estabilidade é atribuída, em parte, a saliva, que possui alto poder tamponante, e a capacidade da mucosa ruminal em absorver os ácidos produzidos na fermentação ruminal (Silva & Leão, 1979; Van Soest, 1994). Diante do exposto, os ruminantes dependem dos processos de fermentação dos alimentos realizados pelos microrganismos ruminais para que possam ter bom desempenho produtivo. A atividade microbiana, entre outros fatores, é influenciada pelas variações de pH e pela concentração de amônia ruminal (Wernersbach Filho et al., 2006).

O padrão de fermentação ruminal pode ser modificado em função da dieta fornecida aos animais, o que leva a uma variação na proporção média de ácidos graxos voláteis (AGV). A faixa normal é de 54% a 74% para acetato, 16% a 27% para propionato, 6% a 15% para butirato e 90 a 150 mM para AGV total (Lana, 2005). Kozloski, (2002) relatou que o padrão de fermentação ruminal e, conseqüentemente, a quantidade e proporção dos AGV produzidos pelo ruminante varia, entre outros fatores, com o tipo de carboidrato presente na dieta, com a forma física da dieta, com o nível de consumo, com a freqüência de alimentação e com o uso de aditivos químicos na dieta.

A proporção entre os ácidos graxos voláteis provenientes da fermentação ruminal da fibra (acetato e β-hidroxibutirato) pode influenciar a síntese de gordura na glândula mamária (Kennelly, 1996). A suplementação de altas quantidades de gordura na dieta altera a concentração molar de AGV (Ferlay et al., 1992; Khorasani et al., 1996). Baixas quantidades de acetato e altas de propionato, devido a adição de óleos ou grãos de oleaginosas nas dietas de ruminantes, são usualmente relacionadas com baixa digestão da fibra (Ferlay et al., 1992; Tesfa, 1993).

A uréia representa a via metabólica protéica, pois depende de forma direta, do aporte de proteínas degradáveis da ração. Entretanto, o aporte energético da ração também tem efeito sobre a uréia, pois se o consumo de energia for baixo, altera o metabolismo dos microrganismos ruminais, e com isso, o metabolismo das proteínas no rúmen, aumentando a concentração de amônia, e por conseqüência aumento na concentração de uréia sangüínea (Contreras et al., 2000). A amônia não assimilada pelos microrganismos normalmente é absorvida através da parede do rúmen, removida da circulação portal pelo fígado, onde entra no ciclo da uréia.

De uma forma geral, a presença de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é fator preponderante no desenvolvimento da microflora do rúmen (Russell et al., 1992), a qual influencia o pH e, portanto, a fermentação ruminal. O abastecimento de amônia ruminal é feito por intermédio do nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal, sendo que a concentração de amônia no rúmen é função do equilíbrio entre as taxas de produção e utilização (Van Soest, 1994).

Desta forma, a relação entre a adição de gordura e o desempenho das vacas leiteiras é muito variável devido a influência da fonte e da quantidade de gordura utilizada, método de processamento adotado, e estádio de lactação do animal (Palmquist & Jenkins, 1980). Mesmo considerando que a utilização de lipídeos na dieta de ruminantes pode causar uma pequena redução na digestibilidade da fibra, o seu uso é viável devido aos seus efeitos benéficos, tais como redução na metanogênese e na concentração de amônia ruminal e aumento na produção de propionato, entretanto, recomendam-se fontes que possuam alta digestibilidade no intestino delgado.

Dentro do exposto acima, a união entre fornecer uma suplementação lipídica com grãos de canola, oleaginosa rica em ácidos graxos poliinsaturados, processada por extrusão e com lignosulfonato poderá trazer benefícios para os animais, melhorando os parâmetros nutricionais, como a proteção da proteína da degradação ruminal, além de

benefícios para a qualidade do leite produzido através da proteção dos ácidos graxos poliinsaturados da biohidrogenação ruminal. A associação entre grãos de canola, extrusão e lignosulfonato ainda necessitam de muitas pesquisas, mas os estudos já realizados indicam ser uma boa opção de suplementação lipídica.

Literatura Citada

ABUGHAZALEH, A.A.; SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R. et al. Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2266-2276, 2002.

ALDRICH, J.B.; MULLER, L.D.; VARGAS, G.A. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1091, 1993.

ASHES, J.R.; WELCH, V.; GULATI, S.K. et al. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1090-1096, 1992

ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. New approaches to changing milk composition: potential toalter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 1997.

BAIER, A.C.; ROMAN, E.S. Informações sobre a cultura da "canola" no sul do Brasil. In: Seminário Estadual de Pesquisa de Canola, I, 1992, Cascavel. **Anais...**Cascavel: Embrapa/CNPT, 1992.p.1-9.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H., CORL, B.A. et al. [2005]. **Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants**. Proc Am. Soc. Anim. Sci. 1999. Disponível em: http://www.asas.org/jas/ symposia/proceedings/0937.pdf. Acesso em: 10/12/2005.

BELL, J.M. Factors affeting the nutritional value of canola meal: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v.73, p.679-697, 1993.

BETT, V.; SANTOS, G.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com canola em grão integral em diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.808-815, 1999.

BUCHER, H.C.; HENGSTLER, P.; SCHINDLER, C. et al. Reviews: n-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. **The American Journal of Medicine**, v.112, n.4, p.298-304, 2002.

BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition**. In: CHURCH, D.C. (Ed.) The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: A reston Book. 1989. p.298-312.

CHANG, Y.K.; WANG, S.S. **Advances in extrusion technology. Aquaculture/Animal feeds and foods.** Águas de lindóia: Technomic, 1998, 422p.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, M. et al. Ruminant milk fat plasticity: Nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales Zootechnie**, v.49, p.181-205, 2000.

CHILLIARD, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3897, 1993.

CHOUINARD, P.Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G.H. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.2, p.471-481, 1998.

CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V. et al. Dietary soybeans extruded at different temperatures: Milk composition and in situ fatty acid reactions. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2913-2924, 1997.

CHURCH, D.C. **Digestive Physiology and Nutrition of ruminates. Vol. 1 – Digestive Physiology.** 3 ed. Oxford press Inc. 1979. 350p.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal: digestive, physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, 1988. 543p.

CONTRERAS, P.A.; WITTWER, F.; BÖHMWALD, H. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H. et al. (Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.75-88.

DELBECCHI, L.; AHNADI, C.E.; KENNELLY, J.J. et al. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1375-1381, 2001.

DEMEYER D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminal meat and milk lipids. **Proccedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.

DePETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, review, v.75, p.2043-2070, 1992.

FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.8, p.1815-1823, 1995.

FERLAY, A.; LEGAY, D.; BAUCHART, C. et al. Effect of a supply of raw or extruded rapeseeds on digestion in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.70, p.915-923, 1992.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.M. et al. Conjugated linoleic acid is synthetized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 – desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.

GRUMMER, R.R. **Ruminal inertness vs digestibility of fat supplements: can there be harmony?** In: Cornell nutrition conference for feed manufacturers, 57th 1995. Proceedings ... Ithaca: Cornell University, 1995. P.13-24.

GRUMMER, R.R.; CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3838-3852, 1991.

HARVATINE, K.J.; ALLEN, M. S. Kinetc model of rumen biohydrogenation: fractional rates of fatty acid biohydrogenation and passage**. Journal of Animal and Feed Science**, v.13 (Suppl. 1), p.87-90. 2004.

HIGHTSHOE, R.B.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L,R. et al. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4097-4103, 1991.

IP, C., CHIN, S.F.; SCIMECA, J.A. et al. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleicacid. **Cancer Research**, v.51, p.6118-6124, 1991.

IP, C.; THOMPSON, M.; SINGH, M. Conjugated linolic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. **Cancer Research**, v.54, p.1212-1215, 1994.

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

KENNELLY, J.J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, n.3, p.137-152, 1996.

KHORASANI, G.R.; BOER, G.; ROBINSON, P.H. et al. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones and metabolites in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.492-501, 1992.

KHORASANI, G.R.; OKINE, E.K.; KENNELLY, J.J. Forage source alters nutrients supply to the intestine without influencing milk yield. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.862-872, 1996.

KITESSA, S.; FLINN, P.C.; IRISH, G.G. Comparison of methods used to predict the in vivo digestibility of feeds in ruminants. **Australian Journal Agriculture Research**, v.50, p.825-841-1999.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora UFSM, Santa Maria: UFSM, 2002, 139p.

LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades**). Viçosa: UFV, 2005. 344p.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H.; JENKINS, T.C. Nutrient digestion, biohydrogenation and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lctating Holstein cows fed canola oil or canolamide. **Animal Feed Science and Technology**, v.97, n.1, p.65-82, 2002.

LORGERIL, M. D.; SALEN, P. Fish and n-3 fatty acids for the prevention and treatment of coronary heart disease: nutrition is not pharmacology. **The American Journal of Medicine**, v.112, n.4, p.316-319, 2002.

McGUIRE, M.A.; McGUIRE, M.K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. **Journal of Animal Science**, v.77, S1, 1-af-8-af, 2000.

MEDEIROS, S.R. **Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo, 2002. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo, 2002.

MELBAR. **Lignosulfonato**. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.

MODESTO, E.C. **Silagem de rama de mandioca (Manihot esculenta, Krantz) para vacas leiteiras em lactação: avaliação nutricional e desempenho produtivo**. Maringá – PR: Universidade Estadual de Maringá, 2002. 103p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy ca**ttle. 7th. Rev. ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 2001. 381p.

PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES,** 6., 1989, Piracicaba. Anais...Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11.

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

PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A.D. Feed and animal factors influencing Milk fat composition. ASDA Foundation Symposium: Milk fat synthesis and modification. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.6, p.1753-1771, 1993.

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

PARIZA, M.W.; HA, Y.L. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. **Medical Oncolology Tumor Pharmacotherapy**, v.7, p..169-171,1990.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1339-1349,1999.

PETIT, H.V.; TURCOTTE, M.; AUDY, R. Degradability and digestibility of full-fat soybeans treated with different sugar and heat combinations. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.213-220, 1999.

PETIT, H.V. Digestion, milk poduction, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n.6, p.1482-1490, 2002.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. A net carbohidrate and protein system for evaluationf cattle diets: I. Ruminal fernentation. **Journal Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561. 1992.

SANGIOVANNI, J.P.; BERKEY, C.S.; DWYER, J.T. et al. Review Dietary essential fatty acids, long-chain polyunsaturated fatty acids, and visual resolution acuity in healthy fullterm infants: a systematic. **Early Human Development**, v.57, n.3, p.165–188, 2000.

SANTOS, J.E.P. Feeding for milk composition. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON BOVINE MEDICINE. 5., 2002, Santiago de Compostela. Proceedings… Santiago de Compostela, 2002. p.163.

SEBEDIO, J.L.; GNAEDIG, S.; CHARDIGNY, J. Recent advances in conjugated linoleic acid research. **Current opinial in clinical nutrition and metabolic care**, v.2, p.499-506. 1999.

SILVA, D.C.; SANTOS, G.T.S.; BRANCO, A.F. et al. Production performance and Milk composition of dairy cows fed whole or ground flaxseeds with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2928-2936, 2007.

SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. **Fundamentos da nutrição dos ruminantes.** Piracicaba: Livroceres, 1979. 384p.

SMITH, W.A. **Fats for lactating dairy cows**. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 29., Stellenbosch, 1990. Animal production. Stellenbosch: University of Stellenbosh, 1990. P.1-10.

SOLOMON, R.; CHASE, L.E.; BEM-GHEDALIA, D. et al. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in milk of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1322-1329, 2000.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal,** v.76, n.4, p.291-303, 2005.

TESFA, A.T. Effects of rape-seed oil supplementation on digestion, microbial proyein synthesis and duodenal microbial amino acid composition in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.41: 313-328, 1993.

TYMCHUK, S.M.; KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Effect of feeding formaldehyde – and heat- treated oil seed on Milk yield and Milk composiotion. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78, p.693-700, 1998.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes.** FUNEP: Jaboticabal, p.151-182, 2006.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant, 2nd edition. Cornell University** press. United States of America. 1994. 476p.

WANG, Y.; NOWAK, G.; CULLEY, D. et al. Constitutive expression of pea defense gene DRR206 confers resistance to blackleg (Leptosphaeria maculans) disease in transgenic canola (*Brassica napus*). **Mol. Plant – Microbe Interact**. 12:410-418, 1999.

WERNERSBACH FILHO, H.L.; CAMPOS, J.M.S.; ASSIS, A.J. et al. Variáveis ruminais, concentração de uréia plasmática e excreções urinárias de nitrogênio em vacas leiteiras alimentadas com concentrado processado de diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1236-1241, 2006 (supl.).

WHITLOCK, L.A.; SCHINGOETHE, D.J.; HIPPEN, A.R. et al. Fish oil and extruded soybeans fed en combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.

WINDSCHITL, P.M.; STERN, M.D. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen- protected protein for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3310-3325, 1988.

OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da adição de grãos de canola extrusados ou não, com e sem adição de lignosulfonato na dieta de vacas da raça Holandesa sob os parâmetros:

- Consumo e digestibilidade dos nutrientes;
- Produção e composição físico-química do leite;
- Perfil de ácidos graxos da gordura do leite;
- Parâmetros ruminais e metabólitos sangüíneos;
- Degradabilidade *in situ* e fracionamento de carboidrato e proteína dos grãos de canola.

CAPÍTULO I – ARTIGO I

Qualidade do leite de vacas da raça holandesa alimentadas com grãos de canola moídas ou extrusadas com ou sem lignosulfonato.

Resumo: O objetivo da pesquisa foi avaliar a produção, a composição e o perfil dos ácidos graxos do leite de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo grãos de canola moída (CM), grãos de canola extrusadas (CE), grãos de canola moídas e tratadas com lignosulfonato (CML) e grãos de canola extrusadas e tratadas com lignosulfonato (CEL). Foram utilizadas oito vacas distribuídas em um delineamento em duplo quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos com 21 dias cada. A produção de leite foi de 18,80, 19,51, 18,64 e 19,01 kg/dia para os tratamentos CM, CE, CML e CEL, respectivamente, de forma que não houve diferença entre os processamentos avaliados (P>0,05). Os tratamentos avaliados não alteraram a composição físico-química do leite, entretanto os tratamentos extrusados resultaram no decréscimo da concentração de gordura no leite devido ao aumento da concentração do isômero 18:2 10t 12c, sendo este responsável pela redução da atividade lipogênica na glândula mamária. O processamento do grão de canola alterou o perfil dos ácidos graxos do leite, onde a extrusão proporcionou o aumento do ácido graxo 18:1 11t e 18:2 10t 12c, e a redução dos ácidos graxos 18:3 n-3, 22:4 n-6 e 22:5 n-3, reduzindo a concentração de n-3, n-6, mas aumentando a proporção ômega-6/ômega-3. No entanto, o fornecimento de grão de canola tratada com lignosulfonato aumentou somente o ácido graxo 18:1 11t, mas não influenciou na concentração dos outros ácidos graxos. A combinação entre extrusão e lignosulfonato resultou somente no aumento do 18:1 11t. A alimentação de vacas Holandesas com grãos de canola extrusados e tratados com lignosulfonato ou a associação entre os dois processamentos não alterou a produção, a concentração de ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados, a concentração do isômero 18:2 9c 11t no leite, entretanto reduziu o teor de gordura, devido ao aumento da concentração do isômero 18:2 10t 12c nos tratamentos extrusados.

Palavras-chave: oleaginosas, CLA, depressão da gordura do leite, processamento do grão, proteção ruminal

Milk Quality of Holstein Cows Fed Crushed or Extruded Ground Canola with or without Lignosulfonate

Abstract: The objective of this work was to evaluate the milk production, milk composition and milk fat profile of Holstein cows fed with ground canola (GC), extruded ground canola (EC), ground canola with Lignosulfonate (GCL) and extruded ground canola with lignosulfonate (ECL). Eight cows, alotted in a double Latin square, with four treatments and four periods with 21 days each one, were utilizated. Milk production was 18.80, 19.51, 18.64 and 19.01 kg/day for GC, EC, GCL and ECL, respectivaly, and did not have any difference for the evaluated processing (P>0.05). The treatments did not affect milk physicochemical composition, however the extrusion resulted in low milk fat concentration because of the increase of 18:2 10t 12c isomer concentration, responsible for lipogenic active reduction on mammary gland. The canola processing altered the milk fat profile, thus the extrusion increased 18:1 11t and 18:2 10t 12c, provided reduction of the fatty acids 18:3 n-3, 22:4 n-6 and 22:5 n-3, decreasing n-3 and n-6 concentration, but increasing n-6/n-3 relationship. However, the canola grains treated with lignosulfonate incresead the supply 18:1 11t fatty acid, but not affect other fatty acids. The extrusion and lignosulfonate combination result only on the 18:1 11t increase. Feeding extruded canola and treated with lignosulfonate or both did not affect the milk production, saturated, unsaturated, polyunsaturated, 18:2 9c 11t on milk fatty acids concentration, but decrease the milk fat due the 18:2 10t 12c on extruded treatments.

Palavras-chave: oleaginous, CLA, Milk fat depression, grain processing, ruminal protection

Introdução

O uso do grão de oleaginosas na alimentação de vacas leiteiras é tema de muitas pesquisas devido a rica composição química em ácidos graxos poliinsaturados destes ingredientes, e a possibilidade de incorporação destes ácidos graxos ao leite pelo organismo animal. Outro aspecto amplamente abordado é a associação entre a ingestão de gorduras do leite pelo ser humano e a sua relação com os problemas de saúde.

A gordura é o componente do leite mais fácil de ser modificado através da nutrição, tanto em quantidade quanto em composição, já,que uma grande parte da gordura do leite (cerca de 44%) é proveniente dos triglicerídeos ingeridos pelo animal (Gonzáles & Silva, 2003). Entretanto, há um limite de inclusão de grãos de oleaginosas na dieta, pois o excesso de gordura afeta negativamente a atividade celulolítica e a digestibilidade da fibra no rúmen (Harfoot & Hazlewood, 1997), alterando a produção de ácidos graxos voláteis, o consumo, a produção e conseqüentemente os componentes do leite. Outro aspecto relacionado com o fornecimento de grãos de oleaginosas, é que os ácidos graxos poliinsaturados presentes nos grãos podem sofrer biohidrogenação ruminal, de forma que a composição de ácidos graxos exógenos disponíveis para a glândula mamária é modificada.

A biohidrogenação é um ato de defesa natural dos microrganismos do rúmen, sobre as gorduras insaturadas que lhes são tóxicas. Portanto, uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados na dieta prejudica a degradação da fibra, pois reagem com as membranas celulares das bactérias, principalmente as gram-positivas, fibrolíticas, afetando a integridade da barreira seletiva (Jenkins, 1993). Este efeito tóxico sobre as bactérias reduz a razão acetato: propionato e, conseqüentemente, o suprimento de ácido acético, precursor direto de cerca de 50% da gordura do leite (Palmquist, 1989). A biohidrogenação é realizada por algumas bactérias ruminais, sendo esta um obstáculo ao fornecimento de ácidos graxos insaturados para a deposição no tecido adiposo ou incorporação pela glândula mamária. Em média, 80% do linoléico e 92% do linolênico são saturados devido a biohidrogenação (Fellner et al., 1995). O produto final da biohidrogenação é o ácido esteárico. Portanto, a adição de ácidos graxos poliinsaturados na dieta de animais ruminantes, não garante que estes apareçam na carne ou leite, uma vez que durante a biohidrogenação, os ácidos graxos insaturados são hidrogenados a ácidos graxos saturados (Medeiros, 2002).

Neste contexto de fornecimento de ácidos graxos poliinsaturados e biohidrogenação ruminal, várias alternativas de proteção dos ácidos graxos são estudadas, de forma a evitar a disponibilidade às bactérias ruminais, minimizar a biohidrogenação ruminal e reduzir os efeitos negativos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal. Dentre os métodos, há destaque para o uso da extrusão, peletização, sais de cálcio, gordura de origem vegetal ou a utilização de grãos inteiros de oleaginosas (Ashes et al., 1997).

A redução da biohidrogenação pode aumentar a digestibilidade e a produção do leite em animais alimentados com sais de Ca ou ácidos graxos oriundos de óleo de canola, soja ou linhaça (Chouinard et al., 1998) devido ao menor efeito sobre a fermentação ruminal e ao aumento na quantidade de ácidos graxos poliinsaturados na gordura do leite (Ashes et al., 1997).

Outra forma de proteção é a utilização de lignosulfonato. Este composto é um subproduto oriundo da indústria de madeira, rico em xilose. Atua reduzindo a degradabilidade ruminal e aumenta a concentração de proteína não degradável no rúmen (Petit et al., 1999). Como é um aglutinante energético, altamente higroscópico, pode atuar envolvendo os ácidos graxos e impedindo a ação das bactérias, evitando assim a hidrogenação.

A canola é uma semente oleaginosa que apresenta grande quantidade de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados. Medeiros (2002) comparou o perfil de ácidos graxos de diversos alimentos e relatou que a canola possui 53,8% de ácidos 18:1, 22,1% 18:2 e 11,1% de 18:3, representando 87% de ácidos graxos mono e poliinsaturados.

O ácido linoléico conjugado (CLA) representa uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido octadecadienóico com duplas ligações conjugadas, que se encontram em alta concentração nos alimentos derivados dos animais ruminantes (Modesto et al., 2002), sendo o isômero 18:2 9c 11t o mais abundante (85%) (Parodi, 1999). O CLA é formado durante a biohidrogenação ruminal incompleta do ácido linoléico e/ou formado na glândula mamária a partir do 18:1 11t, um outro intermediário da biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen.

O CLA é considerado um micro-componente dos produtos de origem animal e possui efeitos positivos para a saúde humana, auxiliando na prevenção de doenças. Estes compostos constituem os denominados alimentos funcionais ou nutracêuticos e a adição de oleaginosas, tais como girassol, soja, milho, canola e linhaça nas dietas de vacas aumentam a concentração de CLA no leite (Bauman et al., 1999). Neves et al.,

(2007), avaliando o fornecimento de grãos de soja extrusados, obtiveram aumento na concentração do isômero 18:2 9c 11t no leite.

A extrusão protege parcialmente o ácido linoléico da biohidrogenação ruminal, ocorrendo atividade incompleta das bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens* (Griinari & Bauman, 1999). A proteção permite ainda outras alterações metabólicas que também proporcionam melhoria na qualidade do leite, tais como o aumento dos ácidos graxos poliinsaturados no leite e redução dos saturados, que são relacionados com problemas cardíacos e outras doenças.

Ashes et al., (1992), utilizando grão de canola protegido, verificaram redução nas proporções dos ácidos graxos saturados 16:0, 14:0 e 12:0 e aumento nas proporções dos ácidos graxos 18:0, 18:1, 18:2 e 18:3 no leite de vacas, em conseqüência da transferência destes ácidos graxos da dieta para o leite. Outros componentes tais como proteína, sólidos totais, e nitrogênio uréico no leite também podem sofrer alterações de acordo com a alimentação.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar se a extrusão e o tratamento com lignosulfonato do grão de canola podem proteger os ácidos graxos poliinsaturados da ação das bactérias ruminais e com isso melhorar a qualidade do leite.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, Brasil, no período de outubro a dezembro de 2005. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandesa, multíparas, com 62 ± 8 dias de lactação, peso médio de 538,03 ± 9,98 kg, distribuídas em um duplo quadrado latino, com quatro períodos de 21 dias cada, sendo 14 dias para adaptação e 7 dias para coleta dos dados.

Os animais ficaram alojados em instalações do tipo *tie stall* e receberam alimentação individualmente, duas vezes ao dia, às 8h e 16h, imediatamente após as ordenhas da manhã e da tarde, respectivamente. A dieta foi ajustada de forma a obter 10% de sobras diariamente. As vacas foram pesadas no primeiro e no último dia de cada período experimental.

Foi determinado o efeito dos tratamentos: grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com lignosulfonato (CML) 50 g/kg MS e grão de canola extrusada tratada com lignosulfonato (CEL) 50 g/kg MS do grão

de canola sobre a produção, composição físico-química e perfil dos ácidos graxos do leite. A Tabela 1 apresenta a proporção dos alimentos e a composição química (% na matéria seca) das dietas experimentais.

A canola utilizada na composição dos quatro tratamentos foi moída em uma peneira de 5 mm e após a moagem cada tratamento recebeu um processamento diferenciado. O tratamento CM foi apenas moído e fornecido aos animais. O lignosulfonato foi adicionado a canola após moagem, entretanto, antes da extrusão. O lignosulfonato utilizado foi o Melbond®, sendo este um lignosulfonato de cálcio e magnésio, derivado da madeira (Melbar, 2000, São Paulo, SP, Brasil). A extrusão foi realizada em extrusora MX-100 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil), sem uma fonte externa de calor e umidade a uma temperatura de 120ºC. A velocidade de passagem foi de 550 rpm e o diâmetro do canhão foi de 9,5 mm. O tempo de residência e a média de produção foram 30 s e 800 kg/h, respectivamente.

A proporção volumoso/concentrado foi 57/43. Na Tabela 2, estão apresentados os perfis dos ácidos graxos da dieta total e na Tabela 3, estão demonstrados os perfis dos ácidos graxos do concentrado.

A produção do leite foi mensurada diariamente no sistema coletor de leite nas ordenhas da manhã e da tarde. As amostras para análise da composição físico-química do leite foram obtidas de quatro ordenhas consecutivas no 15º e 16º dia (manhã e tarde) em cada período experimental, de forma a obter uma amostra composta de cada vaca em cada período. As amostras de leite foram acondicionadas em frascos de polietileno devidamente identificados contendo o conservante 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol (Bronopol, D&F Control Systems Inc., San Ramon, CA, USA) para conservação até a realização das análises de gordura, proteína, lactose e sólidos totais.

TABELA 1– Proporção dos alimentos e composição química (% da MS) das dietas experimentais grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com lignosulfonato (CML) e grão de canola extrusada tratada com Lignosulfonato (CEL).

Alimentos	**Tratamentos**					**Probabilidade**		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Ext x Lig
Silagem de milho	57,00	57,00	57,00	57,00	-	-	-	-
Milho moído	9,14	9,14	9,14	9,14	-	-	-	-
Farelo de soja	18,06	18,06	18,06	18,06	-	-	-	-
Suplemento mineral vitamínico [a]	1,82	1,82	1,82	1,82	-	-	-	-
Grão de canola moída	13,98	-	-	-	-	-	-	-
Grão de canola extrusada	-	13,98	-	-	-	-	-	-
Grão de canola moída com lignosulfonato	-	-	13,98	-	-	-	-	-
Grão de canola extrusada com lignosulfonato	-	-	-	13,98	-	-	-	-
Matéria seca	52,46	53,38	52,71	53,62	0,27	0,007	0,38	0,58
Matério orgânica	92,71	92,76	92,74	92,68	0,14	0,98	0,90	0,71
Matéria mineral	7,29	7,24	7,26	7,31	0,14	0,98	0,90	0,71
Proteína bruta	17,80	17,54	17,44	17,29	0,11	0,08	0,02	0,63
Extrato etéreo	6,65	7,71	7,29	6,97	0,26	0,19	0,83	0,03
Fibra em detergente neutro	41,04	41,19	41,90	40,18	0,51	0,16	0,88	0,10
Fibra em detergente ácido	24,26	24,11	24,44	24,61	0,21	0,95	0,14	0,47
Carboidratos não estruturais (CNE)[b]	27,21	26,31	26,11	28,25	0,60	0,33	0,50	0,03
Nutrientes digestíveis totais (NDT)[c]	71,64	70,39	68,68	70,66	1,35	0,72	0,34	0,26
Energia líquida de lactação (ELl) [d]	1,63	1,60	1,56	1,61	0,03	0,79	0,34	0,26

[a] Ca : 270 g/kg, P : 80 g/kg, S : 20 g/kg, Mg : 15 g/kg, Fe : 2200 mg/kg, Cu: 800 mg/kg, Co: 50 mg/kg, I: 60 mg/kg, Se: 40 mg/kg, Zn: 2800 mg/kg, F: 801 mg/kg, Vit. A: 216000 U.I./kg, Vit. D: 67600 U.I./kg, Vit. E : 500 mg/kg.

[b] CNE = 100 – (PB + EE + FDN + Cinzas).

[c] %NDT = %PBD + %FDND + %CNED + %(EED x 2,25) (Weiss, 1999).

[d] ELl (Mcal/kg) = 0,0245 x %NDT – 0,12 (NRC, 2001).

As análises dos componentes químicos do leite foram realizadas no laboratório do Programa de Análises de Rebanhos Leiteiros da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, em Curitiba –PR. A determinação das concentrações de proteína, gordura e lactose no leite foram realizadas utilizando um espectrofotômetro (Bentley 2000; Bentley Instrument, Inc., Chaska, MN).

Outras duas amostras de leite/animal/período foram coletadas nos 15º e 16º dias de cada período, acondicionadas em frascos plásticos sem adição de conservantes e congeladas a –10ºC para posterior análise do perfil de ácidos graxos. Para a análise de perfil de ácidos graxos, a gordura foi extraída do leite por centrifugação, após descongelamento das amostras de leite (Murphy et al., 1995) e foi esterificada conforme método 5509 da ISO (1978) utilizando KOH/metanol (Synth®, São Paulo, Brasil) e n-heptano (Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil).

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa em um Cromatógrafo Varian (Palo Alto, CA) com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 μm de Carbovax 20M). O fluxo de gases foi de 1,2 mL/min (gás H_2 de arraste), 32 mL/min (gás N_2 auxiliar) e 30 e 300 mL/min, respectivamente, para o H_2 e ar sintético (gases para chama). A temperatura inicial da coluna foi estabelecida em 65°C, mantida por 8 min, elevada até 170°C a uma taxa de 5°C/min , mantida por 40 minutos, até 240°C de temperatura final elevada a uma taxa de 5°C/min e mantida por 28,5 minutos.

A identificação dos ácidos graxos foi feita através da comparação com o tempo de retenção de padrões (SIGMA®, São Paulo, SP, Brasil) e as concentrações através do Integrador-Processador CG-300.

Paralelamente as coletas de leite, foram realizadas medições da acidez do leite utilizando-se a solução Dornik e também a densidade do leite com o uso do termolactodensímetro (AOAC, 1984).

TABELA 2 – Perfil de ácidos graxos na dieta total com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

Alimentos	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Ext x Lig
16:0	12,52	12,58	12,58	12,62	0,02	0,06	0,07	0,49
18:0	2,81	2,82	2,81	2,71	0,04	0,32	0,22	0,18
18:1 n-9	37,86	37,77	37,62	37,70	0,12	0,95	0,23	0,50
18:1 n-7	0,63	0,64	0,58	0,58	0,03	0,92	0,05	0,99
18:2 n-6	28,69	28,80	28,88	28,88	0,07	0,42	0,07	0,44
18:3 n-3	13,47	13,27	13,34	13,33	0,06	0,15	0,64	0,17
Outros	4,03	4,11	4,19	4,17	0,07	0,64	0,15	0,53

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

TABELA 3 – Perfil de ácidos graxos nos concentrados com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

Alimentos	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Ext x Lig
16:0	4,86	5,03	5,02	5,11	0,06	0,06	0,07	0,49
18:0	2,41	2,45	2,42	2,18	0,11	0,32	0,22	0,18
18:1 n-9	61,58	61,35	60,99	61,18	0,32	0,95	0,23	0,50
18:1 n-7	1,68	1,68	1,537	1,54	0,07	0,92	0,05	0,99
18:2 n-6	19,05	19,33	19,53	19,53	0,18	0,42	0,07	0,44
18:3 n-3	6,72	6,26	6,42	6,41	0,16	0,15	0,64	0,17
Outros	3,70	3,90	4,08	4,05	0,19	0,64	0,15	0,53

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (2000) com um arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados usando um delineamento de duplo quadrado latino 4 x 4.

O efeito dos tratamentos foi analisado por contrastes, comparando-se: com e sem lignosulfonato, com e sem extrusão e a interação entre extrusão e lignosulfonato. O nível de significância de $P<0,05$ foi considerado significativo e de $P<0,10$ foi considerado como tendência. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + A_l + TQ_{ik} + PQ_{jk} + A/Q_{lk} + e_{ijklm}$$

em que: Y_{ijklm} = observação referente a repetição m, do animal l, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k; μ = média geral; T_i= efeito do tratamento i (CM, CE, CML e CEL); P_j= efeito do período j (1, 2, 3 e 4); Q_k= efeito de quadrado latino k (1 e 2); A_l = efeito do animal l (1 a 8); TQ_{ik}= interação do tratamento i com o quadrado k; PQ_{jk}= interação do período j com o quadrado k; A/Q_{lk}= animal l aninhado dento de quadrado latino k; e_{ijklm}= erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu o tratamento i no período j para o quadrado k.

Resultados e discussão

A produção de leite observada foi 18,80, 19,51, 18,64 e 19,01 kg/dia para os tratamentos CM, CE, CML e CEL, respectivamente (Tabela 4). Não houve diferença entre os tratamentos avaliados para este parâmetro ($P>0,05$).

O aumento na produção de leite pode ser associado com o aumento no fornecimento de proteína não degradável no rúmen (PNDR), contudo, Santos (2006) avaliou 88 experimentos de lactação onde o farelo de soja foi substituído parcialmente ou totalmente por fontes ricas em PNDR e em apenas 17% das pesquisas a substituição aumentou a produção de leite, todavia, o autor ressalta que ganhos na produção de leite são mais prováveis com vacas de produção acima de 30 kg de leite/dia.

Os dados obtidos avaliando a canola extrusada, com lignosulfonato e a associação entre os dois tratamentos, extrusão e lignosulfonato, foram realizados com animais de média produção, assim ganhos na produção de leite tornam-se mais difíceis de serem obtidos.

Os resultados obtidos são semelhantes aos observados por Neves et al., (2007), que avaliando o fornecimento de grãos de soja extrusados e/ou tratados com

lignosulfonato para vacas em lactação também não observaram alteração na produção de leite, embora, as vacas que receberam grãos de soja extrusados sem lignosulfonato tenderam (P=0,07) a aumentar a produção de leite, assim como relatado por Chouinard et al., (1997a) trabalhando com dietas contendo soja extrusada em diferentes temperaturas.

Ashes et al., (1992), avaliando a inclusão de grão de canola protegida por emulsificação e encapsulação de canola, também não encontraram diferenças na produção de leite, assim como Chouinard et al., (1997b) comparando dietas contendo soja extrusada com outra sem tratamento térmico. Entretanto, Wright et al., (2005), avaliando dietas contendo grãos de canola tratadas com temperatura ou processadas com lignosulfonato, encontraram aumento na produção de leite das vacas que receberam canola tratada com temperatura e com lignosulfonato em comparação com as dietas contendo canola sem tratamento. Outros autores também não observaram alteração na produção de leite trabalhando com grão de canola tratadas com Jet-Sploded® (Khorasani & Kennelly, 1998).

A quantidade de proteína encontrada no leite apresentou-se semelhante para os contrastes avaliados. As médias estão apresentadas na Tabela 4. Os principais fatores que podem afetar o conteúdo de proteína no leite é a proporção entre volumoso/concentrado, a quantidade e a fonte de proteína e, gordura da dieta (Jenkins & McGuire, 2006). Tais autores afirmam que muitos estudos foram realizados com o intuito de manipular a quantidade de nitrogênio no leite, mas ressaltam que é necessário distinguir entre as respostas que afetam o conteúdo de proteína (% no leite) dos fatores que afetam a produção de proteína (kg de proteína/ dia).

Os resultados obtidos no presente trabalho divergem dos relatados por Chouinard et al. (1997b) que observaram redução na concentração de proteína do leite em pesquisas utilizando grãos de soja extrusados, todavia, tais pesquisas foram realizadas com vacas com maior produção de leite do que as utilizadas neste experimento. Entretanto, outras pesquisas apresentaram resultados semelhantes, já que Scott et al., (1991) compararam dietas contendo grãos de soja extrusados ou moídos e não observaram diferença em vacas de baixa produtividade, assim como Khorasani & Kennelly, (1998), trabalhando com grãos de canola tratadas com Jet-Sploded®. Neves et al., (2007) também não encontraram diferença nos teores de proteína do leite em pesquisa avaliavando a extrusão e o lignosulfonato, assim como Ashes et al., (1992), trabalhando com grãos de canola protegidas com formaldeído.

As concentrações de lactose, sólidos totais e acidez do leite não tiveram influência dos tratamentos estudados, já a densidade do leite apresentou-se maior nos tratamentos extrusados em comparação aos moídos e também significativamente na interação da extrusão com o lignosulfonato.

Wright et al., (2005), avaliando dietas contendo grãos de canola tratadas com temperatura ou processadas com lignosulfonato relataram que os tratamentos avaliados não influenciaram a composição química do leite, exceto para a concentração de nitrogênio ureico no leite (MUN) que se apresentaram menores no leite das vacas que foram alimentadas com o tratamento contendo canola tratada, tanto com efeito térmico quanto com o lignosulfonato.

No presente experimento a extrusão resultou no decréscimo da concentração de gordura no leite (Tabela 4). Muitos trabalhos avaliando sementes de oleaginosas resultaram na queda do teor de gordura. Os resultados observados no presente experimento são semelhantes aos obtidos por Block et al., (1981); Guillaume et al., (1991) e Neves et al. (2007), entretanto, divergem do encontrado por Ashes et al., 1992) que encontram aumento no conteúdo e na produção de gordura do leite das vacas que receberam o tratamento contendo grão de canola protegida.

A redução da concentração da gordura do leite das vacas alimentadas com as dietas extrusadas pode estar relacionada com o aumento do isômero 18:2 10t, 12c no leite, já que este isômero foi descrito por Baumgard et al., (2000) como sendo responsável pela redução da lipogênese. Jenkins & McGuire (2006) em revisão sobre as causas da depressão da gordura no leite concluíram que o isômero 18:2 10t, 12c é o principal fator responsável por esta redução. Segundo Bauman & Griinari, (2003); Peterson et al., (2003) e Harvatine & Allen, (2006), tal mecanismo de depressão da gordura do leite está associada com a incompleta biohidrogenação dos ácidos graxos poliinsaturados, que estimula o fluxo duodenal de 18:1 t e de 18:2 10t 12c, e que impacta na redução dos genes relacionados com a lipogênese.

As concentrações de ácidos graxos no leite para os diferentes tratamentos avaliados estão apresentadas na Tabela 5. A extrusão do grão de canola proporcionou um aumento de 18:1 11t, popularmente conhecido como vacênico (TVA) e do isômero 18:2 10t 12c, entretanto, proporcionou redução dos ácidos graxos 18:3 n-3, 22:4 n-6 e 22:5 n-3.

TABELA 4 - Produção e composição físico-química do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Ext x Lig
Produção de leite (kg/dia)	18,80	19,51	18,64	19,01	0,54	0,33	0,55	0,75
PLC 3,5% (kg/dia)	18,45	18,05	18,23	17,55	0,57	0,35	0,54	0,81
Proteína (%)	3,09	3,10	3,10	3,02	0,05	0,46	0,47	0,40
Gordura (%)	3,44	3,05	3,39	3,04	0,15	0,02	0,86	0,89
Lactose (%)	4,44	4,40	4,33	4,39	0,06	0,88	0,43	0,45
Sólidos totais (%)	11,88	11,52	11,77	11,32	0,24	0,12	0,54	0,85
Acidez	1,75	1,68	1,7	1,68	0,03	0,23	0,51	0,46
Densidade	1027,5	1028,8	1027,7	1027,7	0,29	0,05	0,15	0,04

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

Como exposto anteriormente, este aumento na concentração de 18:2 10t 12c é o principal fator responsável pela redução do teor de gordura do leite dos animais que receberam os tratamentos extrusados, concordando com o observado na literatura. O tratamento do grão de canola com lignosulfonato proporcionou aumento na concentração do TVA, mas não influenciou na concentração dos outros ácidos graxos.

Poucos trabalhos foram realizados utilizando o lignosulfonato como protetor dos ácidos graxos da biohidrogenação, alterando assim o perfil dos ácidos graxos no leite. Neves et al., (2007) realizaram pesquisa com grãos de soja extrusados e tratados com lignosulfonato e concluíram que a extrusão é uma boa alternativa de melhorar a composição do leite visando a melhoria da saúde humana, mas relatam que o lignosulfonato teve menor importância sobre o perfil dos ácidos graxos do leite, semelhante ao observado no presente trabalho, já que a combinação entre a extrusão e o lignosulfonato resultou somente no aumento do 18:1 11t e do 17:0.

O perfil dos ácidos graxos dos tratamentos está apresentado na tabela 3, e demonstrou ser característico de dietas contendo canola, apresentando em média 61,3 % de 18:1 9c. A análise do perfil dos ácidos graxos no leite dos animais avaliados revelou que parte dos ácidos graxos com insaturações em suas cadeias contidos na dieta, foram incorporados ao leite. Ainda, pode-se sugerir que os ácidos graxos poliinsaturados presentes na canola foram parcialmente biohidrogenados no rúmen, uma vez que o leite apresentou grande quantidade de intermediários deste processo, tais como o ácido 18:1 11t e o CLA.

A biohidrogenação é um ato de defesa natural dos microrganismos do rúmen contra as gorduras insaturadas que lhe são tóxicas, e tal processo prejudica a degradação da fibra, pois reage com as membranas celulares das bactérias, principalmente as gram-positivas, fibrolíticas, afetando a integridade da barreira seletiva (Jenkins, 1993).

TABELA 5- Concentrações de ácidos graxos no leite de vacas da raça Holandesa (percentagem do total de ácidos graxos) alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos [a.]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Ext x Lig
4:0	0,42	0,39	0,50	0,43	0,03	0,20	0,08	0,53
6:0	0,46	0,44	0,55	0,46	0,03	0,12	0,11	0,33
8:0	0,39	0,37	0,45	0,39	0,03	0,11	0,16	0,41
10:0	1,11	1,07	1,21	1,10	0,06	0,24	0,32	0,58
12:0	1,37	1,39	1,46	1,36	0,06	0,54	0,63	0,31
14:0	7,32	7,61	7,48	7,49	0,25	0,56	0,93	0,58
15:1 10c	0,74	0,77	0,74	0,77	0,02	0,14	0,90	0,90
15:0 iso	0,69	0,73	0,72	0,73	0,03	0,46	0,72	0,70
16:0 iso	0,20	0,19	0,23	0,21	0,03	0,69	0,40	0,78
16:0	19,87	19,78	19,63	19,85	0,31	0,85	0,78	0,61
16:1 9c	1,57	1,67	1,58	1,65	0,05	0,09	0,93	0,79
17:0	0,47	0,44	0,43	0,46	0,01	0,72	0,37	0,03
17:0 iso	0,39	0,39	0,39	0,39	0,01	0,93	0,78	0,81
17:1 10c	0,18	0,16	0,17	0,16	0,01	0,25	0,47	0,70
18:0	21,11	19,81	20,34	20,18	0,67	0,29	0,77	0,40
18:1 11t	3,00	4,48	3,72	4,24	0,07	< 0,0001	0,00	< 0,0001
18:1 n-9	34,02	33,13	33,45	32,96	0,49	0,18	0,46	0,69
18:2 n-6	1,57	1,53	1,69	1,53	0,06	0,09	0,34	0,28
18:2 9c 11t	0,57	0,65	0,58	0,64	0,05	0,11	0,97	0,77
18:2 10t 12c	0,11	0,19	0,15	0,19	0,01	0,00	0,23	0,25
18:3 n-3	0,32	0,26	0,35	0,26	0,01	< 0,0001	0,29	0,28
20:0	0,39	0,38	0,37	0,37	0,01	0,38	0,22	0,87
20:4 n-6	0,10	0,08	0,09	0,07	0,005	0,00	0,25	0,44
22:4 n-6	0,05	0,04	0,04	0,04	0,003	0,42	0,16	0,20
22:5	0,06	0,05	0,05	0,05	0,002	0,03	0,55	0,37
Não identificado	3,10	3,57	3,23	3,61	0,18	0,03	0,66	0,79

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

O produto final da biohidrogenação é o ácido esteárico (Harfoot & Hazlewood, 1997). Este processo é.considerado um obstáculo entre o fornecimento de ácidos graxos insaturados e a sua incorporação ao leite via glândula mamária, já que em dietas convencionais quase todo 18:2 e 18:3 são biohidrogenados (Medeiros, 2002). Porém, conforme descrito em diversos trabalhos na literatura é possível minimizar os efeitos das bactérias ruminais sobre os ácidos graxos insaturados protegendo tais ácidos graxos via processamento físico ou químico.

Os resultados observados nesta pesquisa sugerem que a extrusão interferiu no processo de biohidrogenação dos ácidos graxos. O aumento do 18:1 11t é um indício disto, já que a maior quantidade deste intermediário da biohidrogenação foi encontrado no leite das vacas que receberam as dietas extrusadas ou a combinação da extrusão com o lignosulfonato. Cavalieri et al., (2005) também observaram aumento de 18:1 11t e CLA quando forneceram fonte com rápida liberação de gordura contendo grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados. Neves et al., (2007) obtiveram um aumento na concentração de 18:1 11t e 18:2 9c 11t com o processamento do grão de soja por extrusão, o mesmo resultado foi observado por Chouinard et al. (1997a).

O aumento da concentração de 18:1 11t e do CLA nos tratamentos extrusados é resultado interessante, para a busca de melhor qualidade de vida associada com a saúde humana, obtida através de alimentação mais saudável, utilizando alimentos ricos em ácidos graxos insaturados. O CLA é associado com efeitos anticarcinogênicos, antiaterogênicos, aumento da resposta imune, redução da gordura acumulada no corpo e ainda, efeito antidiabético (Whigham et al., 2000; Tanaka, 2005). Devido a sua importância sendo o alvo de muitas pesquisas.

A alteração na concentração de TVA via extrusão, pode ser conseqüência da liberação da gordura presente no interior do grão (Murphy et al., 1990). Esta gordura fica mais suscetível a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos e leva a uma redução na concentração de 18:2 e 18:3 na gordura do leite (Chouinard et al., 1997a).

Tanaka (2005) relata que a síntese endógena do CLA ocorre envolvendo a enzima Δ^9-dessaturase e o precursor 18:1 11t. Desta forma, a maior concentração de CLA (18:2 10t, 12c) nos tratamentos com extrusão pode ser proveniente também da maior quantidade de 18:1 11t disponível na glândula mamária.

TABELA 6 - Concentrações e razões de ácidos graxos agrupados no leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lignosulfonato	Extrusão x Lig
AGM [b]	39,51	40,21	39,65	39,79	0,58	0,47	0,82	0,63
AGP [c]	2,77	2,80	2,95	2,78	0,10	0,49	0,47	0,34
AGS [d]	54,63	53,42	54,17	53,82	0,70	0,28	0,98	0,54
AGP/AGS	0,05	0,05	0,05	0,05	0,002	0,88	0,57	0,36
n-3 [e]	0,37	0,31	0,40	0,31	0,01	< 0,0001	0,34	0,35
n-6 [f]	1,72	1,65	1,82	1,64	0,06	0,04	0,44	0,34
n-6/n-3	4,68	5,51	4,63	5,41	0,12	< 0,0001	0,55	0,83

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP);
[b] AGM = Ácidos graxos monoinsaturados;
[c] AGP= Ácidos graxos poliinsaturados;
[d] AGS= Ácidos graxos saturados;
[e] n-3 = ômega 3;
[f] n-6 = ômega 6.

A extrusão associada com lignosulfonato não influenciou a produção de CLA no leite dos animais avaliados e também não alteraram a concentração de ácidos graxos ômega-3 (n-3), ômega-6 (n-6) e a proporção n-6/n-3, todavia a extrusão da oleaginosa resultou no decréscimo da concentração de n-3 e n-6, e aumento da proporção n-6/n-3 (Tabela 6).

Os ácidos graxos n-3 reduzem a incidência de doenças cardiovasculares, prevenção da arteroesclerose e trombose, resultante da modificação do metabolismo dos lipídeos e lipoproteínas no sangue (Kinsella et al., 1990). Ainda, são antiflamatórios, antiarrítmicos e reduzem os lipídeos no sangue, tendo propriedades vasodilatadoras (Fagundes, 2002). Já a família n-6, produz eicosanóides inflamatórios e cancerígenos, aumentando o risco de doenças como câncer, doenças cardíacas, aumento de pressão arterial, depressão entre outras (Fagundes, 2002). Desta forma, é de extrema importância para a saúde reduzir a quantidade de n-6, e aumentar a concentração de n-3, na dieta.

Os resultados de agrupamentos dos ácidos graxos apresentados na Tabela 6 demonstram que a extrusão não proporcionou resultados positivos com relação aos ácidos graxos n-3, já que reduziu a concentração de n-3, em maior proporção que a de n-6, de forma que a razão entre estas duas famílias de ácidos foi aumentada, ficando acima do proposto por Sim, (1998), onde a proporção não deve passar de 4/1.

Conclusões

A alimentação de vacas Holandesas com grãos de canola extrusados e tratados com lignosulfonato ou a associação entre os dois processamentos não alterou a composição físico-química do leite, entretanto, o fornecimento do grão de canola extrusado resultou no decréscimo da concentração de gordura no leite, devido ao aumento na concentração de 18:2 10t 12c, isômero responsável pela redução da atividade lipogênica na glândula mamária.

Os tratamentos avaliados alteraram o perfil dos ácidos graxos do leite, com aumento do ácido graxo 18:1 11t e 18:2 10t 12c. A extrusão do grão de canola resultou no decréscimo da concentração de n-3 e de n-6, entretanto, aumentou a proporção n-6/n-3. O lignosulfonato, isoladamente não alterou o perfil dos ácidos graxos, não os protegendo da biohidrogenação ruminal.

Os tratamentos não influenciaram a concentração de ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados, não aumentou a produção do leite e não aumentou a concentração do isômero 18:2 9c 11t.

Literatura citada

ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. New approaches to changing milk composition: potential toalter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 1997.

ASHES, J.R.; WELCH, V.; GULATI, S.K. et al. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1090-1096, 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - **A.O.A.C. Official Methods of Analysis**. 1978. 14 ed. Washington, 1984. 1041 p.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminats. In: **Proceeding of the American Society of Animal Science**, Cornell University, p. 1-12, 1999.

BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annu. Rev. Nutr**, v.23, p.203-227, 2003.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology,** v.278, p.R179-R184, 2000.

BLOCK, E.; MULLER, L.D.; GRIEL Jr. et al. Brown midrib-3 corn silage and heated extruded soybeans for early lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.64, p.1813-1825, 1981.

CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; MATSUSHITA, M., et al. Short Communication : Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100 ® or whole flaxseed. **Canadian Journal of Animal Science**, v.85, n. 3, p413-416, 2005.

CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V. et al. Dietary soybeans extruded at different temperatures: Milk composition and in situ fatty acid reactions. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2913-2924, 1997a.

CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V. et al. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997b.

CHOUINARD, P.Y.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. J**ournal of Dairy Science**, v.81, p.471-481, 1998.

FAGUNDES, L.A. **Ômega-3 & omega-6: o equilíbrio dos ácidos gorduros essenciais na prevenção de doenças**. Porto Alegre: Fundação de Radioterapia do Rio Grande do Sul, 2002. 111 p.

FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Steady-state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.8, p.1815-1823, 1995.

GONZÁLES, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.

GRIINARI, J.M.; BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz, M.P.; Mossaba, M.M.; Kramer, J.K.G.; Pariza, M.W.; Nelson, G.L. (Eds.), **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**, vol 1. AOAC Press, Champaign, IL, USA, p.180-200, 1999.

GUILLAUME, B.; OTTERBY, D.E.; STERN, M.D. et al. Raw or extruded soybeans and rumen-protected methionine and lysine in alfafa-based diets for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1912-1922, 1991.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**. 2.ed. Blackie Academic & Professional: Great Britain, p.382-426, 1997.

HARVATINE, KJ.; ALLEN, M.S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1081-1091, 2006.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO. Animal and vegetable fats and oils – **Preparation of methyl esters of fatty acids**. Method ISO 5509. Geneve: 1978. p.1-6.

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

JENKINS, T.C.; McGUIRE, M.A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1302-1310, 2006.

KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Effect of Added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2459-2468, 1998.

KINSELLA, J.E.; LOKESH, B.; STONE, R.A. Dietary n-3 polynsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **American Journal Clinical Nutrition**, v.52, p.1-28, 1990.

MEDEIROS, S.R. **Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo, 2002. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo, 2002.

MELBAR. **Lignosulfonato**. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.

MODESTO, E.C.M.; SANTOS, G.T.; VILELA, D. et al. Efeitos nutricionais e metabólicos de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados para os ruminantes e os benefícios para o homem. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.5, n.1, p.119-134, 2002.

MURPHY, J.J.; McNEILL, G.P.; CONNOLLY, J.F. Effect on cow performance and milk fat composition of including full fat soya beans and rape seeds in the concentrate mixture for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.57, p.295-306, 1990.

MURPHY, J.J.; CONNOLLY, J.F.; McNEILL, G.P. Effects on milk fat composition and cow performance of feeding concentrates containing full fat rapessed and maize distillers grains on grass-silage based diets. **Production Science**, v.44, p.1-11, 1995.

NEVES, C.A.; SANTOS, G.T.; MATSUCHITA, M. et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology,** v134, p.32-44, 2007.

PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES,** 6., 1989, Piracicaba. Anais...Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n.6, p. 1339-1349, 1999.

PETERSON, D.G.; MATITASHVILI, E.A.; BAUMAN, D.E. Diet induced milk fat depression in dairy cows result in increased trans-10, cis 12 CLA in milk fat and coordinated suppression of mRNA abundance for mammary enzymes involved in milk fat synthesis. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 3098-3102, 2003.

PETIT, H.V.; TURCOTTE, M.; AUDY, R. Degradability and digestibility of full-fat soybeans treated with different sugar and heat combinations. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.213-220, 1999.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes.** FUNEP: Jaboticabal, p.255-286, 2006.

SAS. **Statistical analysis system**, Release 8.02.2000. SAS Institute Inc. Cary, NC, 2000.

SIM, J.S. Designer eggs and their nutritional and functional significance. **World Review of Nutrition Dietetics**, v.23, p. 89-101, 1998.

SCOTT, T.A.; COMBS, D.K.; GRUMMER, R.R. Effects of roasting, extrusion, and particle size on the feeding value of soybeans for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2555-2562, 1991.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal,** v.76, n.4, p.291-303, 2005.

WHIGHAM, L.D.; MARK, E.; COOK, B. et al. Conjugated linoleic acid: implications for human health. **Pharmacological Research**, v.42, n.6, p.503-510, 2000.

WRIGHT, C.F.; von KEYSERLINGK, A.G.; SWIFT, M.L. et al. Heat and lignosulfonate treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.238-243, 2005.

CAPÍTULO II – ARTIGO II

Parâmetros digestivos de vacas da raça Holandesa alimentadas com grãos de canola moídas ou extrusadas com ou sem lignosulfonato

Resumo: O objetivo da pesquisa foi avaliar o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, os parâmetros ruminais e os metabólitos sangüíneos de vacas da raça Holandesa, alimentadas com dietas contendo grãos de canola moída (CM), grãos de canola extrusadas (CE), grãos de canola moídas e tratadas com lignosulfonato (CML) e grãos de canola extrusadas e tratadas com lignosulfonato (CEL). Foram utilizadas oito vacas (538,03 kg ± 9,98), multíparas, distribuídas em um delineamento em duplo quadrado latino com quatro tratamentos e quatro períodos com 21 dias cada. A proporção volumoso/concentrado foi de 57/43. Foi realizado o controle diário do consumo, as fezes foram coletadas para a determinação da digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, o líquido ruminal para determinação dos parâmetros ruminais e o plasma sangüíneo para análise dos metabólitos sangüíneos. Os tratamentos não influenciaram (P>0,05) no consumo de MS, PB, FDN e FDA, entretanto, foi verificado maior consumo (P<0,05) de EE e CNE para os tratamentos extrusados e para a associação entre a extrusão e o lignosulfonato, respectivamente. A digestibilidade aparente da MS, MO e CNE foi menor (P<0,05) nos tratamentos contendo lignosulfonato, todavia não foram verificadas diferenças (P>0,05) entre os demais tratamentos. Com relação aos parâmetros ruminais e aos parâmetros sangüíneos, não foi observada diferença entre as dietas avaliadas. Pode-se concluir que o fornecimento de grãos de canola extrusados ou não, com ou sem adição de lignosulfonato para vacas em lactação, não alterou os parâmetros digestivos.

Palavras-chave: consumo, digestibilidade aparente, oleaginosas, processamento do grão, proteção ruminal

Digestible parameters of Holstein Cows Fed Extruded Ground Canola with or without Lignosulfonate

Abstract: The objective of this research was to evaluate the Holstein cows' intake, nutrients digestibility, ruminal parameters and blood components, fed with ground canola (GC), extruded ground canola (EC), ground canola with Lignosulfonate (GCL) and extruded ground canola with lignosulfonate (ECL). A total of eight multiparous cows (538.03 kg ± 9.98), alloted in a double Latin square, with four treatments and four periods with 21 days each one, were utilizated. The forage/concentrate relationship was 57/43. The intake was daily controled while the feces were collected for dry matter and nutrients digestibility determinations, the ruminal liquid was also collected for ruminal parameters determination and blood for blood parameters analysis. The treatments did not influence (P>0.05) DM, CP, NDF and ADF, however, it was verified a high EE and NSC intake (P<0.05) for extruded and extruded with lignosulfonate treatments, respectively. The total apparent digestibility of DM, OM and NSC was low (P<0.05) for lignosulfonate treatments, however, differences were not verified (P>0.05) among others treatments. For rumen components and blood parameters, was not observed any difference among evaluated diets. Fed extruded canola with or without lignosulfonate for lactation cows, did not alter digestive parameters.

Keywords: intake, apparent digestibility, oleaginous, grain processing, ruminal protection

.

Introdução

Os lipídeos são muito utilizados nas dietas de ruminantes para aumentar a densidade energética das rações, principalmente de vacas leiteiras no início de lactação, devido a sua elevada densidade calórica.

A influência dos lipídeos sobre o metabolismo do animal depende da digestibilidade, da quantidade e da fonte de gordura utilizada na dieta, apresentando os ácidos graxos insaturados e os ácidos graxos de cadeia curta mais efeitos sobre a fermentação ruminal do que os ácidos graxos saturados e os ácidos graxos de cadeia longa, respectivamente (Valadares Filho & Pina, 2006). Pode também variar com o estádio de lactação dos animais (Palmquist & Jenkins, 1980). Entretanto, recomendam-se fontes que possuam alta digestibilidade no intestino delgado.

Os lipídeos quando em excesso na dieta podem causar redução na digestibilidade da fibra, na metanogênese, na concentração de amônia ruminal e da proporção acetato/propionato. Tais efeitos podem ser decorrentes das reduções no crescimento das bactérias gram-positivas, devido a um efeito tóxico dos ácidos graxos de cadeia longa para estes organismos, da redução de protozoários ciliados (Nagajara et al., 1997; Oliveira et al., 2007), devido ao recobrimento físico da fibra (Jenkins & McGuire, 2006), ou pela redução da disponibilidade de cálcio através da formação de sabões (Byers & Schelling, 1989). Estas alterações refletem na redução na produção dos ácidos graxos voláteis, especialmente acetato (Palmquist & Jenkins, 1980).

Os grãos de oleaginosas, como os de canola são boa alternativa para suplementação de gordura, fornecendo energia e proteína, e apresentam elevadas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados. A suplementação com ácidos graxos, como os presentes no grão de canola, podem minimizar o efeito inibitório sobre os microrganismos celulolíticos. Byers & Schelling (1989) relataram que se a fonte de gordura adicionada a ração for proveniente de grãos de oleaginosas, que são um tipo de gordura protegida, pois possuem os lipídeos presos na matriz protéica da semente, podem minimizar os efeitos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos lipídeos com os microrganismos.

Há vários métodos de processamento que podem proteger os grãos da degradação ruminal, evitar a disponibilidade às bactérias ruminais e conseqüentemente minimizar a biohidrogenação ruminal e os efeitos negativos dos lipídeos sobre a fermentação ruminal. Dentre os métodos há destaque para o uso da extrusão, peletização, tratamento

com formaldeído, sais de cálcio, misturas de gordura de origem vegetal e animal, ou ainda a utilização de grãos inteiros de oleaginosas (Ashes et al., 1997).

O tratamento por aquecimento pode alterar as características de digestibilidade da proteína no trato gastrintestinal dos ruminantes (Stern et al., 1985; Mustafa et al., 2002), assim como relatado por Chouinard et al. (1997) de que a extrusão tem um potencial de proteger os grãos das oleaginosas dos microorganismos ruminais e aumentar a fração não degradável da proteína no rúmen.

Outra alternativa de proteção que vem sendo avaliada é o processamento de oleaginosas com lignosulfonato de cálcio e magnésio, que é um sub-produto extraído do processamento da madeira e que contém uma variedade de açúcares, principalmente a xilose. O lignosulfonato é um aglutinante energético e atua diminuindo a degradação ruminal da proteína do grão, pois protege a proteína verdadeira da ação dos microrganismos ruminais (proteína do grão), aumentando a concentração de proteína não degradável no rúmen (Windschitl & Stern, 1988; Petit et al., 1999) e reduzindo as perdas de nitrogênio pelo animal.

Diante do exposto, avaliar o fornecimento de gordura oriunda do grão de canola na alimentação de vacas leiteiras, sem alterar o metabolismo, obtendo benefícios para o aproveitamento da proteína verdadeira deste ingrediente torna-se extremamente importante. Ainda, a busca por novas técnicas de proteção ou aprimoramento das já existentes são cada vez mais procuradas e pesquisadas.

O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito do fornecimento de grãos de canola extrusados ou não, com e sem a adição de lignosulfonato para vacas em lactação sob os parâmetros consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros ruminais e metabólitos sangüíneos.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, Brasil, no período de outubro a dezembro de 2005. Foram utilizadas oito vacas da raça Holandesa, multíparas, com 62 ± 8 dias de lactação e peso médio de 538,03 ± 9,98 kg. O delineamento experimental foi duplo quadrado latino, com 4 períodos de 21 dias cada, sendo 14 dias para adaptação e 7 dias para coleta dos dados.

A proporção volumoso/concentrado foi de 57/43. Os animais ficaram alojados em instalações do tipo *tie stall* e receberam alimentação individualmente, duas vezes ao dia, às 8h e 16h, imediatamente após as ordenhas da manhã e da tarde, respectivamente. A dieta foi ajustada de forma a obter 10% de sobras diariamente. As vacas foram pesadas no primeiro e no último dia de cada período experimental.

Foi determinado o efeito dos tratamentos: grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com lignosulfonato (CML) 50 g/kg MS e grão de canola extrusada tratada com lignosulfonato (CEL) 50 g/kg MS. do grão de canola sobre o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, os parâmetros ruminais e os metabólitos sangüíneos. Apenas 4 vacas foram portadoras de fistula ruminal (um quadrado latino) para avaliação dos parâmetros ruminais.

A Tabela 1 apresenta a proporção dos alimentos e a composição química (% na matéria seca) das dietas experimentais.

A canola utilizada na composição dos quatro tratamentos foi moída em uma peneira de 5 mm e após a moagem cada tratamento recebeu um processamento diferenciado. O tratamento CM foi apenas moído e fornecido aos animais. O lignosulfonato foi adicionado a canola após moagem, entretanto, antes da extrusão. O lignosulfonato utilizado foi o Melbond®, sendo este um lignosulfonato de cálcio e magnésio, derivado da madeira (Melbar, 2000, São Paulo, SP, Brasil). A extrusão foi realizada em extrusora MX-100 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil), sem uma fonte externa de calor e umidade, a uma temperatura de 120ºC. A velocidade de passagem foi de 550 rpm e o diâmetro do canhão foi de 9,5 mm. O tempo de residência e a média de produção foram 30 s e 800 kg/h, respectivamente.

Amostras semanais dos alimentos fornecidos e das sobras diárias foram coletadas diretamente do cocho dos animais e armazenadas a –20ºC. Foi realizado um "pool" das amostras de sobras, resultando em uma única amostra por animal por período. Posteriormente, essas amostras foram secas em estufa de ventilação forçada de ar (55ºC – peso constante), moídas em peneira com crivo de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, segundo AOAC (1997), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) segundo metodologia descrita por Van Soest et al. (1991).

TABELA 1– Proporção dos alimentos e composição química (% da MS) das dietas experimentais grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com lignosulfonato (CML) e grão de canola extrusada tratada com Lignosulfonato (CEL).

Alimentos	**Tratamentos**					**Probabilidade**		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lign	Ext x Lig
Silagem de milho	57,00	57,00	57,00	57,00	-	-	-	-
Milho moído	9,14	9,14	9,14	9,14	-	-	-	-
Farelo de soja	18,06	18,06	18,06	18,06	-	-	-	-
Suplemento mineral vitamínico [a]	1,82	1,82	1,82	1,82	-	-	-	-
Grão de canola moída	13,98	-	-	-	-	-	-	-
Grão de canola extrusada	-	13,98	-	-	-	-	-	-
Grão de canola moída com lignosulfonato	-	-	13,98	-	-	-	-	-
Grão de canola extrusada com lignosulfonato	-	-	-	13,98	-	-	-	-
Matéria seca	52,46	53,38	52,71	53,62	0,27	0,007	0,38	0,58
Matério orgânica	92,71	92,76	92,74	92,68	0,14	0,98	0,90	0,71
Matéria mineral	7,29	7,24	7,26	7,31	0,14	0,98	0,90	0,71
Proteína bruta	17,80	17,54	17,44	17,29	0,11	0,08	0,02	0,63
Extrato etéreo	6,65	7,71	7,29	6,97	0,26	0,19	0,83	0,03
Fibra em detergente neutro	41,04	41,19	41,90	40,18	0,51	0,16	0,88	0,10
Fibra em detergente ácido	24,26	24,11	24,44	24,61	0,21	0,95	0,14	0,47
Carboidratos não estruturais (CNE)[b]	27,21	26,31	26,11	28,25	0,60	0,33	0,50	0,03
Nutrientes digestíveis totais (NDT)[c]	71,64	70,39	68,68	70,66	1,35	0,72	0,34	0,26
Energia líquida de lactação (ELl) [d]	1,63	1,60	1,56	1,61	0,03	0,79	0,34	0,26

[a] Ca : 270 g/kg, P : 80 g/kg, S : 20 g/kg, Mg : 15 g/kg, Fe : 2200 mg/kg, Cu: 800 mg/kg, Co: 50 mg/kg, I: 60 mg/kg, Se: 40 mg/kg, Zn: 2800 mg/kg, F: 801 mg/kg, Vit. A: 216000 U.I./kg, Vit. D: 67600 U.I./kg, Vit. E : 500 mg/kg.

[b] CNE = 100 – (PB + EE + FDN + Cinzas).

[c] %NDT = %PBD + %FDND + %CNED + %(EED x 2,25) (Weiss, 1999).

[d] ELl (Mcal/kg) = 0,0245 x %NDT – 0,12 (NRC, 2001).

Amostras de fezes foram coletadas por seis dias consecutivos diretamente na ampola retal. A amostragem teve a seguinte distribuição: 15º dia (8:00h), 16º dia (10:00h), 17º dia (12:00h), 18º dia (14:00h), 19º dia (16:00h), 20º dia (18:00h) de cada período experimental. Após secagem em estufa com ventilação forçada de ar (60ºC – peso constante), as amostras foram processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal/período, e armazenadas em frascos de polietileno para posteriores análises.

Para a determinação do consumo de matéria seca e dos nutrientes, diariamente foram registrados a quantidade de alimento oferecido e sobras. Para estimação da excreção fecal diária empregou-se como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), determinadas nas amostras do fornecido, sobras e das compostas das fezes, por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* segundo Cochran et al. (1986) e a seguinte equação:

$$EF = \frac{CFDNi}{FDNif}$$

$$CFDNi = FDNiof - FDNis$$

Em que:

EF = excreção fecal (kg/dia);

CFDNi = consumo de fibra em detergente neutro indigestível (kg/dia);

FDNif = fibra em detergente neutro indigestível das fezes (kg/kg);

FDNiof = fibra em detergente neutro indigestível do oferecido (kg);

FDNis = fibra em detergente neutro indigestível das sobras (kg).

A percentagem de NDT dos tratamentos foi determinada por uma adaptação da equação descrita por Weiss (1999):

%NDT = %PBD + %FDND + %CNED + %(EED x 2,25)

Onde:

NDT = nutrientes digestíveis totais;

PBD = proteína bruta digestível;

FDND = fibra em detergente neutro digestível;

CNED = carboidratos não estruturais digestíveis;

EED= extrato etéreo digestível.

sendo:

CNED = 100 – (PBD + FDND + EED + Cinzas) (Sniffen et al., 1992).

No décimo oitavo dia de cada período experimental, pela manhã, em jejum, foi realizada a coleta de sangue, diretamente da veia jugular dos animais, em tubos heparinizados, e as amostras foram submetidas a centrifugação a 3200 rpm por 20 minutos, sendo o plasma separado, acondicionado em frasco eppendorf e armazenado a –20°C, segundo metodologia descrita por Cavalieri (2003). Foram realizadas as análises de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade), HDL (lipoproteína de alta densidade), colesterol total (teste fotométrico enzimático), triglicerídios (teste colorimétrico enzimático), glicose e uréia (teste colorimétrico enzimático) utilizando o analisador Vitalab Selectra® 2.

No início e último dia de cada período experimental os animais foram pesados antes da alimentação da manhã, com o intuito de acompanhar o ganho médio diário (GMD).

Para a avaliação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal e de ácidos graxos voláteis no líquido ruminal, realizaram-se no décimo oitavo dia do período experimental coletas de líquido ruminal imediatamente antes da alimentação matinal (08:00h) e a cada duas horas consecutivamente, às 10:00h, 12:00h, 14:00h, 16:00h e 18:00h, respectivamente. As amostras foram tomadas manualmente na região de interface líquido/sólido do ambiente ruminal e filtradas por uma camada tripla de gaze, sendo imediatamente submetidas a avaliação do pH através de um potenciometro digital. Para determinação do N-amoniacal ($N\text{-}NH_3$) e dos ácidos graxos voláteis (AGV) foi adicionado 2 mL de ácido sulfúrico 1:1 aos 100 mL de cada amostra coletada, sendo subdividido em dois frascos e congeladas, para posteriores análises. As concentrações de $N\text{-}NH_3$ nas amostras do líquido ruminal filtrado foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio (KOH) 2N. Para determinação dos AGV no líquido ruminal, as amostras foram descongelas e centrifugadas a 3500 rpm, por 10 min.

Para determinação de ácidos graxos voláteis (AGV), as amostras sofreram centrifugação a 15.000 g (4°C), durante 50 min, sendo analisadas de acordo com Palmquist & Conrad (1971) em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico, sendo acrescentando, em cada tubo para leitura em cromatógrafo, 100 µl do padrão interno, 800 µl da amostra e 200 µl de ácido fórmico. Uma mistura de AGV com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o procedimento MIXED do SAS (2000) com um arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados usando um delineamento de duplo quadrado latino 4 x 4.

O efeito dos tratamentos foi analisado por contrastes, comparando-se: com e sem lignosulfonato, com e sem extrusão e a interação entre extrusão e lignosulfonato. O nível de significância de $P<0,05$ foi considerado significativo e de $P<0,10$ foi considerado como tendência. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + A_l + TQ_{ik} + PQ_{jk} + A/Q_{lk} + e_{ijklm}$$

Onde: Y_{ijklm} = observação referente à repetição m, do animal l, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k; μ = média geral; T_i= efeito do tratamento i (CM, CE, CML e CEL); P_j= efeito do período j (1, 2, 3 e 4); Q_k= efeito de quadrado latino k (1 e 2); A_l = efeito do animal l (1 à 8); TQ_{ik}= interação do tratamento i com o quadrado k; PQ_{jk}= interação do período j com o quadrado k; A/Q_{lk}= animal l aninhado dentro de quadrado latino k; e_{ijklm}= erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu o tratamento i no período j para o quadrado k.

Resultados e discussão

As médias de consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes das dietas avaliadas são apresentadas na Tabela 2.

Os animais alimentados com as dietas contendo canola extrusada, tratada com lignosulfonato ou extrusada com lignosulfonato não apresentaram diferença ($p>0,05$) no consumo de MS, PB, FDN e FDA. No entanto, observou-se maior consumo de EE e de CNE pelos animais quando se forneceu os grãos extrusados em comparação aos grãos somente moídos. Verificou-se ainda aumento no consumo de EE para as dietas contendo canola extrusada e tratada com lignosulfonato.

Segundo Benson et al. (2001) e Maia et al. (2006) os ácidos graxos poliinsaturados e não esterificados podem ser potentes inibidores do consumo do que, os monoinsaturados e os esterificados, respectivamente. Desta forma, o fornecimento do grão de canola somente moído, pode ter liberado a gordura poliinsaturada do grão de forma rápida e direta. Franklin et al. (1999) relataram que normalmente quando se adiciona fontes de gordura ricas em ácidos graxos poliinsaturados ocorre uma queda no

consumo devido a perda da palatabilidade, o que se observou neste trabalho sugere que o fornecimento da gordura na forma de grãos moídos intensifica esta queda de consumo.

Wright et al. (2005), avaliando dietas contendo canola tratada termicamente com e sem lignosulfonato para vacas leiteiras, observaram maior consumo de matéria seca para os animais alimentados com dietas contendo canola tratada com calor e com lignosulfonato. Neves et al. (2007), avaliando dietas contendo grão de soja extrusado e/ou com adição de lignosulfonato não observaram efeito dos tratamentos sobre o consumo de MS, FDA e FDN, entretanto, houve uma tendência de redução no consumo de PB quando os animais receberam dietas contendo soja extrusada e com adição de lignosulfonato em comparação com os outros tratamentos. Mansfield & Stern (1994) também não observaram alteração no consumo de MS e MO em vacas alimentadas com tratamentos contendo soja tratada ou não com o lignosulfonato.

Khorasani & Kennely (1998) avaliaram a inclusão de vários níveis de grãos de canola tratadas com Jet-Sploded® e encontraram uma tendência de efeito quadrático para o consumo de MS, MO, PB, FDN e FDA, entretanto, descreveram consumo semelhante para os animais que receberam 14,5% de grão de canola tratada em comparação ao tratamento controle. Os mesmos autores tiveram aumento do consumo de EE com a inclusão de 14,5% de grão de canola tratada, assim como o observado no presente trabalho, onde se verificou aumento na ingestão de EE para o tratamento CE e também CEL.

Khorasani et al. (1991); Schingoethe & Casper (1991) e Wu et al (1994) também não obtiveram alteração na ingestão quando suplementados com grãos de oleaginosas processadas ou não na dieta de vacas leiteiras. Gonthier et al. (2004), avaliando grãos de linhaça com ou sem tratamento térmico também não observaram alteração no consumo de MS ou de MO.

TABELA 2 - Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes em vacas da raça Holandesa recebendo rações com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lig	Ext x Lig
Consumo (kg/dia)								
Matéria seca (kg/dia)	14,32	14,70	14,50	14,57	0,21	0,29	0,89	0,46
Proteína bruta (kg/dia)	2,68	2,71	2,68	2,66	0,04	0,89	0,49	0,58
Extrato etéreo (kg/dia)	1,03	1,22	1,13	1,10	0,03	0,04	0,73	0,005
Fibra em detergente ácido (kg/dia)	3,35	3,37	3,39	3,44	0,05	0,48	0,31	0,87
Fibra em detergente neutro (kg/dia)	5,68	5,77	5,81	5,52	0,13	0,48	0,65	0,15
Carboidratos não estruturais (Kg/dia)	3,88	3,95	3,84	4,27	0,08	0,004	0,08	0,03
Digestibilidade %								
Matéria seca	67,49	67,36	64,79	66,18	0,84	0,47	0,03	0,38
Matério orgânica	73,18	72,33	70,54	71,05	0,78	0,83	0,02	0,40
Proteína bruta	82,41	82,36	81,11	81,38	0,84	0,90	0,19	0,85
Extrato etéreo	71,27	73,18	70,16	70,54	1,27	0,38	0,16	0,55
Fibra em detergente neutro	48,99	49,42	47,89	47,24	2,01	0,95	0,42	0,79
Fibra em detergente ácido	45,48	44,03	41,92	44,99	1,55	0,61	0,41	0,16
Carboidratos não estruturais	90,40	88,42	84,68	86,80	1,25	0,96	0,008	0,12
Nutrientes digestíveis totais	71,64	70,39	68,68	70,66	1,35	0,72	0,34	0,26

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

Os resultados observados no presente trabalho são semelhantes aos relatados por outros pesquisadores que trabalharam com grãos de oleaginosas (Khorasani et al., 1991; Petit, 2002; Ward et al., 2002) e também está de acordo com o relatado por Kennelly (1996), de que a adição de gordura na forma de grãos de oleaginosas para ruminantes tem menores efeitos sobre a ingestão de MS em comparação as mesmas quantidades fornecidas na forma de óleo. Pode-se ainda ressaltar que alguns estudos envolvendo diferentes tratamentos térmicos de grãos de oleaginosas não demonstraram impacto sobre a ingestão de MS (Stern et al., 1985; Schingoethe et al., 1996; Chouinard et al., 1997; Tymchuck et al., 1998).

O tratamento térmico dos grãos de oleaginosas, usualmente altera o local de digestão da proteína do rúmen para o intestino, com pequeno efeito sobre a digestibilidade total (Wang et al., 1999). A digestibilidade da fibra é bastante influenciada pela presença de gordura no rúmen, seja pelo recobrimento físico da fibra pela gordura, pelo efeito tóxico para alguns microrganismos, por efeitos de superfície ativa na membrana de microrganismos ou pela redução da disponibilidade de cálcio através da formação de sabões (Byers & Schelling, 1989).

Nesta pesquisa observou-se redução na digestibilidade da MS, MO e CNE para os tratamentos contendo lignosulfonato em comparação aos tratamentos sem lignosulfonato, entretanto não se verificou diferença na digestibilidade da MS, MO, PB, EE, FDA, FDN e CNE com os tratamentos extrusados isoladamente ou extrusados com lignosulfonato (Tabela 2). Khorasani et al. (1992), avaliando o efeito da utilização de grão de canola tratada com Jet-Sploted®, não obtiveram diferença no coeficiente de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e FDA, contudo, encontraram redução na digestibilidade do EE na dieta que continha maior concentração de grãos protegidos.

Gonthier et al. (2004) relataram que o uso de grãos de linhaça sob efeito de tratamento térmico, do tipo micronização e extrusão, não afetaram a digestibilidade total da MS e MO, igual ao observado neste experimento. Outros resultados que também são semelhantes aos observados neste experimento são a digestibilidade da FDA e PB, que não apresentaram diferenças entre os tratamentos, todavia, tais autores observaram aumento na digestibilidade da FDN para os animais que receberam os tratamentos contendo os grãos de linhaça, mas, não houve diferença entre os tratamentos que sofreram processamento térmico.

Segundo Loor et al. (2002), a suplementação da dieta de vacas leiteiras com lipídeos protegidos e óleo de canola não modificou a digestibilidade aparente da MS,

PB e FDA. Outras pesquisas também não demonstraram efeito de grãos de oleaginosas processadas termicamente sobre a digestão total da fibra (Scott et al., 1991; Petit et al., 1997; Shabi et al., 1999; Gonthier et al., 2004). Entretanto, a extrusão tem sido demonstrada como menos efetiva do que outros tratamentos térmicos na proteção da proteína dos grãos de oleaginosas contra a degradação ruminal (Meyer et al., 2001).

As médias e os erros padrões para os AGV do líquido ruminal são encontrados na Tabela 3.

Não foi observada nenhuma alteração dos parâmetros ruminais avaliados. Outro trabalho utilizando lipídeos saturados e insaturados tem demonstrado pequeno ou insignificantes efeitos sobre os parâmetros ruminais (Vargas et al., 2002), assim como observado no presente experimento.

Na Tabela 4, estão apresentados os valores obtidos para a concentração de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$ - mg/dL), pH do líquido ruminal e também a concentração de nitrogênio uréico no plasma (NUP) das vacas avaliadas no presente experimento.

O $N\text{-}NH_3$ e o pH ruminal não foram alterados ($P>0,05$) em função dos tratamentos, entretanto, o resultado obtido para $N\text{-}NH_3$ atende o padrão mínimo que é de 5 mg/dL de $N\text{-}NH_3$ (Lana, 2005), considerado crítico para o crescimento microbiano (Satter e Slyter, 1974). O valor médio de pH observado apresentou-se dentro do limite (5,5 a 7,0) recomendado (Church, 1979; Silva & Leão, 1979; Van Soest, 1994).

A amônia não assimilada pelos microorganismos normalmente é absorvida através da parede ruminal por difusão, removida da circulação portal pelo fígado, onde entra no ciclo da uréia (Lobley et al. 1995). A uréia constitui a principal forma pelo qual os compostos nitrogenados são eliminados pelos mamíferos e quando a taxa de síntese é maior que a utilização pelos microorganismos, ocorre elevação em sua concentração no rúmen, com conseqüente aumento na excreção e no custo energético da produção de uréia, resultando em perda de proteína (Russel et al., 1992).

Algumas pesquisas relatam que o uso de óleo ou gordura em rações, reduz a produção de $N\text{-}NH_3$ ruminal (Van Nevel & Demeyer, 1988), esta reação pode ser explicada pela defaunação de protozoários ou bactérias desaminadoras.

TABELA 3 – Concentração (mM) de ácidos graxos voláteis de vacas da raça Holandesa alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lign	Extr x Lig
Ácido acético (C2)	51,35	51,44	55,06	55,77	6,26	0,95	0,53	0,96
Ácido propiônico (C3)	24,42	22,98	27,88	29,83	3,64	0,94	0,18	0,65
Ácido butírico (C4)	9,97	8,52	10,45	11,68	1,88	0,95	0,35	0,49
Ácido valérico (C5)	0,78	0,96	1,13	1,14	0,29	0,74	0,37	0,78
Ácido iso-butírico (IC4)	0,26	0,25	0,24	0,44	0,11	0,39	0,45	0,35
Ácido iso-valérico (IC5)	2,75	2,75	2,14	2,88	0,31	0,26	0,46	0,26
C2/C3	2,51	2,40	2,30	2,04	0,16	0,25	0,09	0,65
AGV Total	89,51	92,32	96,90	101,75	8,47	0,67	0,36	0,91

TABELA 4 – Médias da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e pH ruminal e nitrogênio uréico no plasma (NUP) de vacas da raça Holandesa alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lign	Ext x Lig
N-NH3	15,66	16,16	15,11	14,87	0,65	0,85	0,21	0,60
NUP	18,12	17,36	16,36	16,35	1,10	0,73	0,22	0,73
pH	6,28	6,34	6,12	6,26	0,08	0,23	0,17	0,66
Log pH	0,80	0,80	0,79	0,80	0,005	0,24	0,17	0,61

Wright et al. (2005) não observaram efeito das dietas contendo canola tratadas termicamente com e sem lignosulfonato para vacas leiteiras sobre o pH ruminal e sobre a concentração de ácidos graxos voláteis totais, não obstante, observaram que os animais que receberam as dietas contendo lignosulfonato e calor, apresentaram menores quantidades de nitrogênio amoniacal no fluído ruminal em comparação aos animais que receberam canola sem tratamento, todavia, tais autores ressaltam que somente o processamento térmico não foi eficiente na proteção ruminal da dieta contendo canola.

Loor et al. (2002) também avaliaram vacas leiteiras recebendo suplementação lipídica protegida ou não e observaram redução da concentração de N-NH3 para os animais que receberam a fonte protegida.

Khorasani et al. (1992) utilizando grão de canola tratada com várias concentrações de Jet-Sploded® não observaram efeito sobre a média do pH ruminal e sobre a concentração de NH_3 comparando com a canola sem adição do produto. Todavia, Mansfield & Stern (1994) observaram redução na concentração de nitrogênio amoniacal de vacas alimentadas com casca do grão de soja e soja tratada com lignosulfonato, entretanto, não observaram alteração do pH no tratamento com lignosulfonato em comparação a soja sem o produto. Todavia, Windschitl & Stern (1988) observaram aumento do pH das vacas alimentadas com soja tratada com lignosulfonato.

Wernersbach Filho et al. (2006) também não encontraram diferenças nas concentrações de pH, entretanto, observaram menores concentrações de $N\text{-}NH_3$ para vacas alimentadas com concentrados extrusados quando comparado com concentrados somente farelados ou peletizados, provavelmente devido a maior degradabilidade efetiva da MS do concentrado extrusado.

No presente estudo não se observou diferenças na produção de $N\text{-}NH_3$ e NUP utilizando extrusão, lignosulfonato ou a associação entre os dois processamentos sugerindo que estas metodologias de processamento não foram eficazes na proteção da proteína, divergindo dos resultados observados por Wright et al. (2005) que obtiveram redução na concentração de $N\text{-}NH_3$ utilizando lignosulfonato, assim como Wernersbach Filho et al. (2006) que observaram redução $N\text{-}NH_3$ em animais recebendo dietas contendo alimentos extrusados. Uma explicação para os resultados obtidos para nitrogênio, serem semelhantes entre os tratamentos estudados, é que a canola é uma oleaginosa que apresenta bom equilíbrio entre os aminoácidos, e todas as dietas tiveram disponibilidade de energia suficiente para aproveitamento da proteína. Como os valores obtidos de NUP são semelhantes aos observados na literatura, os resultados podem

sugerir que todas as dietas estudadas proporcionaram bom aproveitamento da proteína e menores perdas de nitrogênio, explicada pelo atendimento das exigências de PB, PNDR e energia para estes animais avaliados.

Com relação a avaliação da concentração dos AGV, os resultados observados divergem dos encontrados por Khorasani & Kennely (1998) utilizando grão de canola tratada, os quais observaram efeito linear e quadrático. Conforme aumentou a inclusão de grão de canola tratada com Jet-Sploded®, houve redução da concentração de propionato, contudo, não houve alteração na concentração dos outros ácidos graxos voláteis.

Outros autores que avaliaram a suplementação de gorduras na dieta via grãos de oleaginosas, tais como grão de canola **(**Hussein et al., 1996**),** semente de linhaça (Gonthier et al., 2004) e grãos de soja (Schauff et al., 1992; Madison-Anderson et al., 1997) não observaram alterações nas concentrações de NH_3N, pH e AGV, assim como os resultados observados no presente trabalho.

Khorasani et al. (1992) relataram que a suplementação de grão de canola protegida, em concentrações maiores que 3% da dieta, reduziu a concentração de AGV total e também as proporções molares de acetato, propionato e butirato. Estas alterações provavelmente refletiram na disponibilidade de substratos para as bactérias ruminais. Gonthier et al. (2004) trabalhando com diversos processamentos da semente de linhaça também observaram que as dietas contendo os grãos de oleaginosas processadas reduziram a concentração molar de acetato, mas aumentou a de propionato, reduzindo desta forma a proporção acetato/propionato. Estes resultados divergem dos observados no presente experimento, onde não houve alterações nos AGV, sugerindo que a suplementação dos animais não interferiu no ambiente ruminal, mantendo este em equilíbrio.

Os parâmetros sangüíneos glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e VLDL não foram diferentes ($p>0,05$) para os tratamentos estudados (Tabela 5).

Silva et al. (2007) trabalhando com grãos de linhaça tratados ou não com monensina sódica também não obtiveram alterações nos parâmetros sanguíneos glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL, VLDL para os tratamentos estudados. Entretanto, observou maior concentração de LDL no grão de linhaça tratado com monensina sódica.

TABELA 5 - Metabólitos sangüíneos de vacas da raça Holandesa alimentadas com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída com lignosulfonato (CML) ou grão de canola extrusada com lignosulfonato (CEL).

	Tratamentos [a]					Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lign	Extr x Lig
Glicose mg/dL	65,13	64,75	65,25	64,13	0,80	0,36	0,76	0,65
Triglicerídeos mg/dL	15,13	14,50	15,00	14,75	0,91	0,64	0,95	0,84
Colesterol mg/dL	127,63	132,88	127,75	125,50	3,33	0,66	0,29	0,28
HDL mg/dL) [b]	102,50	107,38	102,38	102,75	2,45	0,30	0,34	0,37
LDL mg/dL	22,13	22,75	22,25	19,75	1,36	0,50	0,30	0,26
VLDL mg/dL	3,00	2,75	3,13	3,00	0,20	0,35	0,35	0,75

[a] Média obtida pelo metodo quadrado mínimo com "pool" do erro padrão (EP)

[b]HDL= lipoproteínas de alta densidade, LDL = lipoproteínas de baixa densidade), VLDL = lipoproteínas de muito baixa densidade.

Segundo Tanaka (2005), o LDL está associado com o consumo de ácidos graxos saturados, sendo um fator de risco para doenças coronarianas, entretanto, no presente estudo o LDL não diferiu entre os tratamentos, podendo ser explicado pela alta concentração de ácidos graxos insaturados presente em todas as dietas contendo o grão de canola. Os ácidos graxos saturados tendem a elevar tanto a LDL como o HDL (Bessa, 1999).

Petit (2002) não relatou diferença na concentração de LDL fornecendo Megalac®, soja micronizada e grãos de linhaça para vacas em lactação. Porém, observou um aumento do colesterol total sangüíneo para as vacas que receberam Megalac® (319 mg/100 mL) comparadas àquelas que receberam linhaça em grão (246 mg/100 mL). As concentrações de HDL foram maiores para os tratamentos Megalac® e soja micronizada do que linhaça em grão.

Conclusões

Vacas alimentadas com grãos de canola moída, extrusada ou não, com ou sem adição de lignosulfonato não apresentaram diferenças no consumo, digestibilidade dos nutrientes, parâmetrso ruminais e metabólitos sanguíneos, de forma a concluir que não houve diferenças significativas entre os diferentes processamentos do grão de canola, assim as dietas avaliadas não causaram o efeito de proteção do grão como esperado, mas a inclusão de tal fonte de gordura não afetou negativamente a fermentação ruminal, a digestibilidade dos outros nutrientes da dieta e os demais parâmetros avaliados.

Literatura citada

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Gaitheersburg: AOAC International, 1997.

ASHES, J.R.; GULATI; S.K.; SCOTT, T.W. New approaches to changing milk composition: potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 1997.

BENSON, J.A.; REYNOLDS, C.K.; HUMPHRIES, D.J. et al. Effects of abomasal infusion of long chain fatty acids on intake, feeding behavior and milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1182-1191, 2001.

BESSA, R.J.B. **Revalorização nutricional das gorduras dos ruminantes.** IN. SYMPOSIOUM EUROPEO – Alimentación em el Siglo XXI, Editado por R. Calero e J.M. Gómez-Nieves, Colegio Oficial de Veterinários de Badajoz, Badajoz, p. 283-313, 1999.

BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition**. In: CHURCH, D.C. (Ed.) The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: A reston Book. 1989. p.298-312.

CAVALIERI, F.L.B. **Lipídeos dietéticos na produção de embriões, na composição do leite e no perfil metabólicos de vacas da raça Holandesa.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. 101p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2003.

CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V. et al.. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.334-342, 1997.

CHURCH, D.C. **Digestive Physiology and Nutrition of ruminants**. Vol. 1 – Digestive Physiology. 3. ed. Oxford press Inc, 1979. 350p.

COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1476-1483, 1986.

FRANKLIN, S.T.; MARTIN, K.R.; BAER, R.J. et al. Dietary marine algae (*Schinzochytrium sp*) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. **Journal of Nutrition, Bethesda**, v.129, p.2048-2052, 1999.

GONTHIER, C.; MUSTAFA, A.F.; BERTHIAUME, R. et al. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1854-1863, 2004.

HUSSEIN, H.S.; MERCHEN, N.R.; FAHEI, G.C. Effects of forage percentage and canola seed on ruminal protein metabolism and duodenal flows of amino acids in steers. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.98-104, 1996.

JENKINS, T.C.; McGUIRE, M.A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1302-1310, 2006.

KENNELLY, J.J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, n.3, p.137-152, 1996.

KHORASANI, G.R.; BOER, G.; ROBINSON, P.H.; KENNELLY, J.J. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones and metabolites in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.492-501, 1992.

KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Effect of Added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2459-2468, 1998.

KHORASANI, G.R.; ROBINSON, P.H.; BOER, G. et al. Influence of canola fat on yield, fat percentage, fatty acid profile, and nitrogen fractions in Holstein milk. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1904-1911, 1991.

LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades**). Viçosa: UFV, 2005. 344p.

LOBLEY, G.E.; CONNELL, A.; LOMAX, M.A. et al. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **British Joournal of Nutrition**, v.73, p. 667-685, 1995.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H.; JENKINS, T.C. Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. **Animal Feed Science and Technology**, v.97, p.65-82, 2002.

MADISON-ANDERSON, R.J.; SCHINGOETHE, D.J.; BROUK, R.J. et al. Response of lactating cows to supplemental unsaturated fat and niacin **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1329-1338, 1997.

MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G.F. et al. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1496-1503, 2006.

MANSFIELD, H.R.; STERN, M.D. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal on ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** v.77, p.1070-1083, 1994.

MELBAR. **Lignosulfonato**. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.

MEYER, M.J.; SHIRLEY, J.E.; TIGEMEYER, E.C. et al. Effect of mechanical processing and fat removal on the nutritive value of cottonseed for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p. 2503-2514, 2001.

MUSTAFA, A.F.; McKINNON, J.J.; CHRISTENSEN, D.A. et al. Effects of micronization of flaxseed on nutrient disappearance in the gastrointestinal tract of steers. **Animal Feed Science and Technology,** v.95, p.123-132, 2002.

NAGAJARA, T.G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S (Eds). **The Rumen Microbial Ecosystem**. Blackie Academic and professional, London, 1997. P.523-632.

NEVES, C.A.; SANTOS, G.T.; MATSUCHITA, M. et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology,** v134, p.32-44, 2007.

OLIVEIRA, R.L.; ASSUNÇAO, D.N.P.; BARBOSA, M.A.A.F. et al. Desempenho produtivo e custos com alimentação de novilhos bubalinos alimentados com dietas com diferentes fontes de lipídeos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.757-732, 2007.

PALMQUIST, D.L.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high fat diets. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3152, 1971.

PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, 1980.

PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition e blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1482-1490, 2002.

PETIT, H.V.; RIOUX, R.; OUELLET, D.R. Milk production and intake of lactating cows fed raw or extruded peas. Journal of Dairy Science, v.80, p.3377-3385, 1997.

PETIT, H.V.; TURCOTTE, M.; AUDY, R. Degradability and digestibility of full-fat soybeans treated with different sugar and heat combinations. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.213-220, 1999.

RUSSEL, J.B.; O´CONNOR, J.D.; FOX, D.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p. 3551-3561, 1992.

SAS. **Statistical analysis system**, Release 8.02.2000. SAS Institute Inc. Cary, NC, 2000.

SATTER, L.D., SLYTER, LL. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

SCHAUFF, D.J.; ELLIOT, M.J.; CLARK, J.H. et al. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybean and tallow. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1923-1935, 1992.

SCHINGOETHE, D.J.; BROUK, K.D.; LIGHFIELD, K.D. et al. Lactational responses of dairy cows fed unsaturated fat from extruded soybeans or sunflower seeds. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1244-1249, 1996.

SCHINGOETHE, D.J.; CASPER, D.P. Total lactational response to added fat during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2617-2622, 1991.

SCOTT, T.A.; COMBS, D.K.; GRUMMER, R.R. Effects of roasting, extrusion, and particle size on the feeding value of soybeans for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 2555-2562, 1991.

SHABI, Z.; BRUCKENTAL, I.; ZAMWELL, S. et al. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1252-1260, 1999.

SILVA, D.C.; SANTOS, G.T.S.; BRANCO, A.F. et al. Production performance and Milk composition of dairy cows fed wholw or ground flazsees with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2928-2936, 2007.

SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. **Fundamentos da nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 384p.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al., A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.10, p.3562-3577. 1992.

STERN, M.D.; SANTOS, K.A.; SATTER, L.D. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat – treated whole soybeans. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.45-56, 1985.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal,** v.76, n.4, p.291-303, 2005.

TYMCHUCK, S.M.; KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Effect of feeding formaldehyde and heat treated oil seed on milk yield and milk compositition. **Can. Journal of Animal Science**, v.78, p.693-700, 1998.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. FUNEP: Jaboticabal, p.151-182, 2006.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. (Ed.) **The rumen microbial ecosystem**. Essex: Elsevier Science Publishers, p.387-443, 1988.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**, 2nd edition. Cornell University press. United States of America. 1994. 476p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. 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 , 2002, (suplemento).

WANG, Y.; McALLISTER, T.A.; PICKARD, M.D. et al. Effect of micronization full fat canola seed on amino acid disappearance in gastrointestinal tract on dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.537-544, 1999.

WARD, A.T.; WITTENBERG, K.M.; PRZYBYLSKI, R. Bovine milk fatty acid profiles produced by feeding diets containing solin, flax and canola. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.10, p.1191-1196, 2002.

WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: **CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS**, 61., 1999, **Proceedings**... Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

WERNERSBACH FILHO, H.L.; CAMPOS, J.M.S.; ASSIS, A.J. et al., Variáveis ruminais, concentração de uréia plasmática e excreções urinárias de nitrogênio em vacas leiteiras alimentadas com concentrado processado de diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1236-1241, 2006 (supl.).

WINDSCHITL, P.M.; STERN, M.D. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen- protected protein for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3310-3325, 1988.

WRIGHT, C.F.; von KEYSERLINGK, A.G.; SWIFT, M.L. et al. Heat and lignosulfonate treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.238-243, 2005.

WU, Z.; HUBER, J.T.; CHAN, S.C. et al. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1644-1651, 1994.

CÁPITULO III – ARTIGO III

Degradabilidade *in situ* e determinação das frações que constituem a proteína e os carboidratos totais dos grãos de canola processados

Resumo: O objetivo da pesquisa foi avaliar a degradabilidade *in situ* da matéria seca e da proteína e determinar as frações que constituem a proteína e os carboidratos totais dos grãos de canola moídos (CM), grãos de canola extrusados (CE), grãos de canola moídos e tratados com lignosulfonato (CML) e grãos de canola extrusados e tratados com lignosulfonato. Para o ensaio de degradabilidade *in situ* foram utilizadas três vacas munidas de cânula ruminal, através da técnica de sacos de náilon incubados no rúmen. Os tempos de incubação foram 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 e 72 horas. Os animais foram suplementados com ração concentrada contendo grãos de canola. O processamento do grão de canola alterou as proporções dos parâmetros da equação de degradabilidade da MS e PB. A extrusão isoladamente resultou no decréscimo do parâmetro "a" e aumento do parâmetro "b" da equação de degradação da MS, entretanto, a associação com o lignosulfonato aumentou a o parâmetro "a" (MS), sem alterar a proporção do parâmetro "b". O parâmetro "a" da equação de degradação da PB foi reduzida nos tratamentos extrusados com lignosulfonato, contudo, a extrusão isoladamente aumentou esta fração. A degradabilidade efetiva da MS a uma taxa de passagem de sólidos de 2% e 5% não apresentou diferenças para os tratamentos avaliados, entretanto verificou-se redução da degradabilidade efetiva na taxa de passagem de 8% para os tratamentos extrusados. A degradabilidade efetiva da PB não apresentou diferença nas taxas de passagem de 2%, 5% e 8% para os processamentos utilizados nesta pesquisa. Tal oleaginosa apresentou grande proporção da fração B2 da proteína, obtida no sistema CNCPS e apresentou baixa quantidade da fração C dos carboidratos no mesmo sistema, caracterizando como um alimento potencial para a nutrição de ruminantes.

Palavras-chave: extrusão, lignosulfonato, oleaginosas, rúmen, tratamento fisico

In situ degradability and determination of protein and carbohydrate fractions of processed canola grain

Abstract: The objectives of the research were to evaluate dry matter (DM) and crude protein (CP) degradability and to determine protein and carbohydrate fractions of ground canola (GC), extruded ground canola (EC), ground canola with Lignosulfonate (GCL) and extruded ground canola with lignosulfonate (ECL). For in situ degradability research three ruminally fistulated Holstein cows had been used, using nylon bags *in situ* technique. The incubation times were 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 and 72 hours. They were supplemented with concentrate containing canola ground. The processing of canola ground modified DM and CP degradability parameters. The extrusion reduced "a" parameter and increased "b" parameter of DM degradability equation; however, the combination with lignosulfonate increased "a" parameter of DM, without "b" parameter alteration. The "a" parameter of CP degradability equation was reduced for extruded with lignosulfonate treatments, however, only extrusion, increased this fraction. The DM effective degradability at 2% and 5% passage rate didn´t have differences among evaluated treatments, but verified reduction in efective degradability at 8% passage rate for extruded treatments. The CP effective degradability did not cause any difference for the processings used in this research. This oilseed had high protein "B" fraction, in the CNCPS system, but presented low carbohydrate "C" fractions in the same system, so characterizing ground canola as a potential food for ruminant nutrition.

Keywords: extrusion, lignosulfonate, oilseed, rumen, physical treatment

Introdução

A proteína bruta (PB) contida nos alimentos dos ruminantes é composta por uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR), de forma que a degradação deste nutriente inicia, através de enzimas secretadas pelos microrganismos ruminais, e esta fauna microbiana utiliza os peptídeos, aminoácidos e amônia resultante do processo de degradação para a síntese da proteína microbiana e multiplicação celular (Santos, 2006).

A canola é uma oleaginosa que vem sendo estudada como alternativa de suprimento de energia e proteína, já que é um alimento rico em PB (21 a 25,5%) (Bett et al., 1999) e possui uma variação de 40% a 50% de gordura. Esta planta protéica possui perfil de aminoácidos equilibrado, mas a PB contida no grão é rapidamente degradável no rúmen (De Boer et al., 1987; Robinson et al., 1994; Cant et al., 2003).

A intensidade da degradação ruminal da proteína bruta de um alimento, segundo Orskov & MacDonald (1979) é um dos principais indicadores nas avaliações da qualidade da proteína para os animais ruminantes, contudo, diversos fatores podem afetar a extensão da degradação da PB, tais como a composição física e química da PB do alimento, a atividade proteolítica microbiana, o acesso microbiano a proteína, o tempo de retenção do alimento no rúmen, o pH ruminal, o processamento do alimento e a temperatura ambiente (Santos, 2006). Dentre estes fatores, técnicas de processamentos estão sendo estudadas por diversos pesquisadores para diminuir a degradabilidade da PB, entre elas a extrusão.

A extrusão é um processo de cozimento sob pressão, umidade e elevadas temperaturas. Várias funções podem ser provindas da extrusão incluindo moagem, hidratação, mistura, tratamento térmico, gelatinização, desnaturação protéica, destruição de microrganismos e outros componentes tóxicos, expansão, alteração da textura e desidratação parcial (Chang & Wang, 1998). Este processamento reduz a solubilidade da proteína no rúmen, aumentando o suprimento de aminoácidos do intestino delgado (Aldrich, et al., 1993), reduzindo a taxa de degradação ruminal (Moshtaghi & Ingalls, 1995) e também aumentando a degradação ruminal dos carboidratos não estruturais, diminuindo assim, a proporção acetato/propionato no rúmen e perdas com os processos de fermentação.

A redução da degradabilidade da PB pela extrusão ocorre devido a formação de complexos entre proteínas e carboidratos (reação de Maillard), mas durante o

processamento deve-se utilizar temperatura adequada e tempo de exposição correto para aumentar o teor de PNDR sem, no entanto, prejudicar a digestibilidade no intestino (Santos, 2006).

Plaisance et al. (1997), utilizando processamento com altas temperaturas (150º C por 105 minutos), observaram redução da digestibilidade da proteína. Moshtachi & Ingalls, (1995) relataram que durante a extrusão, a temperatura excessiva pode reduzir a quantidade de aminoácidos e reduzir a digestibilidade intestinal.

Outra técnica de proteção que pode ser utilizada para aumentar a PNDR é o tratamento dos alimentos com lignosulfonato. Este produto é um aglutinante energético, tem em sua composição cálcio e magnésio, é um subproduto extraído do processamento da madeira e contém uma variedade de açúcares da madeira, principalmente a xilose.

A adição de açúcares pode potencializar o efeito no tratamento térmico como relatado por Petit et al. (1999) trabalhando com grãos de soja. McAllister et al. (1993) avaliaram o uso de lignosulfonato associado com aquecimento para a redução da proteína degradável no rúmen em dietas contendo canola, e confirmaram tal benefício.

Outros autores também obtiveram resultados positivos com o uso do lignosulfonato e relataram que o produto atua diminuindo a degradação ruminal da proteína do grão de soja, pois protege a proteína verdadeira da ação dos microrganismos ruminais, aumentando a concentração de proteína não degradável no rúmen (Windschitl & Stern 1988; Petit et al., 1999; von Keyserlingk et al., 2000) e a disponibilidade de aminoacidos essenciais para a síntese do leite na glândula mamária e reduzindo as perdas de nitrogênio pelo animal.

Outro fator que pode ser associado com a PDR e PNDR é a solubilidade da proteína, entretanto, o fato da proteína estar na forma solúvel não é fator obrigatório para que ela seja degradada no rúmen, já que há outros fatores que afetam esta variável. A correlação entre solubilidade e degradabilidade é alta quando a comparação é realizada com alimentos de uma mesma classe e neste caso quanto maior o teor de nitrogênio não-protéico na PB do alimento, maior é a correlação entre solubilidade e degradação (Santos, 2006).

Dentro deste contexto, os alimentos utilizados nos sistemas de produção animal podem ser fracionados para se obter adequada caracterização dos mesmos e no caso da PB, determinar a solubilidade. Este importante nutriente pode ser subdividido na fração A, constituída de compostos NNP, sendo esta solubilizada instantaneamente e apresentando taxa de degradação tendendo ao infinito. As frações B1, B2 e B3 que são

potencialmente degradáveis, sendo subdividida de acordo com o potencial de degradação. A fração de rápida degradação ruminal, que seria a proteína solúvel é a fração B1; as frações com taxa de degradação intermediária e lenta no rúmen são as frações B2 e B3, respectivamente e a fração C, corresponde a proteína insolúvel em detergente ácido, não degradada no rúmen e indigestível nos intestinos (Sniffen et al., 1992; Santos, 2006) .

Ainda, neste sistema de fracionamento, podemos subdividir as frações dos carboidratos. Este nutriente pode ser subdividido na fração A, correspondente a fração solúvel, constituída de açúcares de rápida degradação no rúmen; na fração B1, composta de amido e pectina, na fração B2, correspondente a porção digestível da parede celular e na fração C, que corresponde a fração não degradável da parede celular (Sniffen et al., 1992).

Informações sobre a PDR, PNDR e frações solúveis dos alimentos utilizados para alimentação de vacas leiteiras são de extrema importância para atender as exigências nutricionais destes animais de acordo com cada categoria e maximizar o aproveitamento, principalmente da PB, evitando perdas de nitrogênio.

Estudos realizados no Brasil, associando extrusão e lignosulfonato como alternativa para a redução da fração degradável no rúmen, assim como caracterização das frações solúveis do grão de canola são inexistentes. Diante deste cenário, objetivou-se avaliar o efeito da moagem, da extrusão, do lignosulfonato ou da combinação entre os processamentos sobre a degradação da MS e PB no rúmen, e ainda caracterizar o grão de canola processado quanto às frações da proteína e dos carboidratos presentes no grão de canola.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UEM, Brasil. Foram utilizadas três vacas da raça Holandesa, munidas de cânula ruminal. As vacas foram submetidas a um período de adaptação de 14 dias e 7 dias de coleta.

As quatro dietas avaliadas foram: grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com 50 g/kg de lignosulfonato (CML) e grão de canola extrusada tratada com 50 g/kg de lignosulfonato (CEL). Os animais

ficaram alojados em instalações do tipo *tie stall* e receberam alimentação individualmente, duas vezes ao dia, às 8h e 16h.

A canola utilizada na composição dos quatro tratamentos foi moída em um moinho de faca dotado de uma peneira com crivos de 5 mm e após a moagem cada tratamento recebeu um processamento diferenciado. O lignosulfonato foi adicionado a canola após moagem, e antes da extrusão.

O lignosulfonato utilizado foi o Melbond®, sendo este um lignosulfonato de cálcio e magnésio, derivado da madeira (Melbar, São Paulo, SP, Brasil). A extrusão foi realizada com a canola previamente moída, em extrusora MX-100 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil), sem uma fonte externa de calor e umidade, a uma temperatura de 120ºC. A velocidade de passagem foi de 550 rpm e o diâmetro do canhão foi de 9,5 mm. O tempo de residência e a média de produção foram 30 s e 800 kg/h, respectivamente.

A degradação *in situ* da Matéria Seca (MS) e Proteína Bruta das rações, foi obtida pela técnica de saco de náilon, descrita por Petit et al. (1994). Em cada animal canulado foram colocados três sacos de náilon de cada tratamento. A dimensão dos sacos de náilon utilizados foi de 10 x 17 cm, com tamanhos de poros de 53 ± 10 μm. Foram adicionados em cada saco 7 g de amostra (base na matéria natural), e após a pesagem os sacos foram fechados com argolas metálicas e atados com elástico. As argolas metálicas foram presas a uma âncora constituída de uma barra de aço inoxidável com 540 g de peso. Esta estrutura metálica ficava amarrada a cânula, durante o período de incubação, por um fio de náilon de 60 cm.

Os sacos foram introduzidos no rúmen nos intervalos de tempo: 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 e 72 horas, sendo posteriormente retirados do rúmen e lavados em água corrente, juntamente com os sacos que representam o tempo 0 de degradação. O período de lavagem foi o suficiente para que a água que fluía do saco se tornasse clara. Após a lavagem, os sacos foram secos em estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 55º C durante 72 horas.

A degradação da MS e da PB foi calculada utilizando o seguinte modelo de primeira ordem com uma lag fase t_0 baseada no modelo de Mcdonald (1981):

$$p = a \text{ se } t < \text{ou} = t_0,$$

$$p = a + b\,[1 - \exp(-c(t - t_0))] \text{ se } t > t_0,$$

Onde:

p = total degradado no tempo considerado;

a = intercepto representando a porção de MS ou PB solubilizada no início da incubação (tempo 0);

b = fração de MS ou PB potencialmente degradável no rúmen;

c = taxa constante de desaparecimento da fração b;

t = tempo de incubação.

Os parâmetros não-lineares *a*, *b*, *c*, e t_0 foram estimados pelo procedimento interativo de quadrados mínimos (SAS, 1985), e os valores melhores ajustados foram escolhidos com o método Secant usando o critério de convergência (10^{-8}) do SAS (1985). O parâmetro lag t_0 foi restringido para ser maior ou igual a 0.

Os valores de degradabilidade efetiva da MS ou da PB foram calculados usando a equação de McDonald (1981):

$$P = a + \frac{bc}{c+k}(\exp(-(c+k)t_0)$$

Onde, k é a taxa de passagem estimada do rúmen, e a, b, c e t_0 são os mesmos parâmetros descritos anteriormente. A degradabilidade efetiva da MS ou PB foi estimada para cada tratamento assumindo taxa de passagem de sólidos no rúmen de 2%, 5% e 8%/h, os quais representam baixa, média e alta ingestão.

Os dados para estimação dos valores a, b, e c e para a degradabilidade efetiva da MS e PB foram analisados pelo procedimento de modelos lineares generalizados (GLM) do SAS (1985) em um delineamento completamente casualizado tendo o animal como repetição.

As análises dos alimentos, dos concentrados, da silagem e dos resíduos dos sacos de náilon foram realizadas segundo as metodologias propostas pela AOAC (1997) para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas, e segundo Van Soest et al. (1991) para fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

Os procedimentos empregados para o fracionamento da proteína bruta, seguiram as recomendações de Licitra et al. (1996). A fração A, foi obtida pelo tratamento da amostra com 50 mL de água destilada por 30 minutos e pela adição subseqüente de 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%, por mais 30 minutos. Em seguida, filtrou-se a amostra em cadinho de vidro colocando-se este por uma noite em estufa a 105ºC. No

dia seguinte, o cadinho foi pesado sendo determinado o nitrogênio no material residual. Pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio residual, foi obtida a fração A.

O nitrogênio solúvel foi obtido incubando-se a amostra em 50 mL de tampão borato-fosfato e 1 mL de solução de azida sódica (10%). Após três horas, a amostra foi filtrada em cadinho de vidro, determinando-se o nitrogênio residual. O nitrogênio solúvel total foi obtido pela diferença entre o nitrogênio total menos o nitrogênio residual, tratado em tampão borato-fosfato. A fração $B_{1,}$ foi determinada pela diferença entre o nitrogênio solúvel total menos o nitrogênio não-protéico (Sniffen et al., 1992).

A fração B2, foi determinada pela diferença entre a fração insolúvel em tampão borato-fosfato e a fração nitrogenada insolúvel em detergente neutro (NIDN) (Sniffen et al., 1992). A fração $B_{3,}$ foi determinada pela diferença entre o NIDN e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), sendo esta última considerada como a fração nitrogenada indisponível (c) (Van Soest et al., 1991). Para a expressão das frações em termos protéicos empregou-se o fator multiplicativo 6,25.

Os teores e frações dos carboidratos foram determinados segundo as equações de Sniffen et al. (1992):

$$CT_{(g/kgMS)} = 1000 - (PB + EE + Cinzas)$$
$$CNF_{(g/kgMS)} = MO - (PB + EE + FDNcp)$$
$$\text{Fração C}_{(g/kgMS)} = 2{,}4 * Lig_{(g/kgMS)}$$
$$\text{Fração B}_{2\,(g/kgMS)} = FDNcp_{(g/kgMS)} - \text{Fração C}_{(g/kgMS)}$$

Onde:

CT= carboidratos totais;

CNF = carboidratos não-fibrosos (considerados equivalentes às frações A e B_1);

FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína;

Lig = lignina.

A análise estatística dos dados de fracionamento de carboidratos e proteínas, foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (2000) com um arranjo dos tratamentos em fatorial 2 x 2. O efeito dos tratamentos foi analisado por contrastes, comparando-se: com e sem lignosulfonato, com e sem extrusão e a interação entre extrusão e lignosulfonato. O nível de significância de $P<0{,}05$ foi considerado significativo e de $P<0{,}10$ foi considerado como tendência.

Resultados e Discussão

As estimativas dos parâmetros “a”, “b” e “c” (%) da equação de degradabilidade e as degradabilidades efetivas da MS e PB, estão apresentadas nas Tabelas 2. A estimativa do parâmetro “a” da MS apresentou-se menor nos tratamentos submetidos ao processo de extrusão, contudo, a associação entre a extrusão e o tratamento do grão de canola com lignosulfonato tendeu a aumentar esta fração 100% degradável no rúmen. Como a extrusão proporcionou redução na fração “a”, este processamento resultou também no aumento do parâmetro “b” (MS). O parâmetro “c” (MS) não apresentou diferença entre os tratamentos avaliados e ainda, o uso do lignosulfonato de cálcio e magnésio isoladamente não alterou as proporções entre os parâmetros “a”, “b” e “c” e também não influenciou nas estimativas de degradabilidade efetiva da MS a 2%, 5% e 8%.

A degradabilidade efetiva da MS (DEMS) a uma taxa de passagem de 8% apresentou-se menor para os tratamentos extrusados, mas não demonstrou diferenças com o uso do lignosulfonato ou com a associação entre lignosulfonato e extrusão, conforme apresentado na Tabela 1.

A estimativa do parâmetro “a” (PB) foi menor nos tratamentos em que se procedeu a extrusão, entretanto, a associação entre extrusão e lignosulfonato reduziu em grande proporção, esta variável avaliada. Da mesma forma, com relação ao parâmetro “b” da PB, a extrusão resultou em redução desta fração, todavia, a associação entre a extrusão e o lignosulfonato estimulou o aumento de tal parâmetro, potencialmente degradável no rúmen. No presente estudo não se observou diferenças na degradabilidade efetiva da PB (DEPB) a uma taxa de passagem de 2%, 5% e 8% por hora entre os tratamentos CM, CE, CML e CEL.

Khorasani et al. (1993) avaliaram as características de degradação ruminal de tratamentos contendo canola sem tratamento em comparação a canola tratada com ácido acético para vacas em lactação e relataram que a canola tratada quimicamente reduziu a degradação da proteína no rúmen, tanto pela redução da fração solúvel da PB, quanto pelo aumento da fração potencialmente degradável da PB, com concomitante redução da taxa de degradação ruminal, sugerindo que este tratamento aumentou a proporção de proteína da canola que passa do rúmen para o intestino.

TABELA 1 – Médias das estimativas não-lineares dos parâmetros a, b e c e a degradabilidade efetiva da matéria seca (DEMS) e da proteína bruta (DEPB) dos tratamentos com grão de canola moída (CM), grão de canola extrusada (CE), grão de canola moída tratada com lignosulfonato (CML) e grão de canola extrusada tratada com Lignosulfonato (CEL), nas taxas de passagem de sólido de 2%, 5% e 8% por hora.

	Tratamentos					Probabilidade		
Parâmetro	CM	CE	CML	CEL	CV [a]	Extrusão	Lign	Ext x Lig
Matéria Seca								
A	31,25	28,41	34,17	35,83	6,21	0,001	0,63	0,09
B	65,64	68,90	62,56	60,79	4,08	0,01	0,64	0,14
C	0,10	0,08	0,09	0,08	19,36	0,72	0,20	0,75
DEMS a 2%	84,29	83,51	85,35	83,90	1,54	0,36	0,17	0,67
DEMS a 5%	72,12	70,80	74,39	72,41	2,58	0,11	0,17	0,77
DEMS a 8%	64,21	62,87	67,29	65,31	3,21	0,05	0,20	0,80
Proteína Bruta								
A	24,33	27,13	24,13	18,09	10,66	0,01	0,29	0,02
B	75,49	72,14	76,05	80,07	4,16	0,05	0,86	0,08
C	0,09	0,07	0,07	0,11	32,85	0,46	0,72	0,13
DEPB a 2%	85,90	81,61	82,04	85,29	6,73	0,98	0,88	0,28
DEPB a 5%	72,64	67,54	67,57	72,37	10,47	0,98	0,98	0,28
DEPB a 8%	64,10	59,41	59,13	63,68	11,89	0,94	0,99	0,31

[a] CV = Coeficiente de variação em %.

Moshtaghi & Ingalls (1995) trabalhando com canola tratada termicamente (127ºC) em autoclave, com pressão, durante 45 minutos, observaram que o processamento reduziu a degradação ruminal dos aminoacidos presentes no grão de canola e aumentou o suprimento de aminoacido para o intestino. Este suprimento de aminoacido para o intestino é fundamental para o metabolismo animal, entretanto, em condições normais, a canola *in natura* não é uma fonte efetiva de aminoacido devido a sua intensa degradação ruminal, de forma que alguns trabalhos indicam a degradabilidade efetiva variando de 44,3 a 74% (Wright, et al. 2005).

Embora muitas pesquisas foram realizadas utilizando tratamento térmico em grãos de oleaginosas, há controvérsias entre os autores dos benefícios obtidos. Segundo Aldrich et al. (1995) e Wang et al. (1999) o tratamento térmico de grãos de oleaginosas usualmente altera o local da digestão da proteína do rúmen para o intestino, com pouco efeito na digestibilidade total, todavia, alguns autores relatam que a extrusão é menos efetiva do que outros processamentos na proteção da proteína (Meyer et al., 2001).

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com o observado por tais autores, já que a extrusão diminuiu o parâmetro “a” (PB), rapidamente degradável no rúmen, não alterando a degradabilidade efetiva. Windschitl & Stern (1988) observaram redução da degradabilidade de grãos de soja tratadas com lignosulfonato, e ainda, a combinação entre temperatura e lignosulfonato também reduziram a degradabilidade do grão de canola, sem afetar a digestibilidade dos outros nutrientes (McAllister et al., 1993).

Wright et al. (2005) obtiveram resultados positivos na redução da PDR tratando o grão de canola com 5% de lignosulfonato e aquecendo a mistura, sendo que tais resultados são semelhantes aos observados neste experimento, onde houve uma grande redução do parâmetro “a” da PB quando se associou a extrusão com o lignosulfonato.

Outra variável muito importante na nutrição de ruminantes é a caracterização dos nutrientes, desta forma, os alimentos devem ser fracionados para melhor utilização nas formulações das rações. A caracterização das frações das proteínas segundo o modelo Cornell (CNCPS) das dietas experimentais contendo canola moída, extrusada e extrusada com lignosulfonato estão apresentadas nas Tabelas 2.

A fração A,das proteínas geralmente tem em sua composição NH_3, NO_3, aminoacido e peptídeos, ou seja, o nitrogênio não-protéico apresenta solubilização instantânea e sua taxa de degradação tende ao infinito (Branco, 2005; Santos, 2006).

TABELA 2 – Frações de proteína (A, B_1, B_2, B_3 e C) e carboidratos (A+B_1, B_2 e C) dos grãos de canola moídos (CM), grãos de canola extrusados (CE), grãos de canola moídos e tratados com lignosulfonato (CML) e grãos de canola extrusados e tratados com Lignosulfonato (CEL).

Média (%)	Tratamentos				Probabilidade		
	CM	CE	CML	CEL	EP	Extrusão	Lign	Ext x Lig
Proteínas								
Fração A	2,85	2,80	2,76	2,76	0,02	0,21	0,01	0,27
Fração B1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,005	0,87	0,98	0,76
Fração B2	97,08	97,14	97,18	97,18	0,02	0,19	0,01	0,27
Fração B3	0,012	0,006	0,005	0,006	0,002	0,42	0,14	0,19
Fração C	0,04	0,04	0,04	0,03	0,002	0,09	0,33	0,25
Carboidratos								
Fração A+B1	38,09	39,24	36,76	40,02	2,22	0,35	0,91	0,65
Fração B2	58,82	57,58	59,74	53,22	1,11	0,006	0,16	0,04
Fração C	3,09	3,41	3,50	3,33	0,19	0,72	0,41	0,23

A fração A,dos grãos de canola moídos ou extrusados foram semelhantes, entretanto, o tratamento desta oleaginosa com o lignosulfonato proporcionou a redução desta fração. A fração B, representa a fração potencialmente degradável, sendo que a proporção da fração B1,dos tratamentos avaliados foi pequena (0,01), e não houve diferença entre os tratamentos, já a fração B2, foi mais significativa para todos os tratamentos, e neste caso o lignosulfonato estimulou o aumento desta porção.

Normalmente a fração B2 é composta por albuminas e uma fração de glutelinas, apresenta degradação ruminal variando de 5 a 15%/hora e é 100% digestível no intestino (Branco, 2005), sendo considerada uma fração com nitrogênio na forma de proteína de lenta degradação (Modesto et al., 2004). Não houve diferença entre as frações B3 e C,entre os tratamentos avaliados, entretanto, é interessante ressaltar que a fração C, do grão de canola, considerada não degradável no rúmen, apresentou-se baixa.

Segundo Nocek & Russel (1988) altas frações protéicas (A+B1) podem levar a perdas de N no rúmen, na forma de amônia, e ainda, altas proporções da fração solúvel da PB exigem suprimento adequado de carboidratos de rápida degradação ruminal para que ocorra o sincronismo de fermentação entre carboidratos e proteína no rúmen, neste caso a canola apresentou baixa proporção da fração proteica A+B1, apresentando maior concentração da fração B2, e ainda apresentou quantidade adequado da fração mais degradável dos carboidratos, de forma a proporcionar equilíbrio entre a quantidade de proteína e carboidratos no rúmen.

A determinação das frações dos carboidratos segundo o modelo Cornell (CNCPS) das dietas experimentais contendo canola moída, extrusada e extrusada com lignosulfonato estão apresentadas na Tabela 5.

A fração A+B1 que corresponde a fração solúvel, constituída de açúcares simples de rápida degradação no rúmen e também de amido e pectina (Malafaia et al., 1998) foi semelhante entre os tratamentos avaliados. A caracterização dos carboidratos não fibrosos como o somatório das frações A+B1 se fundamenta no aspecto da praticidade para o cálculo de rações para ruminantes e no aspecto analítico, uma vez que as metodologias de determinação do amido não resultam em valores veromissíveis e não apresentam boa repetibilidade em função da natureza heterogênea dos tecidos vegetais (Malafaia et al, 1998).

Os valores da fração A+B1, para as dietas avaliadas variou de 36,76 a 40,02, sem diferença significativa, entretanto, estes valores obtidos podem ser considerados intermediários quando comparados com a silagem de milho e com o farelo de soja que apresentaram valores de 21,7 e de 65 %, respectivamente (Malafaia et al., 1998). No caso da fração B2, os processamentos por extrusão e extrusão com o lignosulfonato proporcionaram redução desta variável avaliada e como a canola é um alimento concentrado, esta fração foi menor do que o encontrado por Malafaia et al. (1998) para alimentos volumosos, tais como a silagem de milho (60,7%), capim elefante (69,3%) e também que os resultados encontrados por Gonçalves et al. (2003) para feno de tifton 85, entretanto, maior do que os resultados obtidos por Modesto et al. (2004) para silagem do terço superior da rama de mandioca, e por Malafaia et al. (1998) para alimentos concentrados como o farelo de soja (8,1%), farelo de algodão (25,5%) e fubá (8,1%).

A fração C, não se apresentou diferente entre os alimentos avaliados e em valores numéricos foi significativamente menor do que os valores relatados na literatura para alimentos volumosos, explicado pela alta quantidade de parede celular presente neste grupo de alimentos, entretanto, é variável com a idade da planta avaliada. No caso da canola, a porção indigestível provavelmente deve estar presente na película que envolve o grão.

Conclusões

O processamento do grão de canola alterou as taxas de degradação da MS e PB. A extrusão isoladamente resultou no decréscimo do parâmetro “a” e aumento do parâmetro “b” da equação de degradação da MS, entretanto, a associação com o lignosulfonato aumentou a o parâmetro “a” (MS), sem alterar a proporção do parâmetro “b”.

O parâmetro “a” da equação de degradação da PB foi reduzida nos tratamentos extrusados com lignosulfonato, entretanto, o processamento térmico isoladamente aumentou esta fração. O parâmetro “b” (PB) foi reduzido nos tratamentos extrusados.

O presente trabalho caracterizou as frações dos carboidratos e da proteína dos grãos de canola extrusados, com lignosulfonato, e a combinação entre os dois processamentos. Tal oleaginosa apresentou grande proporção da fração B2, da proteína, obtida no sistema CNCPS e apresentou baixa quantidade da fração C, dos carboidratos

no mesmo sistema, caracterizando como um alimento potencial para a nutrição de ruminantes.

Literatura citada

ALDRICH, C.G.; MERCHEN, N.R.; NELSON, D.R. The effects of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: I. organic matter, energy, fiber and fatty acid digestion. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2131-2140, 1995.

ALDRICH, J.B.; MULLER, L.D.; VARGAS, G.A. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1091, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Gaitheersburg: AOAC International, 1997.

BETT, V., SANTOS, G.T., AROEIRA, L.J.M. et al. Digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com canola em grão integral em diferentes formas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p. 808-815, 1999.

BRANCO, A.F**. Caracterização de alimentos para ruminantes** – parte 1. In. II Curso de confinamento de bovinos, on-line, Potensal – Nutrição e Saúde Animal Ltda, p.43-64, 2005.

CANT, J.L.; BERTHIAUME, R.; LAPIERRE, H. et al. Responses of the bovine mammary glands to absorptive supply of single amino acids. **Canadian Journal of Animal Science,** v.83, p. 341-355, 2003.

CHANG, Y. K.; WANG, S.S. ***Advances in extrusion technology. Aquaculture/Animal feeds and foods.*** Águas de lindóia: Technomic, 1998, 422p.

De BOER, G.; MURPHY, J.J.; KENNELLY, J.J. Mobile nylon bag for estimating intestinal availability of rumen-undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.977, 1987.

GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C. et al. Determinação do consumo, digestibilidade e frações proteicas e de carboidratos do feno de Tifton 85 em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p. 804-813, 2003.

KHORASANI, G.R.; ROBINSON, P.H.; KENNELLY, J.J. Effects of canola meal treated with acetic acid on rumen degradation and intestinal digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1607-1616, 1993.

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

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.790-796, 1998.

McALLISTER, T.A.; CHENG, K.J.; BEAUCHEMIN, K.A. et al. Use of lignosulfonate to decrease the rumen degradability of canola meal protein. **Canadian Journal of Animal Science**, v.73, p.211-215, 1993.

McDONALD, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agric. Sci.** (Camb.), v.96:251, 1981.

MELBAR. Lignosulfonato. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.

MEYER, M.J.; SHIRLEY, J.E.; TIGEMEYER, E.C. et al. Effect of mechanical processing and fat removal on the nutritive value of cottonseed for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p. 2503-2514, 2001.

MODESTO, E.C.; SANTOS, G.T.; VILELA, D. et al. Caracterização químico-bromatológica da silage do terço superior da rama de mandioca. **Acta Scientiarum**, v.26, n.1, p.137-146, 2004.

MOSHTAGHI, S.A.; INGALLS, J.R. Influence of moist heat treatment on ruminal and intestinal disappearance of amino acids from canola meal. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.1552-1560, 1995.

NOCEK, J.; RUSSEL, J.B. Protein and carbohydrate as an integrated system. Relationship of ruminal availability to microbial contribuition and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2070-2107, 1988.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, London, v.92, p.449-453, 1979.

PETIT, H.V.; TURCOTTE, M.; AUDY, R. Degradability and digestibility of full-fat soybeans treated with different sugar and heat combinations. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, p.213-220, 1999.

PLAISANCE, R.; PETIT, H.V.; SEOANE, J.R. et al. The nutritive value of canola, heat-treatment canola and fish meal as protein supplements for lambs fed grass silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.68, p.139-152, 1997.

ROBINSON, P.H.; KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. Forestomach and whole tract digestion in lactating dairy cows fed canola meal treated with variable levels of acetic acid. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.552-559, 1994.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. FUNEP: Jaboticabal, p.255-286, 2006.

SAS. **Statistical analysis system**, Release 8.02.2000. SAS Institute Inc. Cary, NC, 2000.

SAS. **Statistical analysis system**, SAS Institute Inc. Cary, NC, 1985.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al., A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 70, n.10, p.3562-3577. 1992.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3598, 1991.

von KEYSERLINGK, M.A.G.; WEURDING, E.; SWIFT, M.L. et al. Effect of adding lignosulfonate and heat to canola screening on ruminal and intestinal disappearance of dry matter and crude protein. **Canadian Journal of Animal Science**, v.80, p. 215-219, 2000.

WANG, Y.; McALLISTER, T.A.; PICKARD, M.D. et al. Effect of micronization full fat canola seed on amino acid disappearance in gastrointestinal tract on dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.537-544, 1999.

WINDSCHITL, P.M.; STERN, M.D. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen- protected protein for dairy cattle**. Journal of Dairy Science**, v.77, p.3310-3325, 1988.

WRIGHT, C.F.; von KEYSERLINGK, A.G.; SWIFT, M.L. et al. Heat and lignosulfonate treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.238-243, 2005.