



## Parâmetros ruminais de vacas Holandês x Zebu em lactação alimentadas com dietas à base de capim-elefante picado contendo níveis crescentes de óleo de soja<sup>1</sup>

Carlos Gustavo Santos Ribeiro<sup>2</sup>, Fernando César Ferraz Lopes<sup>3</sup>, Norberto Mario Rodriguez<sup>4</sup>, Marco Antônio Sundfeld da Gama<sup>5</sup>, Rosemeire Aparecida de Carvalho Dornellas<sup>6</sup>, Renata de Jesus Coelho Castro<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor, financiada pela FAPEMIG (CVZ 1815/06).

<sup>2</sup>Doutorando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFMG. Bolsista da FAPEMIG. E-mail: [bacariibeiro@ig.com.br](mailto:bacariibeiro@ig.com.br)

<sup>3</sup>Analista da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG). Bolsista do CNPq. E-mail: [fernando@cnpq.embrapa.br](mailto:fernando@cnpq.embrapa.br)

<sup>4</sup>Professor Titular do Dep. de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG. Bolsista do CNPq. E-mail: [norberto@vet.ufmg.br](mailto:norberto@vet.ufmg.br)

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Leite. E-mail: [gama@cnpq.embrapa.br](mailto:gama@cnpq.embrapa.br)

<sup>6</sup>Assistente da Embrapa Gado de Leite. E-mail: [miererose@yahoo.com.br](mailto:miererose@yahoo.com.br)

<sup>7</sup>Estudante de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora. Bolsista da FAPEMIG. E-mail: [requimicajfl@hotmail.com](mailto:requimicajfl@hotmail.com)

**Resumo:** O experimento foi realizado na Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, Minas Gerais. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da inclusão de 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de soja (OS) na matéria seca (MS) de dietas baseadas em capim-elefante picado sobre parâmetros de fermentação ruminal de vacas Holandês x Zebu em lactação. As dietas foram isoprotéicas e isofibrosas, com relação volumoso:concentrado de 52:48 (base da MS). Foi utilizado delineamento Quadrado Latino 4 x 4, em esquema de parcela sub-dividida, com as dietas alocadas nas parcelas e os tempos de amostragem (0; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 16 e 24 h após o fornecimento das dietas) nas sub-parcelas. A interação dieta *versus* tempo de amostragem não foi significativa ( $P > 0,05$ ) para nenhum dos parâmetros ruminais. Houve efeito do nível de OS apenas sobre os parâmetros de fermentação do butirato ( $P < 0,02$ ). Foi observado efeito ( $P < 0,0001$ ) do tempo de amostragem sobre todos os parâmetros ruminais, independentemente de tratamento. Em nenhum momento do dia a concentração de nitrogênio amoniacal foi inferior à 5 mg/100mL, considerada limitante ao crescimento microbiano no rúmen. Nas primeiras horas após a alimentação houve aparente mudança no padrão de fermentação ruminal, com incremento na produção de propionato em detrimento do acetato. Concluiu-se que a inclusão de até 4,5% de óleo de soja em dietas à base de capim-elefante picado não alterou de modo expressivo o padrão de fermentação ruminal de vacas Holandês x Zebu em lactação.

**Palavras-chave:** ácidos graxos voláteis, nitrogênio amoniacal, *Pennisetum purpureum*, pH ruminal

### Ruminal parameters of Holstein x Zebu lactating cows fed chopped elephantgrass-based diets containing increasing levels of soybean oil

**Abstract:** This study was conducted at Embrapa Dairy Cattle Research Centre, located in Coronel Pacheco, Minas Gerais. The objective of the study was to evaluate the effects of soybean oil (SO) levels (0; 1.5; 3.0 and 4.5% of DM) in elephantgrass-based diets on ruminal fermentation parameters from Holstein x Zebu lactating cows. Diets contained similar protein and fiber contents and forage:concentrate ratio was 52:48 (on a DM basis). The experimental design was a 4 x 4 Latin Square with split-plot arrangement corresponding to diets and sampling time (0; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 16 e 24 h after feeding). The interaction diet *vs.* sampling time was not significant ( $P > 0.05$ ) for all ruminal parameters. Both concentration and molar proportion of butyrate were affected by SO levels ( $P = 0.02$ ), but other ruminal parameters were unaffected by treatments. All ruminal parameters were affected by sampling time ( $P < 0.0001$ ), regardless of SO level. Concentration of ammonia nitrogen was higher than 5 mg/100 mL throughout the study, which is considered a threshold for microbial growth. The pattern of ruminal fermentation was altered during the first hours after feeding, as indicated by increased propionate at the expense of acetate. It was concluded that chopped elephantgrass-based diets containing up to 4.5% of soybean oil had little impact on pattern of ruminal fermentation in Holstein x Zebu lactating cows.

**Keywords:** volatile fatty acids, ammonia nitrogen, *Pennisetum purpureum*, ruminal pH

### Introdução

Dietas de vacas leiteiras baseadas em forrageiras frescas fornecidas no cocho suplementadas com óleos vegetais ricos em ácido linoléico promovem mudanças expressivas na composição de ácidos

graxos do leite (Kelly et al., 1998), as quais podem trazer benefícios para a saúde e nutrição humana (Collomb et al., 2006).

No entanto, níveis elevados de ácidos graxos poli-insaturados livres na dieta de ruminantes podem provocar impacto negativo sobre a microbiota do rúmen, resultando em mudanças nos padrões de fermentação, com limitações importantes ao crescimento microbiano, diretamente relacionado ao desempenho animal (Jenkins, 1993).

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da inclusão de 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de soja na MS de dietas baseadas em capim-elefante picado sobre parâmetros ruminais de vacas Holandês x Zebu em lactação.

### Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco, MG), sendo utilizadas quatro vacas Holandês x Zebu multíparas (três ou quatro partos), no terço inicial da lactação ( $90 \pm 25$  dias), fistuladas no rúmen, produzindo  $15,6 \pm 3,0$  kg/dia de leite, e pesando  $458,0 \pm 57,0$  kg. As vacas foram ordenhadas, mecanicamente, duas vezes ao dia.

Foram avaliadas quatro dietas à base de capim-elefante picado (28,8% de MS; 6,5% de proteína bruta – PB e 73,1% de fibra em detergente neutro - FDN) suplementado com concentrados contendo níveis crescentes de óleo de soja (OS), de forma a se obter 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de OS na MS total.

As dietas foram formuladas para ser isoprotéicas (14,4% de PB) e isofibrosas (42,8% de FDN), sendo fornecidas uma vez ao dia, logo após a ordenha da manhã, como mistura total (relação volumoso:concentrado de 52:48%, na base da MS). As dietas foram fornecidas *ad libitum* (10% de sobras), em cochos cobertos, dotados de portões eletrônicos do tipo *calan-gates* (American Calan Inc., Northwood, NH, EUA), instalados em curral com piso cimentado, onde havia disponibilidade de água e mistura mineral. Os concentrados foram compostos por fubá de milho, farelo de soja, polpa cítrica e mistura mineral-vitamínica, adicionados ou não de OS (53,8 g de ácido linoléico/100 g de ácidos graxos).

Foi utilizado delineamento Quadrado Latino (QL) 4 x 4, onde cada fase compreendeu 21 dias, com períodos de adaptação às dietas e de coletas de 11 e de 10 dias, respectivamente. Para avaliação dos parâmetros de fermentação, as amostragens foram realizadas nos dois primeiros dias de coleta de cada uma das quatro fases do QL, sendo coletadas amostras de líquido ruminal no saco ventral do rúmen, imediatamente antes (tempo zero) e 2; 4; 6; 8; 10; 12; 16 e 24 h após o fornecimento das dietas. Após coagem e homogeneização, foi realizada leitura do valor de pH, com potenciômetro digital. Posteriormente, duas alíquotas de 10 mL de líquido ruminal foram adicionadas a frascos contendo 8 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50% v/v (subamostra 1) ou 2 mL de ácido metafosfórico 25% (subamostra 2), sendo então congeladas. Após descongelamento em temperatura ambiente, a subamostra 1 foi analisada quanto à concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), enquanto que a subamostra 2 foi centrifugada e analisada em cromatografia gasosa para concentração molar (mMol/100 mL) dos ácidos graxos voláteis (AGV) acetato, propionato, e butirato. A relação acetato:propionato (A:P) foi determinada pela razão entre as concentrações molares (mMol/100 mL) de acetato e propionato no líquido ruminal.

Todas as variáveis de fermentação ruminal foram analisadas pelo procedimento MIXED do SAS (2002), segundo delineamento QL 4 x 4 em esquema de parcela sub-dividida, com as dietas alocadas nas parcelas e os tempos de amostragem nas sub-parcelas. O modelo para análise de variância incluiu como fontes de variação vaca, fase, tratamento, tempo, a interação tratamento x tempo, além do resíduo. As comparações de médias foram realizadas por meio do teste de Tukey (P<0,05).

### Resultados e Discussão

A interação dieta *versus* tempo de amostragem não foi significativa (P>0,05) para nenhum dos parâmetros ruminais.

Houve efeito do nível de OS apenas sobre a concentração e a porcentagem molar do butirato (P<0,02). A porcentagem molar do butirato foi maior na dieta com inclusão de 4,5% de OS em comparação com as demais. A semelhança (P>0,05) entre dietas para os demais parâmetros ruminais sugere que a suplementação com OS até o limite de 4,5% da MS não provocou alterações muito expressivas na microbiota ruminal.

Foi observado efeito (P<0,0001) do tempo de amostragem sobre todos os parâmetros ruminais, independentemente de tratamento (Tabela 1). Houve decréscimo abrupto no pH até 4 h após o fornecimento das dietas (P<0,05) que, a partir daí, até às 12 h, manteve-se constante na faixa de 6,10 a 6,25 (P>0,05), elevando-se em seguida até atingir, às 24 h, valor semelhante (P>0,05) ao observado no tempo zero (Tabela 1). Ressalte-se que o valor do pH ruminal permaneceu sempre superior a 6,1, como recomendado por Van Soest (1994).

Na segunda hora após a alimentação, houve aumento (P<0,05) da concentração ruminal de N-NH<sub>3</sub>, que se manteve acima de 14 mg/100 mL até o tempo de coleta de 6 h. A partir daí, e até às 12 h,

houve redução ( $P < 0,05$ ) na concentração de  $N-NH_3$  para valores entre 11,9 a 12,2 mg/100 mL. A concentração de  $N-NH_3$  elevou-se após às 16 h, atingindo às 24 h valor semelhante ( $P > 0,05$ ) ao observado no tempo zero (Tabela 1). Em nenhum momento do dia a concentração de  $N-NH_3$  foi inferior à 5 mg/100 mL, considerada limitante ao crescimento microbiano no rúmen (Satter & Slyter, 1974).

Quanto aos AGVs, nas primeiras horas após a alimentação houve aparente mudança no padrão de fermentação ruminal, com incremento na produção de propionato em detrimento do acetato, conforme observado pelas proporções molares de ambos (Tabela 1). Aparentemente, o pico de produção de acetato e, por consequência, de AGV, ocorreu por volta de 10 a 12 h após a alimentação. Neste período também foi observado o nadir na concentração ruminal de  $N-NH_3$ , que pode ser decorrência de sua maior utilização pelos microrganismos fibrolíticos, associados à maior produção de acetato. De modo geral, no período do dia onde foram observados os menores valores de pH (4 e 12 h), houve relativa maior produção de AGVs (Tabela 1).

Tabela 1 Efeito do tempo de amostragem sobre o pH e as concentrações de nitrogênio amoniacal ( $N-NH_3$ ) e de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen de vacas Holandês x Zebu em lactação, alimentadas com dietas baseadas em capim-elefante suplementadas com níveis crescentes de óleo de soja

Tempo	Parâmetros de fermentação ruminal <sup>a, b</sup>									
	pH	$N-NH_3$	Acet	Prop	But	AGV	A:P	Acet%	Prop%	But%
0	6,84 <sup>A</sup>	15,49 <sup>B</sup>	7,19 <sup>B</sup>	2,51 <sup>B</sup>	0,42 <sup>BC</sup>	10,12 <sup>B</sup>	2,87 <sup>AB</sup>	70,93 <sup>A</sup>	24,97 <sup>B</sup>	4,10 <sup>C</sup>
2	6,33 <sup>C</sup>	18,81 <sup>A</sup>	7,81 <sup>AB</sup>	3,20 <sup>A</sup>	0,58 <sup>AB</sup>	11,59 <sup>AB</sup>	2,48 <sup>B</sup>	67,42 <sup>B</sup>	27,55 <sup>A</sup>	5,03 <sup>AB</sup>
4	6,13 <sup>D</sup>	16,67 <sup>AB</sup>	7,98 <sup>AB</sup>	3,31 <sup>A</sup>	0,60 <sup>AB</sup>	11,89 <sup>AB</sup>	2,45 <sup>B</sup>	67,07 <sup>B</sup>	27,83 <sup>A</sup>	5,10 <sup>AB</sup>
6	6,10 <sup>D</sup>	14,09 <sup>B</sup>	8,79 <sup>AB</sup>	3,50 <sup>A</sup>	0,68 <sup>A</sup>	12,97 <sup>A</sup>	2,53 <sup>B</sup>	67,67 <sup>B</sup>	27,07 <sup>AB</sup>	5,26 <sup>A</sup>
8	6,15 <sup>D</sup>	12,25 <sup>C</sup>	8,40 <sup>AB</sup>	3,20 <sup>A</sup>	0,61 <sup>AB</sup>	12,21 <sup>AB</sup>	2,64 <sup>B</sup>	68,70 <sup>B</sup>	26,27 <sup>AB</sup>	5,03 <sup>AB</sup>
10	6,13 <sup>D</sup>	11,86 <sup>C</sup>	9,38 <sup>A</sup>	3,43 <sup>A</sup>	0,63 <sup>A</sup>	13,44 <sup>A</sup>	2,74 <sup>AB</sup>	69,58 <sup>AB</sup>	25,71 <sup>B</sup>	4,71 <sup>B</sup>
12	6,25 <sup>CD</sup>	11,94 <sup>C</sup>	9,24 <sup>A</sup>	3,25 <sup>A</sup>	0,59 <sup>AB</sup>	13,08 <sup>A</sup>	2,85 <sup>AB</sup>	70,30 <sup>AB</sup>	25,15 <sup>B</sup>	4,55 <sup>BC</sup>
16	6,42 <sup>B</sup>	13,56 <sup>BC</sup>	8,57 <sup>AB</sup>	3,02 <sup>AB</sup>	0,52 <sup>B</sup>	12,10 <sup>AB</sup>	2,83 <sup>AB</sup>	70,40 <sup>AB</sup>	25,32 <sup>B</sup>	4,28 <sup>BC</sup>
24	6,77 <sup>A</sup>	15,58 <sup>B</sup>	7,30 <sup>B</sup>	2,51 <sup>B</sup>	0,39 <sup>C</sup>	10,19 <sup>B</sup>	2,93 <sup>A</sup>	71,38 <sup>A</sup>	24,80 <sup>B</sup>	3,82 <sup>C</sup>
EPM <sup>c</sup>	0,0382	0,6949	0,4213	0,1280	0,0245	0,5350	0,0967	0,7365	0,6515	0,1418

<sup>a</sup> $N-NH_3$  = nitrogênio amoniacal (mg/100 mL); Acet, Prop e But, respectivamente, acetato, propionato e butirato (mMol/100 mL); AGV = ácidos graxos voláteis totais (mMol/100 mL); A:P = relação acet:prop; e Acet%, Prop% e But% = concentrações molares (%) de acetato, propionato e butirato, respectivamente.

<sup>b</sup>Médias na mesma coluna seguidas de letras maiúsculas iguais são semelhantes ( $P > 0,05$ ).

<sup>c</sup>EPM = erro-padrão da média.

### Conclusões

A inclusão de óleo de soja, até 4,5% da MS de dietas baseadas em capim-elefante picado, não alterou de modo expressivo o padrão de fermentação ruminal de vacas Holandês x Zebu em lactação.

### Agradecimentos

Aos funcionários José Moreira de Castilho e Marcial dos Santos Dornelas pelo auxílio nas etapas de preparo de materiais e na coleta, processamento e análise química das amostras.

### Literatura citada

- COLLOMB, M.; SCHMID, A.; SIEBER, R. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v.16, p.1347-1361, 2006.
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1993.
- KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A. et al. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**, v.128, p.881-885, 1998.
- SAS Institute Inc. **SAS® User's Guide: Statistics**, Version 5 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.