



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CAMILA SOUSA DA SILVA**

**GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO COMO ALTERNATIVA  
LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO**

**RECIFE**

**2023**

**CAMILA SOUSA DA SILVA**

**GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO COMO  
ALTERNATIVA LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Área de concentração: Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Andrade Ferreira

Coorientadores: Prof. Dr. Carolina Corrêa de Figueiredo Monteiro

Dr. Marco Antônio Sundfield da Gama

Dr. Júlio César Vieira de Oliveira

**RECIFE**

**2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S586g

Silva, Camila

GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO COMO ALTERNATIVA LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO / Camila Silva. - 2023.  
79 f.

Orientador: Marcelo de Andrade Ferreira.

Coorientador: Marco Antonio Sundfield da Gama, Carolina Correa de Figueiredo Monteiro e Julio Cesar Vieira de Oliveira.

Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, 2023.

1. ácidos graxos do leite. 2. Opuntia sp.. 3. suplementação lipídica. 4. semiárido. I. Ferreira, Marcelo de Andrade, orient. II. Oliveira, Marco Antonio Sundfield da Gama, Carolina Correa de Figueiredo Monteiro e Julio Cesar Vieira de, coorient. III. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA


GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO COMO ALTERNATIVA  
LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Tese elaborada por

CAMILA SOUSA DA SILVA


Aprovado em \_\_/\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente  
 MARCELO DE ANDRADE FERREIRA  
Data: 27/03/2023 11:59:35-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof. Dr. Marcelo de Andrade Ferreira  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Documento assinado digitalmente  
 ADRIANA GUIM  
Data: 28/03/2023 16:10:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof. Dra. Adriana Guim  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Documento assinado digitalmente  
 SAFIRA VALENÇA BISPO  
Data: 30/03/2023 11:38:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof. Dra. Safira Valença Bispo  
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE)

Documento assinado digitalmente  
 EVARISTO JORGE OLIVEIRA DE SOUZA  
Data: 04/04/2023 05:17:33-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Documento assinado digitalmente  
 JOAO PAULO ISMERIO DOS SANTOS MONN  
Data: 30/03/2023 11:23:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. João Paulo Ismerio dos Santos Monnerat  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

*À minha família, meu alicerce e exemplo*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus por ter traçado minha caminhada na Zootecnia segundo tudo que almejei e me mantido perseverante nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Cosma e Lucinaldo, por sempre terem apoiado minhas escolhas de diferentes maneiras e acreditado que eu poderia concretizar quaisquer planos.

À Erick Magalhães, por ter sido meu parceiro incondicional, amor e amigo ao longo deste período; e minha Delinha e Cunha (Claudelle Magalhães e Cynthia Magalhães), por sempre terem me acolhido de forma amorosa e me trazerem o sentimento de casa.

Às minhas primas Lidiane e Luana, dois dos meus maiores exemplos de carácter, sabedoria e bom coração. Obrigada pelas palavras certas e reconfortantes em meio à aflição e ansiedade.

Aos meus parceiros de lockdown, Erick e Emília. Serei eternamente grata por terem permanecido ao meu lado durante os meses mais críticos de experimento e terem sido as melhores companhias para o pão assado e café com leite de final de tarde.

Aos tratadores e demais funcionários do IPA Arcoverde, em especial Seu Lulu, por todo o trabalho árduo, amizade e ajuda ao longo do experimento.

À Beatriz Menezes e Daci Abreu, a quem agradeço por todo apoio, reciprocidade, e por se fazerem presentes ainda que a distância física nos separe.

À Marcela, com quem dividi apartamento nos anos iniciais de doutorado, pela amizade e generosidade durante e após a convivência; e Camylla (Camys), por ter sido minha roommate, amiga, psicóloga e enfermeira particular no final deste ciclo.

Ao meu orientador, Prof. Marcelo Ferreira, pela confiança em mim depositada para desenvolver este trabalho, pela paciência e compreensão e pelos ensinamentos transmitidos.

À Profa. Carolina Monteiro (UFAL) e ao Dr. Marco Gama (Embrapa) pelos esclarecimentos, disponibilidade e ajuda concedida durante a execução dos trabalhos de campo, laboratório e/ou confecção dos materiais de publicação.

Aos alunos e ex-alunos Jonas, Eduarda, Ana Clara, Felipe, Lucas, Joelson, por terem participado da execução do trabalho em diferentes ocasiões.

Aos amigos Marina e Fábio, pelas longas horas de análise laboratorial, além dos demais membros da Caverna do Dragão (Thays, João, Agni, Marcela, Gabi, Rodrigo, Gaby Melo e Salmo) pelos bons momentos compartilhados.

E àqueles que, juntamente com o Prof. Marcelo, me moldaram diretamente e marcaram minha trajetória profissional: Prof. Evaristo Jorge e Dr. Lawton Stewart.

**Muito obrigada!**

*Tudo o que fizerem, façam de todo o coração,  
como para o Senhor, e não para os homens.*

*(Colossenses 3:23)*



## GÉRMEN INTEGRAL DE MILHO EXTRA GORDO COMO ALTERNATIVA LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

**Resumo:** Fontes lipídicas alternativas vem sendo estudadas com o objetivo de melhorar o desempenho e perfil de ácidos graxos da gordura do leite de ruminantes. O germen de milho extra gordo (GIMEX) é apontado como ingrediente lipídico em potencial para melhorar o desempenho e manipular o perfil de ácidos graxos do leite de vacas leiteiras. No entanto, seus efeitos são dependentes do tipo de volumoso incluído na dieta. Objetivou-se, assim, avaliar os efeitos da substituição de milho por GIMEX em dietas contendo palma forrageira e bagaço de cana de açúcar sobre o desempenho, consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço de nitrogênio, composição do leite e perfil de ácidos graxos do leite de vacas mestiças. Hipotetizou-se que a substituição do milho por GIMEX em uma dieta basal contendo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar promova ganhos produtivos e enriquecimento do leite com CLA e outros ácidos graxos benéficos à saúde humana sem efeitos negativos sobre o consumo e digestão dos nutrientes e balanço de nitrogênio. O experimento foi realizado com 10 vacas multíparas da raça Girolando (5/8 Holandês x 3/8 Gir), com peso vivo inicial de  $500 \pm 66$  kg e período de lactação de  $90 \pm 15$  dias. As vacas foram pré-adaptadas às condições experimentais por 15 dias e posteriormente distribuídas em dois quadrados latinos  $5 \times 5$ . Cada período experimental foi composto por 21 dias (14 dias destinados à adaptação às dietas experimentais e 07 para coleta de dados e amostras), totalizando 105 dias de experimento. As dietas foram formuladas com palma Orelha de Elefante Mexicana, bagaço de cana-de-açúcar e concentrado, no qual o milho foi progressivamente substituído por GIMEX (0%, 25%, 50%, 75% e 100% de substituição). As seguintes variáveis foram analisadas: consumo e digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite, balanço de nitrogênio e perfil de ácidos graxos do leite. A ingestão de GIMEX elevou de modo quadrático a produção de leite e a síntese de gordura, lactose e sólidos totais do leite ( $P < 0,05$ ). Vacas alimentadas com GIMEX apresentaram aumento quadrático ( $P < 0,05$ ) do consumo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) e redução linear ( $P < 0,005$ ) do consumo de carboidratos não-fibrosos (CNF). Com exceção do extrato etéreo (EE) e CNF, a substituição do milho por GIMEX não alterou ( $P > 0,05$ ) a digestibilidade dos nutrientes. A adição de GIMEX às dietas reduziu linearmente a excreção de N-ureico no leite e a excreção de N via urina ( $P < 0,05$ ). Além disso, a substituição do milho por GIMEX reduziu, de modo linear ou quadrático, os teores (g/100g de AG totais) de AG saturados com  $\leq C16$ , AG de cadeia ímpar e ramificada, e de C18:3 n-3 (e demais AG n-3) na gordura do leite. Em contrapartida, houve aumento linear ou quadrático dos teores de AG de cadeia longa ( $\geq C18$ ), isômeros de C18:1 *cis/trans* (exceto C18:1 *cis*-11), isômeros de CLA (especialmente o CLA *cis*-9, *trans*-11), C18:2 n-6 e demais AG n-6. Em conjunto, estas mudanças resultaram em redução linear dos AG saturados, aumento dos AG mono e poli-insaturados e aumento linear das relações C18:1 *trans*/C18:0, C18:1 *trans*-11/C18:0 e n-6:n-3 na gordura do leite. Os índices de atividade da enzima SCD-1 foram reduzidos de modo linear ( $SCD_{14}$ ,  $SCD_{16}$  e  $SCD_{CLA}$ ) ou quadrático ( $SCD_{18}$ ) com o aumento do nível de GIMEX na dieta. Os resultados obtidos indicam que a substituição de milho por GIMEX (em até 63,5%) pode ser indicada como estratégia nutricional para melhorar a eficiência produtiva e o perfil de ácidos graxos da gordura do leite vacas mestiças alimentadas com palma forrageira. A utilização de bagaço de cana-de-açúcar na dieta basal contorna os efeitos do GIMEX associados com a depressão da gordura do leite.

**Palavras-chave:** ácidos graxos do leite, *Opuntia* sp., suplementação lipídica, semiárido.

## FULL-FAT CORN GERM AS AN ALTERNATIVE LIPID SOURCE FOR LACTATING COWS

**Abstract:** Alternative lipid sources have been studied to improve performance and the fatty acid profile of milk fat in ruminants. Full-fat corn germ (FFCG) is pointed out as a potential lipid ingredient to improve performance and manipulate the fatty acid profile of milk from dairy cows. However, its effects are dependent on forage sources included in the diet. Hence, the objective of this study was to evaluate the effects of replacing corn with FFCG in diets containing forage cactus and sugarcane bagasse on performance, nutrient intake and digestibility, nitrogen balance, milk composition, and milk fatty acid profile of crossbred cows. It was hypothesized that replacing corn with FFCG in a basal diet containing forage cactus and sugarcane bagasse would promote productivity gains and enrich milk with CLA and other health-beneficial fatty acids beneficial without negative effects on nutrient intake and digestion. The experiment involved 10 multiparous Girolando cows (5/8 Holstein x 3/8 Gir), with an initial live weight of  $500 \pm 66$  kg and lactation period of  $90 \pm 15$  days. The cows were pre-adapted to the experimental conditions for 15 days and then distributed in two 5 x 5 Latin Squares. Each experimental period was composed of 21 days (14 days for adaptation to the experimental diets and 07 for data and sample collection), totalizing 105 days of experiment. The diets were formulated with “Orelha de Elefante Mexicana” cladodes, sugarcane bagasse and concentrate, in which corn was progressively replaced with FFCG (0%, 25%, 50%, 75%, and 100% of substitution). The following variables were analyzed: nutrient intake and digestibility, milk production and composition, nitrogen balance, and milk fatty acid profile. Full-fat corn germ improved ( $P < 0.05$ ) milk production and synthesis of fat, lactose, and total solids in milk. Replacing corn with FFCG quadratically increased ( $P < 0.05$ ) the intake of dry matter, crude protein, and total digestible nutrients, and linearly reduced ( $P < 0.05$ ) the intake of total non-fiber carbohydrates (NFC). Except for ether extract and NFC, FFCG did not alter ( $P > 0.05$ ) nutrient digestibility. Adding FFCG to the diets reduced ( $P < 0.05$ ) excretion of urea-N in milk and N excretion via urine. Furthermore, the substitution of corn for FFCG reduced (linearly or quadratically) the concentration of  $\leq C16$  saturated fatty acids (FA, g/100 g of total FA), odd branched-chain FA, and C18:3 n-3 (as well as other n-3 FA) in milk fat. In contrast, there was a linear or quadratic increase in the proportion of long-chain fatty acids ( $\geq C18$ ), isomers of *cis/trans* C18:1 (except *cis*-11 C18:1), CLA isomers (especially *cis*-9, *trans*-11 CLA), C18:2 n-6 and other n-6 FA. These changes resulted in reduction in saturated FAs, an increase in mono- and polyunsaturated FAs (quadratic and linear effect, respectively), and a linear increase in the *trans* C18:1/C18:0, *trans*-11 C18:1/C18:0, and n-6:n-3 ratios. In addition, activity indices of the SCD-1 enzyme were reduced either linearly (SCD<sub>14</sub>, SCD<sub>16</sub>, and SCD<sub>CLA</sub>) or quadratically (SCD<sub>18</sub>) by increasing levels of FFCG in the diet. The results obtained indicate that substitution of corn by FFCG (up to 63.5%) can be a nutritional strategy to improve the production efficiency and fatty acid profile of milk fat from crossbred cows fed cactus cladodes. The use of sugarcane bagasse circumvents the deleterious effects of FFCG associated with milk fat depression.

**Keywords:** lipid supplementation, milk fatty acids, *Opuntia* sp., semi-arid.

# LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO I

---

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS) .....	31
<b>Tabela 2.</b> Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas mestiças submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmem integral de milho extra gordo (GIMEX).....	36
<b>Tabela 3.</b> Desempenho e composição do leite de vacas mestiças submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmem integral de milho extra gordo (GIMEX).....	37
<b>Tabela 4.</b> Balanço de nitrogênio de vacas mestiças submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmem integral de milho extra gordo (GIMEX).....	38

## CAPÍTULO II

---

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS) .....	53
<b>Tabela 2.</b> Produção e composição do leite de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho.....	57
<b>Tabela 3.</b> Perfil de ácidos graxos do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho .....	58
<b>Tabela 4.</b> Proporção de ácidos graxos C18 na gordura do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho .....	60
<b>Tabela 5.</b> Somatório dos principais grupos de ácidos graxos, relações entre ácidos graxos e índices de atividade da enzima estearoil-CoA dessaturase 1 (SCD-1) na gordura do leite de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho.....	61

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. Digestão e metabolismo de lipídeos em animais ruminantes .....	3
2.1.1. Metabolismo ruminal e absorção de lipídeos .....	3
2.1.2. Metabolismo de lipídeos na glândula mamária e perfil de ácidos graxos do leite .....	6
2.2. Suplementação lipídica para vacas leiteiras .....	7
2.3. Influência da composição da dieta basal sobre a suplementação com lipídeos insaturados.....	11
2.4. Fontes lipídicas alternativas – gérmen integral de milho extra gordo.....	14
3. Referências Bibliográficas .....	15
<b>CAPÍTULO I - Gérmen integral de milho extra gordo melhora o desempenho e qualidade do leite de vacas Girolando alimentadas com bagaço de cana-de-açúcar e palma forrageira</b> .....	22
1. Introdução .....	29
2. Material e Métodos .....	30
2.1. Animais e instalações .....	30
2.2. Delineamento e período experimental.....	30
2.3. Dietas experimentais .....	31
2.4. Amostragem e análise da composição do leite.....	32
2.5. Consumo de nutrientes.....	33
2.6. Digestibilidade de nutrientes.....	33
2.7. Análises químicas e estimativas .....	34
2.8. Balanço de nitrogênio .....	34
2.9. Análise estatística.....	35
3. Resultados e Discussão .....	35
4. Conclusão .....	41
5. Referências Bibliográficas .....	41
<b>CAPÍTULO II - Gérmen integral de milho extra gordo como alternativa lipídica para vacas leiteiras consumindo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de volumoso: produção e qualidade nutricional da gordura do leite</b> .....	46
1. Introdução .....	50
2. Material e Métodos .....	51
2.1. Animais e instalações .....	51
2.2. Delineamento e período experimental.....	51
2.3. Dietas experimentais .....	52
2.4. Coleta e análise da composição do leite.....	53
2.5. Perfil de ácidos graxos (AG) do leite e atividade enzimática.....	54
2.6. Análise estatística.....	55
3. Resultados e Discussão .....	55
5. Conclusão .....	67
6. Referências Bibliográficas .....	67

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O mercado brasileiro de leite e derivados tem passado por expressivas transformações nas últimas décadas. O aumento do consumo de leite UHT per capita entre os anos de 2008 e 2020 (de 102 para 173 litros/ano) foi acompanhado pelo impacto econômico da pandemia de Covid-19 sobre a produção e o poder de compra dos consumidores em 2021, levando os custos de produção de leite a patamares históricos e elevando o preço do leite repassado ao consumidor. Como consequência, o consumo de leite retornou aos níveis registrados em 2017 (167 litros/ano; EMBRAPA, 2022). Apesar da retração no consumo, a pandemia estimulou a preocupação com a ingestão de alimentos benéficos à saúde (TETRA PAK INDEX, 2020), evidenciando a demanda já existente em adquirir produtos mais saudáveis e, ao mesmo tempo, de elevada densidade nutricional e conveniência (SIQUEIRA, 2018).

O consumo de leite contribui significativamente para o atendimento das necessidades diárias de cálcio, magnésio, selênio, vitamina B2, vitamina B12 e vitamina B5, além de inúmeros outros minerais e vitaminas (WEAVER, 2013). Além disso, a gordura do leite contém diversos ácidos graxos que conferem ao leite e derivados características nutracêuticas. Alguns dos ácidos graxos mais importantes presentes na gordura do leite são o ácido oleico (C18:1 *cis*-9), ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 *n*-3), ácido rumênico (CLA *cis*-9, *trans*-11) e ácido butírico (C4:0; LOPES et al., 2015).

O CLA *cis*-9, *trans*-11, um ácido graxo produzido através da biohidrogenação ruminal e síntese endógena na glândula mamária, merece destaque por ser encontrado quase exclusivamente em produtos advindos de animais ruminantes e possuir propriedades anticarcinogênicas, antidiabetogênicas (diabetes do tipo 2), antiaterogênicas e imunomodulatórias segundo diferentes estudos (BENJAMIN; SPENER, 2009; KRATZ; BAARS; GUYENET, 2013; PALMQUIST, 2010; SHINGFIELD et al., 2008).

Diante das descobertas acerca dos benefícios destes compostos sobre a saúde humana, pesquisas no campo da nutrição de animais leiteiros têm sido direcionadas para modulação do perfil dos ácidos graxos do leite. Existe consenso, até o momento, de que a suplementação com ingredientes ricos em ácidos graxos insaturados é um dos meios mais práticos para melhorar a produção de leite e manipular a síntese e secreção da gordura do leite, promovendo aumento das proporções de ácidos graxos desejáveis na gordura do leite, especialmente CLA *cis*-9, *trans*-11.

No entanto, considerando apenas o fator dietético, inúmeros autores já demonstraram que o sucesso desta estratégia depende do nível de suplementação e fontes de volumosos incluídas na dieta.

De modo geral, animais alimentados com fontes de forragens frescas ou mantidos a pasto apresentam maior produção e maiores proporções de CLA *cis*-9, *trans*-11 no leite (CHILLIARD et al., 2007). Na região semiárida, a palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw) é um dos principais volumosos utilizados para suplementação de rebanhos leiteiros em virtude do seu alto valor nutritivo e adaptação superior às condições de clima semiárido (FERREIRA et al., 2009). Porém, as consequências da suplementação lipídica para vacas leiteiras alimentadas com palma eram desconhecidas até a publicação de Gama et al. (2021). A partir de um experimento realizado com vacas holandesas criadas no semiárido pernambucano e suplementadas com óleo de soja (como fonte de lipídeos poliinsaturados), estes autores sugeriram que a palma forrageira é capaz de modular a população microbiana do rúmen e inibir a etapa final de biohidrogenação ruminal, intensificando o fluxo de ácidos graxos insaturados promovido pela ingestão do óleo.

Embora ganhos produtivos e fisiológicos sejam conhecidos neste tipo de suplementação, a aquisição de ingredientes lipídicos amplamente disponíveis (como o óleo de soja) é economicamente inviável para maioria dos sistemas de produção praticados na região semiárida. Por outro lado, fontes lipídicas menos estudadas tem potencial para produzir benefícios semelhantes.

O gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX), um co-produto obtido pelo processamento do milho na indústria, contém perfil de ácidos graxos equivalente ao óleo de soja e preço competitivo frente ao milho, mas sua utilização ainda é pouco explorada para vacas leiteiras no Brasil. No entanto, a inclusão de GIMEX reduz drasticamente a ingestão de alimentos e a síntese de gordura do leite em vacas alimentadas com uma dieta basal comum a produtores de leite no semiárido (composta de palma forrageira, cana-de-açúcar e concentrado; NETTO et al., 2022), demonstrando a contribuição decisiva da dieta basal sobre os resultados obtidos com a suplementação lipídica.

O presente trabalho de tese foi conduzido para investigar os efeitos da substituição do milho pelo gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, a produção e composição do leite, o balanço de nitrogênio e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação alimentadas com dietas compostas de palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de volumoso. No capítulo I, são apresentados o consumo e a

digestibilidade dos nutrientes, a produção de leite, a produção de diferentes componentes do leite e o balanço de nitrogênio sob tais condições dietéticas. No capítulo II, são discutidos como a alimentação com GIMEX, palma e bagaço de cana altera o perfil de ácidos graxos do leite. Hipotetizou-se que a substituição da cana-de-açúcar pelo bagaço de cana na dieta basal contendo palma e níveis crescentes de GIMEX promova ganhos produtivos e enriquecimento do leite com CLA e outros ácidos graxos benéficos à saúde humana sem efeitos negativos sobre o consumo e digestão dos nutrientes.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Digestão e metabolismo de lipídeos em animais ruminantes**

#### 2.1.1. Metabolismo ruminal e absorção de lipídeos

A fração lipídica de ingredientes volumosos e concentrados utilizados na formulação de dietas para animais de produção contém porção significativa de ácidos graxos insaturados. Em grãos de oleaginosas e cereais, os ácidos graxos estão majoritariamente inseridos nas moléculas de triglicerídeos, enquanto em forragens compõem principalmente a estrutura de galactosil-diglicerídeos e fosfolipídeos (BIONAZ; VARGAS-BELLO-PÉREZ; BUSATO, 2020). Apesar disto, aproximadamente 67% dos ácidos graxos contidos no leite são saturados (JENSEN, 2002). Esta característica está ligada à digestão e metabolismo peculiares no trato digestivo de animais ruminantes, no qual as bactérias ruminais atuam sobre os lipídeos ingeridos modificando-os e disponibilizando-os ao animal hospedeiro com composição consideravelmente diferente daquela ingerida.

A modificação de lipídeos dietéticos por bactérias ruminais ocorre pelo fato de ácidos graxos insaturados inibirem o crescimento microbiano e interagirem com a membrana celular, alterando sua integridade (MAIA et al., 2010). Assim, as bactérias ruminais desenvolveram um mecanismo de defesa denominado biohidrogenação; neste processo, a cadeia de ácido graxo insaturada é sucessivamente transformada até a obtenção de um produto saturado, menos tóxico às células (LOCK; BAUMAN, 2004; MAIA et al., 2010).

O requisito primário para que a biohidrogenação ocorra é a disponibilidade de grupos carboxilas (-COOH) em sua forma livre, o que exige que os ácidos graxos sejam inicialmente removidos das moléculas da qual fazem parte. Este processo, chamado de lipólise, consiste na hidrólise dos lipídeos por meio da atividade de lipases microbianas e lipases presentes em materiais frescos (BIONAZ et al., 2020) e realizada por bactérias específicas. A lipólise ruminal de galactolipídeos e fosfolipídeos é principalmente realizada por bactérias do gênero *Butyrivibrio* spp., resultando em ácidos graxos, galactose e glicerol. A maior dos triglicerídeos, por sua vez, é hidrolisada pela espécie *Anaerovibrio lipolytica*, liberando glicerol e ácidos graxos (JENKINS, 1993). Após a lipólise, os ácidos graxos insaturados são então captados e submetidos à biohidrogenação.

De modo geral, a biohidrogenação consiste em reações de isomerização e redução (saturação) da cadeia carbônica. Uma das vias de biohidrogenação mais amplamente descritas é do ácido linoleico (C18:2 n-6 ou C18:2 *cis*-9, *cis*-12), constituinte considerável da fração lipídica de triglicerídeos de sementes e óleos vegetais. Na primeira etapa da via, a isomerase microbiana converte a ligação dupla *cis*-12 em *trans*-11, produzindo o ácido linoleico conjugado (CLA) C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (CLA *cis*-9, *trans*-11 ou ácido rumênico). Este composto é rapidamente reduzido, levando à formação de C18:1 *trans*-11, o principal intermediário C18 *trans* da via. Na sequência, a cadeia é novamente reduzida e a ligação *trans* remanescente eliminada, produzindo C18:0 (ácido esteárico), o qual é finalmente liberado no rúmen (BAUMAN; GRIINARI, 2003; HARVATINE; BOISCLAIR; BAUMAN, 2009).

As vias empregadas para biohidrogenação de ácidos graxos insaturados dependem das bactérias envolvidas no processo e das condições do ambiente ruminal. Kemp e Lander (1984) dividiram bactérias envolvidas na biohidrogenação em dois grupos a partir do substrato biohidrogenado e o produto final: o grupo A agrupa espécies capazes de hidrogenar C18:2 n-6 e ácido linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ou C18:3 n-3) até a obtenção de C18:1 *trans*-11, tais como a espécie celulolítica *Butyrivibrio fibrisolvens*; bactérias do grupo B (formado, entre outras, por espécies do gênero *Fusocillus* sp.) hidrogenam ácidos graxos C18:1 *trans* a C18:0. Sem a presença do grupo B, portanto, a completa biohidrogenação de ácidos graxos poli-insaturados não seria possível.

A biohidrogenação e o grau de toxicidade dos ácidos graxos insaturados são proporcionais ao grau de insaturação da cadeia; assim, a biohidrogenação e toxicidade de C18:3 n-3 > C18:2 n-6 >



C18:1 *cis*-9, e C18:3 é quase completamente hidrogenado a C18:0 (MAIA et al., 2010). Duckett, Andrae e Owens (2002) encontraram médias de biohidrogenação dos ácidos C18:3 n-3, C18:2 n-6 e C18:1 *cis*-9 de 91%, 80% e 70%, respectivamente. No entanto, elevadas concentrações de C18:2 n-6 no meio favorecem a biodrogenação incompleta, promovendo acúmulo de C18:2 n-6 e intermediários da biohidrogenação no rúmen e escape destes para o duodeno (BEAM et al., 2000; DUCKETT; ANDRAE; OWENS, 2002; HONKANEN et al., 2012).

Ainda que não utilizem ácidos graxos como fonte de energia, os microrganismos ruminais sintetizam e captam ácidos graxos dietéticos pré-formados para incorporação às suas membranas (PALMQUIST; MATTOS, 2009). A biossíntese ruminal de ácidos graxos resulta em ácidos graxos saturados de cadeia ímpar (C13:0, C15:0, C17:0) e cadeia ramificada (C13:0 *iso* – C18:0 *iso*, C13:0 *anteiso*, C15:0 *anteiso*, C17:0 *anteiso*). Os ácidos graxos de cadeia ímpar são sintetizados a partir do alongamento do propionato e valerato produzidos durante a fermentação de carboidratos, enquanto os ácidos graxos de cadeia ramificada são formados a partir de ácidos graxos de cadeia curta ramificados (isobutirato, isovalerato e 2-metilbutirato) ou aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina; VLAEMINCK et al., 2006).

Em virtude da digestão pré-intestinal via lipólise e biohidrogenação, o perfil lipídico da digesta que alcança a porção intestinal do trato digestivo de ruminantes é composto, principalmente, por ácidos graxos saturados não-esterificados (AGNE) - de origem dietética ou microbiana - e fosfolipídeos microbianos, adsorvidos às partículas de alimento. Além desta peculiaridade, o elevado e constante fluxo da digesta dificulta a neutralização do conteúdo proveniente do abomaso, fazendo com que o pH duodenal permaneça baixo (pH 3,0). Estes fatores conferem uma atividade mais baixa da lipase pancreática na porção duodenal do intestino de ruminantes, a qual atua em pH neutro hidrolisando as moléculas de triglicerídeo e liberando ácidos graxos e 2-monoacilglicerol (BIONAZ et al., 2020; PALMQUIST; MATTOS, 2009).

Assim, lipídeos biliares (ácido taurocólico e lecitina) e a enzima pancreática fosfolipase A2 tem papel importante na digestão e absorção de lipídeos em ruminantes: o ácido taurocólico atua como detergente para solubilizar os AGNE aderidos às superfícies das partículas alimentares; na sequência, a lecitina é hidrolisada pela enzima fosfolipase A2 em 1-ácil-lisolecitina e ácido oleico, os quais emulsificam os ácidos graxos e possibilitam sua incorporação em micelas (PALMQUIST; MATTOS, 2009). A formação de micelas permite que os ácidos graxos ultrapassem a barreira de

água estacionária adjacente às microvilosidades intestinais e sejam absorvidos pelas células da mucosa (BIONAZ et al., 2020).

Os ácidos graxos absorvidos são reesterificados a triglicerídeos, fosfolípidos e ésteres de colesterol e preparados para transporte através da aglomeração com apoproteínas específicas, formando quilomícrons e proteínas de muito baixa densidade (VLDL). Estas lipoproteínas são então lançadas no sistema linfático e desembocam na corrente sanguínea, transportando os lipídeos absorvidos até os tecidos periféricos (PALMQUIST; MATTOS, 2009).

#### 2.1.2. Metabolismo de lipídeos na glândula mamária e perfil de ácidos graxos do leite

Os triglicerídeos representam 98% dos lipídeos presentes na gordura do leite bovino. Os principais ácidos graxos secretados no leite são ácidos graxos saturados com cadeias de quatro a dezoito carbonos (C4:0 a C18:0), C16:1 *cis*-9 (ácido palmitoleico), C18:1 *cis*-9 (incluindo cerca de 3% de isômeros C18:1 *trans*), C18:2 n-6, C18:3 n-3 (JENSEN, 2002) e ácidos graxos de cadeia ímpar e cadeia ramificada produzidos pelas bactérias ruminais, conferindo à gordura do leite um perfil de ácidos graxos único (FIEVEZ et al., 2012).

Os diferentes ácidos graxos secretados no leite tem origens distintas: 1) ácidos graxos de cadeia curta a média (C4:0 a C14:0) e parte do C16:0 são sintetizados de forma endógena (síntese de novo) na glândula mamária; 2) ácidos graxos de cadeia longa ( $\geq$ C18), cerca de 50% do C16:0 e uma quantidade muito baixa de C14:0 são captados diretamente da circulação sanguínea na forma de AGNEs que circulam ligados à albumina, ou após a liberação dos triglicerídeos das moléculas de quilomícron e VLDL por ação da lipoproteína lipase (LPL; BERNARD; LEROUX; CHILLIARD, 2013). Isto significa que parte dos ácidos graxos C16 e todos os ácidos graxos  $\geq$ C18 são de origem dietética ou disponibilizados à glândula mamária a partir da mobilização de reservas corporais (HARVATINE et al., 2009).

A síntese endógena de ácidos graxos (síntese *de novo*) utiliza o acetato e  $\beta$ -hidroxiacetato produzidos na fermentação ruminal como substratos para a formação da cadeia carbônica. As principais enzimas envolvidas na síntese *de novo* são acetil-CoA carboxilase (ACC) e ácido graxo sintase (fatty acid synthase, FAS). A ACC catalisa a conversão do acetato e acetato em malonil-CoA, enquanto a FAS catalisa etapas sucessivas de condensação do malonil-CoA em C14:0 e, principalmente, C16:0, produzindo cadeias C4:0 a C16:0 (LOCK; BAUMAN, 2004).

A glândula mamária de animais ruminantes não é capaz de alongar o C16:0 a C18:0 (CHILLIARD et al., 2000), mas apresenta uma alta atividade da enzima delta-9-dessaturase (ou estearoil-CoA dessaturase, SCD-1). A SCD-1 introduz uma ligação dupla ligação *cis* entre os carbonos 9 e 10 das cadeias de diversos ácidos graxos saturados, principalmente C14 a C19. O C18:0 é o substrato preferencial da SCD-1, cuja dessaturação resulta na síntese endógena de C18:1 *cis*-9, o principal ácido graxo secretado nas moléculas de TAG do leite (BERNARD; LEROUX; CHILLIARD, 2013).

A dessaturação das cadeias de ácidos graxos por meio da SCD-1 é determinante para o ponto de fusão de triglicerídeos e garante, conseqüentemente, a fluidez da gordura do leite (GAMA et al., 2008). Gama et al. (2008) detectaram que o ponto de fusão da gordura do leite tem correlação fortemente negativa com a proporção de inúmeros ácidos graxos *cis* e *trans* do leite, com valores de *r* variando entre -0,64 (C18:2 *trans*-7, *cis*-9) e -0,92 (C18:1 *cis*-9 e C18:2 n-6). Além disso, a atividade da SCD mamária contribui com 60% do C18:1 *cis*-9, 50-56% do C16:1 *cis*-9, 90% do C14:1 *cis*-9 (ácido mistiroleico) e mais de 60% do CLA *cis*-9, *trans*-11 presentes no leite através da dessaturação de seus precursores (C18:0, C16:0, C14:0 e C18:1 *trans*-11, respectivamente), os quais tem papel importante na qualidade nutricional da gordura do leite (BERNARD; LEROUX; CHILLIARD, 2013).

## 2.2. Suplementação lipídica para vacas leiteiras

A alta exigência de energia líquida para produção de leite implica no fornecimento de dietas com alta densidade energética. No entanto, a ingestão de quantidades elevadas de carboidratos solúveis estimula o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico no rúmen (tais como *Streptococcus bovis* e lactobacilos), o que pode acarretar distúrbios como deslocamento de abomaso, acidose ruminal e laminite (NRC, 2001). Compostos lipídicos, por outro lado, não são oxidados nem degradados de maneira significativa pelos microorganismos ruminais (PALMQUIST; MATTOS, 2009).

As principais vantagens da suplementação lipídica para vacas leiteiras incluem: aumento da densidade energética da dieta sem alteração da relação volumoso:concentrado (BERNARD et al., 2021); manutenção dos níveis de produção e mitigação do estresse término pelo calor (KNAPP; GRUMMER, 1991; WANG et al., 2010); alívio do balanço energético negativo na fase inicial de lactação e prevenção do acúmulo excessivo de gordura corporal na fase final de lactação

(CALDARI-TORRES et al., 2011; PALMQUIST; JENKINS, 2017); e redução da emissão de metano através da manipulação da microbiota ruminal (MARTIN; MORGAVI; DOREAU, 2010).

A partir da década de 50 surgiu o interesse na suplementação de vacas leiteiras com fontes de lipídeos protegidos visando à modificação do perfil de ácidos graxos do leite para redução do teor de ácidos graxos saturados em produtos lácteos. Esta tendência foi impulsionada pelo pressuposto de que o consumo de gorduras saturadas aumentaria o risco de doenças cardiovasculares em humanos, estimulando a demanda por produtos com baixo teor de gordura e alimentos funcionais (PALMQUIST; JENKINS, 2017).

Nos dias atuais, as fontes lipídicas mais estudadas para suplementação de animais leiteiros são óleos vegetais e sementes oleaginosas, óleos marinhos, gordura animal e fontes de gordura protegida (RABIEE et al., 2012). Fontes lipídicas altamente saturadas, como óleo de dendê, óleo de côco e sebo, e fontes de gordura insaturada protegida são principalmente fornecidas com o objetivo de aumentar a densidade energética da dieta gerando efeitos adversos mínimos sobre a função ruminal (MOSLEY et al., 2007).

De fato, a suplementação com C14:0, C16:0 ou C18:0 foi capaz de manter ou elevar a produção de leite e/ou o teor de gordura do leite sem interferir no consumo de MS, no pH ruminal, ou na produção de ácidos graxos voláteis em diferentes estudos (FOUGÈRE; DELAVAUD; BERNARD, 2018; HRISTOV et al., 2011; PIANTONI; LOCK; ALLEN, 2015). A suplementação com ácido láurico (C12:0), especificamente, parece se opor a essa tendência, devido a sua capacidade de suprimir fortemente a população de protozoários do rúmen (FACIOLA; BRODERICK, 2014).

Embora tenham pouca interferência sobre a função ruminal, ácidos graxos saturados também tornam a gordura do leite mais saturada. Em um estudo comparando a suplementação de ácido C16:0, óleo de canola (fonte de C18:1 *cis*-9) ou dietas sem adição de óleo para vacas leiteiras, Bernard et al. (2021), verificaram que a suplementação com C16:0 aumentou a proporção de ácidos graxos saturados totais e ácidos C16 no leite, além de reduzir a proporção de ácidos graxos de cadeia longa (>C16). No entanto, Mosley et al. (2007) ressaltam que esta estratégia pode ser benéfica para demandas comerciais específicas, como a indústria de panificação, que utiliza preferencialmente manteiga mais sólida (com perfil lipídico mais saturado) para fabricação de produtos.

Diferentemente de fontes lipídicas com perfil de ácidos graxos saturados, a suplementação com óleos ou sementes vegetais insaturadas e óleos marinhos (óleo de peixe, algas marinhas e óleos provenientes de mamíferos marinhos), aumenta a produção de leite, reduz a produção de metano e melhora a qualidade nutricional da gordura do leite e (BAYAT et al., 2018; CHILLIARD et al., 2007).

O aumento nos níveis de produção promovidos por esse tipo de suplementação pode ser acompanhado ou não por redução no consumo de matéria seca e teores de proteína e gordura do leite de vacas leiteiras. Tais respostas podem variar em função do comprimento de cadeia e grau de insaturação da fonte ingerida (BAI et al., 2017), proteção da matriz lipídica (BARLETTA et al., 2016), sistema de alimentação (pasto *versus* confinamento; ABUGHAZALEH; FELTON; IBRAHIM, 2007), nível de produção (DE SOUZA; ST-PIERRE; LOCK, 2019) e composição da dieta basal (GRIINARI et al., 1998; RAZZAGHI et al., 2022).

Patra (2013) reportou redução de 13,4 g de CH<sub>4</sub> por dia para cada 1% de aumento na inclusão de diferentes tipos de lipídeos na dieta. A redução da produção de metano observada em animais suplementados com fontes de ácidos graxos de cadeia curta e média e C18 insaturados é explicada pelo seu efeito deletério sobre bactérias celulolíticas, protozoários e *archaea* metanogênicas (MARTIN; MORGAVI; DOREAU, 2010). A modificação da microbiota ruminal se reflete na transferência de proporções variadas de ácidos graxos de cadeia ímpar e/ou ramificada para o leite, pois bactérias celulolíticas sintetizam, principalmente, ácidos graxos com ramificações do tipo *iso*, enquanto bactérias amilolíticas sintetizam mais ácidos graxos *anteiso* e cadeias lineares com número ímpar de carbonos (FIEVEZ et al., 2012). Adicionalmente, a suplementação estimula a incorporação de ácidos graxos pré-formados nas células microbianas (BAUMANN et al., 2016).

A melhoria da qualidade nutricional da gordura do leite se dá pela diminuição da síntese endógena de ácidos graxos (<C18) na glândula mamária, resultando em aumento nas proporções de ácidos graxos mono- e poli-insaturados na gordura do leite e uma vasta gama de intermediários da biohidrogenação ruminal que podem variar de acordo com a fonte lipídica ingerida (BAYAT et al., 2018; BERNARD et al., 2021; JACOBS et al., 2011). De modo geral, a redução da síntese *de novo* em vacas leiteiras suplementadas com fontes lipídicas insaturadas é mediada pela disponibilidade de ácidos graxos pré-formados e a síntese ruminal de ácidos graxos *trans* com efeito antilipogênico (DEWANCKELE et al., 2020; ENJALBERT et al., 1998).

O aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos insaturados de cadeia longa aumenta a atividade da LPL e extração destas frações das moléculas de triglicerídeo, reduzindo a síntese de ácidos graxos  $\leq$ C16 e elevando as proporções de  $\geq$ C18 no leite (ENJALBERT et al., 1998; DOREA; ARMENTANO, 2017; GLASSER et al., 2008). Concomitantemente, o maior consumo de ácidos graxos poli-insaturados induz mudanças no padrão de biohidrogenação ruminal para a via de formação de C18:1 *trans*-10 e CLA *trans*-10, *cis*-12 (TORAL et al., 2015). Ambos os isômeros são capazes de reduzir a expressão de gênica e/ou atividade enzimática de enzimas-chave para a síntese de gordura do leite (HUSSEIN et al., 2013).

Em um experimento realizado para investigar os efeitos da infusão de 12,5 g/dia de CLA *trans*-10, *cis*-12 em vacas leiteiras, Harvatine, Boisclair e Bauman (2018) observaram decréscimo de 40% no teor de gordura do leite e na expressão dos genes codificadores das enzimas FAS e LPL 30 horas após o início da infusão com CLA. Outros autores (PETERSON; BAUMGARD; BAUMAN, 2002; VISWANADHA et al., 2003) verificaram que doses muito mais baixas de CLA *trans*-10, *cis*-12 (1,25 a 6,0 g/dia) também são capazes de suprimir a lipogênese mamária, demonstrando que este isômero é um potente inibidor da síntese de gordura do leite.

As alterações supracitadas (maiores proporções de C18:1 *trans*-10, CLA *trans*-10, *cis*-12, redução da síntese de ácidos graxos no leite  $\leq$ C16 e da secreção de gordura no leite) costumam caracterizar o quadro típico de uma síndrome conhecida como DGL (síndrome de depressão da gordura do leite). Em vacas leiteiras, a DGL é caracterizada pela redução do teor e produção de gordura do leite sem mudanças aparentes na produção ou outros componentes no leite (DEWANCKELE et al., 2020). Consequentemente, a redução da síntese de gordura do leite é uma das maiores preocupações em vacas suplementadas com lipídeos insaturados.

Óleos marinhos vem sendo utilizados com o objetivo de enriquecer o leite com PUFA n-3, como EPA (ácido eicosapentaenóico, C20:5  $\omega$ -3) e DHA (ácido docosahexaenóico, 22:6  $\omega$ -3; DEWANCKELE et al., 2020). No entanto, estas fontes apresentam alto potencial para induzir a DGL em vacas leiteiras (DONOVAN et al., 2000; FOUGÈRE et al., 2018). Em vacas suplementadas com 0 a 300 g/dia de óleo de peixe (KAIRENIUS et al., 2015), houve aumento linear nas proporções de CLA totais, C20:5 n-3 e C22:6 n-3 e no teor de C18:1 *trans*-10 no leite. A concentração de C18:1 *trans*-10 no leite subiu de 0,34 (dieta com 0,0 g de óleo de peixe por dia) para 4,20 g/100 g AG (300 g de óleo de peixe/dia), reduzindo de 4,12% para 2,88% o teor de gordura do leite. Não foram observadas alterações significativas da produção ou concentração de

proteína e lactose do leite. Fougère et al. (2018) encontraram um padrão semelhante de resposta em vacas leiteiras suplementadas com algas marinhas.

Diferentemente do que ocorre com outras fontes lipídicas insaturadas, a depressão na síntese de gordura do leite e redução das proporções de ácidos graxos <C16 do leite relatada com a suplementação de óleos marinhos não foi associada ao aumento da concentração de CLA *trans*-10, *cis*-12 no leite, indicando que outros mecanismos desempenham papel importante na inibição da síntese de gordura do leite em vacas suplementadas com lipídeos marinhos (KAIRENIUS et al., 2015). Looor et al. (2005) sugeriram que a DGL induzida por óleos marinhos é causada por inibição da síntese de C18:0 no rúmen e aumento da formação de intermediários C18:1 *trans*, os quais possuem um ponto de fusão mais elevado que seus equivalentes *cis*. Tais mudanças impõem déficit de substrato para a síntese endógena de C18:1 *cis*-9 e limitam a capacidade da glândula mamária em manter fluidez adequada na gordura do leite. Contudo, esta hipótese ainda permanece sob o foco de pesquisas.

### **2.3. Influência da composição da dieta basal sobre a suplementação com lipídeos insaturados**

Segundo o NRC (2001), a gordura é o componente do leite mais afetado por alterações na composição da dieta; deste modo, a formulação da dieta e a escolha dos ingredientes são fatores chave para manutenção de níveis apropriados de gordura no leite.

Diversos estudos (BENCHAAR et al., 2015; LESKINEN et al., 2019; RAZZAGHI et al., 2022; VAZIRIGOHAR et al., 2014) indicam que a fonte de fibra e a relação volumoso:concentrado podem exercer influência sobre a produção e composição do leite em vacas leiteiras suplementadas com lipídeos. A ingestão de altos níveis de concentrado torna o ambiente ruminal acidótico (pH abaixo de 6,0), promove acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) e modifica o padrão de biohidrogenação para vias de formação de C18:1 *trans*-10.

Este fato foi claramente demonstrado por Razzaghi et al. (2021) em um estudo utilizando dietas com alto nível de amido (341 g/kg MS) e agentes tamponantes para vacas leiteiras. A dieta controle (sem adição de tamponantes) resultou em maior tempo com pH ruminal abaixo de 5,8 (12,5 horas/dia), menor relação acetato propionato (1,95) e maior relação C18:1 *trans*-10/C18:1 *trans*-11 (1,60) em comparação às dietas contendo tamponantes, as quais produziram valores consideravelmente mais baixos (pH < 5,8 por 5,8 horas/dia, relação acetato:propionato de 2,34 e relação C18:1 *trans*-10/C18:1 *trans*-11 de 0,57).

Posteriormente, Razzaghi et al. (2022) investigaram os efeitos da suplementação de óleo de canola para vacas leiteiras alimentadas com silagem de gramíneas em dietas formuladas com baixa ou alta relação volumoso: concentrado (relação silagem:concentrado de 35:65 ou 65:35, respectivamente). Os autores verificaram que a dieta 35:65 elevou a produção do leite, proteína e lactose do leite, sendo este efeito ainda mais pronunciado com a suplementação de óleo. No entanto, a suplementação com óleo reduziu o teor de gordura do leite em 15% e elevou a proporção de C18:1 *trans*-10 e CLA *trans*-10, *cis*-12 em 89% e 80% no leite de vacas alimentadas com alto nível de concentrado, mas não teve efeito significativo em dietas com alto nível de forragem.

Os resultados descritos evidenciam que alterações do padrão de fermentação ruminal e perfil de ácidos graxos do leite em vacas recebendo dietas ricas em concentrado são particularmente intensificadas pela ingestão de fontes lipídicas insaturadas. Chilliard et al. (2007) destacam que níveis de concentrado acima de 60% induzem DGL em vacas suplementadas com ácidos graxos poliinsaturados.

Modificações da composição e perfil de ácidos graxos da gordura do leite também podem ser desencadeados pela ingestão de volumosos ricos em carboidratos não-fibrosos, ainda que a relação volumoso:concentrado da dieta seja elevada (CHILLIARD et al., 2007). Por exemplo, Benchaar et al. (2015) verificaram que a suplementação com óleo de linhaça para vacas alimentadas com 60% de silagem de milho (% MS da dieta) reduziu a concentração total de AGVs, a proporção molar de acetato, a população de protozoários do rúmen, a digestibilidade da fibra, o consumo de MS e o teor de gordura do leite; no entanto, o óleo de linhaça não produziu diferenças significativas em dietas à base de silagem de leguminosas.

Embora estes autores não tenham avaliado o perfil de ácidos graxos do leite, outros trabalhos (CHILLIARD et al., 2007; KLIEM et al., 2008; FERLAY; CHILLIARD, 2020) encontraram maiores concentrações de C18:1 *trans*-10 e outros isômeros *trans* no leite de vacas alimentadas com dietas à silagem de milho em comparação a silagens/feno de gramíneas ou leguminosas, independentemente da suplementação lipídica, evidenciando que o maior conteúdo de carboidratos solúveis na silagem de milho altera o padrão de fermentação ruminal e favorece a biohidrogenação incompleta de ácidos graxos e síntese de isômeros com efeito antilipogênico.

Recentemente, Gama et al. (2021) observaram que a substituição parcial de silagem de sorgo por palma forrageira (*Opuntia stricta* Haw. Haw) para vacas suplementadas com 2,7% óleo de soja (%MS da dieta) promove a biohidrogenação incompleta de ácidos graxos provenientes do



óleo e reduz a secreção de C18:0 no leite (-4,0 g de C18:0/100 g de AG totais), especialmente quando a palma, a silagem e o óleo são fornecidos na forma de dieta parcial (-5,2 g de C18:0/100 g de AG totais).

Curiosamente, Oliveira et al. (2007) também verificaram que o teor de C18:0 no leite reduziu linearmente (de 13,7 para 6,3 g/100 g de AG totais) à medida em que a palma (*Opuntia ficus indica* Mill) substituiu feno-de-tifton e milho moído em dietas de vacas em lactação sem adição de lipídeos. Estes resultados sugerem que a palma forrageira altera a biohidrogenação ruminal e reduz a proporção de C18:0 no leite, de modo semelhante àquele observado pela ingestão de lipídeos marinhos ou compostos fenólicos. Vasta et al. (2010) demonstraram que a inclusão de taninos na dieta (6,4%MS total) reduz a conversão de C18:1 em C18:0 e a abundância de *Butyrivibrio proteoclasticus* no rúmen, espécie atuante na última etapa da biohidrogenação.

Como salientado nestes estudos, Gama et al. (2021) sugeriram que os compostos fenólicos presentes na palma forrageira modificam a população microbiana do rúmen e inibem a atividade de bactérias responsáveis pela última etapa da biohidrogenação ruminal (conversão de C18:1 *trans*-11 em C18:0). No entanto, ainda é escasso o número de trabalhos que esclareçam os efeitos da associação entre a palma forrageira e a suplementação lipídica em vacas leiteiras.

Até o momento, resultados publicados por Gama et al. (2021) e Netto et al. (2022) indicam que a habilidade da palma em inibir a última etapa da biohidrogenação intensifica o fluxo de C18:2 n-6, C18:1 *trans*-11, CLA *cis*-9, *trans*-11 e outros ácidos graxos desejáveis para o duodeno, elevando a proporção de ácidos graxos insaturados e reduzindo o conteúdo de ácidos graxos saturados no leite. No entanto, a composição da dieta basal e o nível de suplementação lipídica produziram diferenças marcantes entre estes experimentos no que diz respeito ao consumo de nutrientes e composição do leite.

Gama et al. (2021) verificaram que a palma pode ser utilizada para substituição parcial da silagem de sorgo por palma para vacas suplementadas com óleo de soja (rico em C18:2 n-6) sem interferir na síntese de gordura do leite e beneficiando o consumo de MS. Contrariamente, Netto et al. (2022) observaram redução linear do consumo de MS e do teor de gordura do leite em vacas leiteiras recebendo dietas à base de palma forrageira, cana de açúcar fresca e concentrado contendo gérmen de milho extra gordo, demonstrando as importantes interações entre dieta basal e fonte lipídica ingerida.

#### **2.4. Fontes lipídicas alternativas – gérmen integral de milho extra gordo**

O milho é composto por aproximadamente 72% de amido, 9,5% de proteína, 9% de fibra e 4% de óleo. Estas frações estão distribuídas nas quatro estruturas que compõem o grão: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta. O endosperma representa a maior parte do grão, sendo composto principalmente de amido (88%) e proteínas de reserva (8%). O gérmen concentra os lipídeos (83%), açúcares (70%) e minerais (78%), além de conter porção significativa das proteínas (26%). O pericarpo, que representa cerca de 5% do grão, é constituído principalmente de hemicelulose (67%) e celulose (23%). A ponta é a menor estrutura e é composta basicamente de material lignocelulósico (PAES, 2006).

Na indústria alimentícia, os grãos de milho são processados para dar origem a uma ampla gama de produtos para consumo humano e animal. Regitano-D'Arce, Spoto e Castellucci (2015) afirmam que o processamento dos grãos de milho pré-secos na indústria inclui duas etapas distintas de moagem: a moagem seca ou úmida. Na moagem seca, o grão é separado em gérmen, pericarpo e endosperma, originando como produtos principais a canjica, os flocos, o gritz e o fubá, e como subprodutos o gérmen integral de milho ou o óleo e o gérmen desengordurado. Na moagem úmida, existe uma etapa adicional de maceração dos grãos com uma solução de dióxido de enxofre que, além de propiciar a separação dos componentes do grão, permite maior extração do amido e da proteína. Neste tipo de moagem são produzidos o amido e o farelo de glúten de milho e gerados como subprodutos os compostos solúveis, as fibras alimentares e o gérmen integral de milho ou o óleo e o gérmen desengordurado.

Enquanto o gérmen extraído pela moagem seca contém entre 20 e 25% de EE, o gérmen de milho obtido através da moagem úmida possui de 40% a 50% (MOREAU; JOHNSTON; HICKS, 2005). Devido ao seu alto teor lipídico, o gérmen proveniente da moagem úmida é comumente apelidado de gérmen integral de milho “extra gordo” ou gérmen “extra gordo”.

Resultados provenientes de um experimento realizado no Kansas (EUA) indicaram que o gérmen integral de milho extra gordo (44% de extrato etéreo) pode ser utilizado como fonte efetiva de gordura em dietas à base de silagem de milho e feno de alfafa para vacas de alta produção (MILLER et al., 2009). Para os autores, o gérmen extra gordo pode ser utilizado para aumentar a densidade energética da dieta e melhorar a absorção de nutrientes solúveis em gordura, propiciando altos níveis de produção sem os efeitos negativos ocasionados pela alta inclusão de grãos na dieta. Corroborando esta afirmação, Galeano et al. (2022) verificaram que dietas contendo gérmen

integral de milho extra gordo aumentam o consumo de energia metabolizável e a produção de leite corrigida em cabras Saanen, principalmente quando o gérmen é associado à palma forrageira.

Sabe-se, contudo, que alta ingestão de fontes lipídicas insaturadas pode prejudicar a digestibilidade da fração fibrosa da dieta, limitando o consumo e o desempenho de animais ruminantes. A literatura existente reporta resultados divergentes acerca dos efeitos do consumo de gérmen extra gordo sobre a digestibilidade da fibra.

Nos experimentos supracitados, o nível máximo de gordura das dietas foi 7,4%, muito próximo ao limite de 7% tradicionalmente estabelecido para evitar prejuízos à fermentação ruminal (PALMQUIST; CONRAD, 1978). Não obstante, a substituição do milho por gérmen extra gordo reduziu a digestibilidade da fibra em cabras leiteiras (GALEANO et al., 2022), mas não alterou o consumo e a digestibilidade da MS ou da fibra em ovinos recebendo gérmen extra gordo com dietas contendo até 9,2% de EE (DA SILVA, 2020).

Os resultados relatados nestes experimentos sugerem que, apesar de o teor de gordura da dieta ter influência significativa sobre os efeitos do gérmen no consumo e desempenho de ruminantes, outros fatores dietéticos são determinantes para que se tenha êxito na substituição do milho por gérmen extra gordo (GALEANO et al., 2022). De fato, as primeiras recomendações para utilização de gérmen de milho extra gordo na dieta de vacas leiteiras criadas em condições brasileiras (NETTO et al., 2022) enfatizaram que a dieta basal utilizada (contendo níveis crescentes de gérmen extra gordo) não proporcionou condições ótimas para a fermentação ruminal e provocou DGL. No entanto, os autores concluíram que este co-produto tem potencial para substituir outras opções de PUFA a fim de aumentar o teor de ácidos graxos desejáveis no leite (como CLA *cis*-9, *trans*-11) desde que volumosos distintos da cana-de-açúcar sejam incluídos na dieta. Assim, mais estudos são necessários para elucidar os efeitos da composição da dieta e consumo de gérmen extra gordo em vacas leiteiras alimentadas com palma forrageira.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUGHAZALEH, A. A.; FELTON, D. O.; IBRAHIM, S. A. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4763–4769, 2007.

BAI, C. et al. Combined effects of oleic, linoleic and linolenic acids on lactation performance and the milk fatty acid profile in lactating dairy cows. **Animal**, v. 12, p. 983–989, 2017.

- BARLETTA, R. V. et al. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: Oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 111–121, 2016.
- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3864-3881, 1993.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.
- BAUMANN, E. et al. Effect of lipid supplementation on milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 6311–6323, 2016.
- BAYAT, A. R. et al. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 1136–1151, 2018.
- BEAM, T. M. et al. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2564–2573, 2000.
- BENCHAAR, C. et al. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7993–8008, 2015.
- BENJAMIN, S.; SPENER, F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, p. 36- 48, 2009.
- BERNARD, L.; LEROUX, C.; CHILLIARD, Y. Expression and nutritional regulation of stearoyl-CoA desaturase genes in the ruminant mammary gland: relationship with milk fatty acid composition. In: **Stearoyl-CoA Desaturase Genes in Lipid Metabolism**. New York: Springer Science+Business Media, 2013. p.161-193.
- BERNARD, L. et al. Effect of concentrate enriched with palmitic acid versus rapeseed oil on dairy performance, milk fatty acid composition, and mammary lipogenic gene expression in mid-lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 11621–11633, 2021.
- BIONAZ, M.; VARGAS-BELLO-PÉREZ, E.; BUSATO, S. Advances in fatty acids nutrition in dairy cows: from gut to cells and effects on performance. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, p. 1-36, 2020.
- CALDARI-TORRES, C. et al. Performance, metabolic, and endocrine responses of periparturient Holstein cows fed 3 sources of fat. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1500–1510, 2011.
- CHILLIARD, Y. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 181–205, 2000.
- CHILLIARD, Y. et al. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 828–855, 2007.
- DA SILVA, C. F. **Gérmes de milho integral extra gordo em substituição ao milho moído em dietas para ovinos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

DE SOUZA, J.; ST-PIERRE, N. L.; LOCK, A. R. Altering the ratio of dietary C16:0 and cis-9 C18:1 interacts with production level in dairy cows: Effects on production responses and energy partitioning. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 9842–9856, 2019.

DEWANCKELE, L. et al. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 7655–7681, 2020.

DONOVAN, D. C. et al. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2620–2628, 2000.

DOREA, J. R. R.; ARMENTANO, L. E. Effects of common dietary fatty acids on milk yield and concentrations of fat and fatty acids in dairy cattle. **Animal Production Science**, v. 57, p. 2224–2236, 2017.

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

EMBRAPA. **Anuário Leite 2022**. Embrapa Gado de Leite, 2022. 116p. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1144110/anuario-leite-2022-pecuaria-leiteira-de-precisao>. Acesso em: 20 jan. 2023.

ENJALBERT, F. et al. Duodenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows. **Nutrient Metabolism**, p. 1525–1532, 1998.

FACIOLA, A. P.; BRODERICK, G. A. Effects of feeding lauric acid or coconut oil on ruminal protozoa numbers, fermentation pattern, digestion, omasal nutrient flow, and milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 5088–5100, 2014.

FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Effect of linseed, sunflower, or fish oil added to hay-, or corn silage-based diets on milk fat yield and trans-C18:1 and conjugated linoleic fatty acid content in bovine milk fat. **Livestock Science**, v. 235, 104005, 2020.

FERREIRA, M.A. et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 322–329, 2009 (supl. especial).

FIEVEZ, V. et al. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, p. 51–65, 2012.

FOUGÈRE, H.; DELAVAL, C.; BERNARD, L. Diets supplemented with starch and corn oil, marine algae, or hydrogenated palm oil differentially modulate milk fat secretion and composition in cows and goats: A comparative study. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 8429–8445, 2018.

GALEANO, V. J. L. et al. Productive responses of dairy goats fed on diets containing elephant grass (*Pennisetum purpureum*) associated or not with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes, and extra-fat whole corn germ as a substitute for corn. **Small Ruminant Research**, v. 207, 106609, 2022.

GAMA, M.A.S. et al. Diet-induced milk fat depression: Association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. **Livestock Science**, v. 115, p. 319–331, 2008.

GAMA, M.A.S. et al. Partially replacing sorghum silage with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes in a soybean oil-supplemented diet markedly increases trans-11 18:1, cis-9, trans-11 CLA and 18:2 n-6 contents in cow milk. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, p. 232-246, 2021.

GLASSER, F. et al. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 2771–2785, 2008.

GRIINARI, J. M. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1251-1261, 1998.

HARVATINE, K. J.; BOISCLAIR, Y. R.; BAUMAN, D. E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, v. 1, p. 40–54, 2009.

HRISTOV, A. N. et al. Effects of lauric and myristic acids on ruminal fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 382–395, 2011.

HONKANEN, A. M. et al. Characterization of the disappearance and formation of biohydrogenation intermediates during incubations of linoleic acid with rumen fluid in vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 1376-1394, 2012.

HUSSEIN, M. et al. Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 3825–3834, 2013.

JACOBS, A. A. A. et al. Effects of feeding rapeseed oil, soybean oil, or linseed oil on stearoyl-CoA desaturase expression in the mammary gland of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 874–887, 2011.

KAIRENIUS, P. et al. Dietary fish oil supplements depress milk fat yield and alter milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 5653–5671, 2015.

KEMP, P.; LANDER, D. J. Hydrogenation in vitro of  $\alpha$ -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 130, p. 527-533, 1984.

KLIEM, K. E. et al. Effect of replacing grass silage with maize silage in the diet on bovine milk fatty acid composition. **Animal**, v. 2, p. 1850–1858, 2008.

KNAPP, D. M.; GRUMMER, R. R. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2573-2579, 1991.

KRATZ, M.; BAARS, T.; GUYENET, S. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. **European Journal of Nutrition**, v. 52, p. 1-24, 2013.

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

- JENSEN, R. G. Invited Review: The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 295–350, 2002.
- LESKINEN, H. et al. Temporal changes in milk fatty acid composition during diet-induced milk fat depression in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 5148–5160, 2019.
- LOCK, A. L.; BAUMAN, D. E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. **Lipids**, v. 39, n. 12, p. 1197–1206, 2004.
- LOOR, J. J. et al. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p. 227–246, 2005.
- LOPES, F. C. F. et al. Lácteos naturalmente enriquecidos com ácidos graxos benéficos à saúde. In: MARTINS, P. do C. et al. Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite: desafios e perspectivas. Brasília: Embrapa, 2015. p.237-309. Available from: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1022225/1/Cap13Lv2015SustentabilidadeLacteos.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2023.
- MAIA, M. R. G. et al. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. **BMC Microbiology**, v. 10, p. 1-10, 2010.
- MARTIN, C.; MORGAVI, D. P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, v. 4., p. 351–365, 2010.
- MILLER, W. F. et al. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3386–3391, 2009.
- MOREAU, R. A.; JOHNSTON, D. B.; HICKS, K. B. The influence of moisture content and cooking on the screw pressing and prepressing of corn oil from corn germ. **JAOCs**, v.82, n.11, p. 851–854, 2005.
- MOSLEY, S. A. et al. Effect of varying levels of fatty acids from palm oil on feed intake and milk production in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 987–993, 2007.
- NETTO, A. J. et al. Replacing corn with full-fat corn germ in a basal diet containing cactus (*Opuntia stricta*) cladodes and sugarcane as forage sources induces milk fat depression associated with the trans-10 shift in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 288, 115289, 2022.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington D.C.: National Academy Press, 2001.
- OLIVEIRA, V. S. et al. Substituição total do milho e parcial do feno do capim-tifton por palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Produção, composição do leite e custos com alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 928-935, 2007.
- PAES, M. C. D. Circular técnica 75: Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. Sete Lagoas: Embrapa, 2006.
- PALMQUIST, D. L.; CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows. Effects on feed Intake, milk and fat production, and plasma metabolites. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 7, p.890–901, 1978.

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

PALMQUIST, D. L. Great discoveries of milk for a healthy diet and a healthy life. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 465-477, 2010 (supl. especial).

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 10061–10077, 2017.

PATRA, A. K. The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A meta-analysis. **Livestock Science**, v. 155, p. 244–254, 2013.

PETERSON, D. G.; BAUMGARD, L. H.; BAUMAN, D. E. Short Communication: Milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1764–1766, 2002.

PIANTONI, P.; LOCK, A. L.; ALLEN, M. S. Milk production responses to dietary stearic acid vary by production level in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 1938–1949, 2015.

RABIEE, A.R. et al. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3225-3247, 2012.

RAZZAGHI, A. et al. Modulation of ruminal pH, milk fat secretion, and biohydrogenation intermediates by alkalizing agents in dairy cows fed starch-rich diets. **Livestock Science**, v. 248, 104485, 2021.

RAZZAGHI, A. et al. Energy utilization and milk fat responses to rapeseed oil when fed to lactating dairy cows receiving different dietary forage to concentrate ratio. **Animal Feed Science and Technology**, v. 293, 115454, p. 1-13, 2022.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F.; CASTELLUCCI, A. C. L. Processamento e industrialização do milho para alimentação humana. **Visão Agrícola**, n. 13, p. 138–140, 2015. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.>>.

SIQUEIRA, K. B. Leite e derivados: tendências de consumo. In: Anuário Leite 2018: indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. Embrapa Gado de Leite, 2018. p.58-61. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>. Acesso em: 20 jan. 2023.

SHINGFIELD, K. J. et al. *Trans* fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. In: BÖSZE, Z. **Bioactive Components of Milk** - Advances in Experimental Medicine and Biology. New York: Springer, 2008. p. 3-65.

TETRA PAK INDEX, 2020. **Covid-19 e o dilema entre segurança do alimento e o meio ambiente**. 13. ed. Tetra Pak, 2020. 49 p. Available from: <https://www.tetrapak.com/pt-br/insights/tetra-pak-index/tetra-pak-index-2020>. Acesso em: 20 jan. 2023.

TORAL, P.G. et al. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7277–7297, 2015.



- VASTA, V. et al. Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p. 2549–2555, 2010.
- VAZIRIGOHAR, M. et al. Fat source and dietary forage-to-concentrate ratio influences milk fatty-acid composition in lactating cows. **Animal**, v. 8, p. 163–174, 2014.
- VISWANADHA, S. et al. Dose response of milk fat to intravenous administration of the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3229–3236, 2003.
- VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, p. 389–417, 2006.
- WANG, J. P. et al. Effect of saturated fatty acid supplementation on production and metabolism indices in heat-stressed mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4121–4127, 2010.
- WEAVER, C. et al. Milk and dairy products as part of the diet. In: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. p.103-183. Available from: <https://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2023.

## **CAPÍTULO I**

---

**Gérmem integral de milho extra gordo melhora o desempenho e qualidade do leite de vacas Girolando alimentadas com bagaço de cana-de-açúcar e palma forrageira**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar os efeitos da substituição de milho por gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX) sobre a produção e composição do leite, consumo, digestibilidade dos nutrientes e balanço de nitrogênio de vacas mestiças. Hipotetizou-se que a substituição do milho por GIMEX em uma dieta basal contendo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar promova melhoria da produção de leite sem impactar negativamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio e a síntese de gordura do leite. Foram utilizadas 10 vacas multíparas da raça Girolando (5/8 Holandês x 3/8 Gir) com peso vivo inicial de  $500 \pm 66$  kg e período de lactação de  $90 \pm 15$  dias. As vacas foram adaptadas às condições de manejo, instalações e dieta basal por 15 dias. Ao final deste período, os animais foram distribuídos em dois quadrados latinos  $5 \times 5$  de acordo com a produção de leite. O experimento teve duração total de 105 dias divididos em cinco períodos de 21 dias (14 dias destinados à adaptação às dietas experimental e 07 para coleta de dados e amostras). As dietas foram formuladas com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM; *Opuntia stricta* [Haw] Haw.), bagaço de cana-de-açúcar e concentrado. Os tratamentos experimentais consistiram na substituição do milho por níveis crescentes de GIMEX (0%, 25%, 50%, 75% e 100%). A substituição do milho por GIMEX elevou de modo quadrático a produção de leite corrigida e a síntese de gordura, lactose e sólidos totais do leite ( $P < 0,05$ ). Vacas alimentadas com GIMEX apresentaram aumento quadrático ( $P < 0,05$ ) do consumo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) e redução linear ( $P < 0,05$ ) do consumo de carboidratos não-fibrosos (CNF). A ingestão de GIMEX promoveu aumento quadrático ( $P < 0,05$ ) da digestibilidade do extrato etéreo (EE) e redução linear ( $P < 0,05$ ) da digestibilidade do CNF, mas não alterou de forma significativa ( $P > 0,05$ ) a digestibilidade dos demais nutrientes. A substituição do milho por GIMEX reduziu linearmente ( $P < 0,05$ ) a excreção de N-ureico no leite e a excreção de N via urina ( $P < 0,05$ ). Com base nos resultados obtidos, recomenda-se substituir até 63,5% do milho por GIMEX em dietas compostas de palma forrageira e bagaço de cana a fim de melhorar a eficiência produtiva de vacas mestiças.

**Palavras-chave:** co-produto, *Opuntia* sp., suplementação lipídica, vacas Girolando.

**Abstract:** The effects of the substitution of corn for full-fat corn germ (FFCG) on milk production, milk composition, feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen balance in crossbred cows were assessed. The experiment was based on the hypothesis that replacing corn with GIMEX in a basal diet containing cactus cladodes and sugarcane bagasse improves milk production without negatively affecting nutrient intake and digestibility, nitrogen balance, and milk fat synthesis. The study involved ten multiparous Girolando cows (5/8 Holstein x 3/8 Gir) with an average body weight of  $500 \pm 66$  kg and  $90 \pm 15$  days in milk. Cows were adapted to management, facilities, and a basal diet for 15 days. The cows were assigned to one of two 5 x 5 Latin Squares based on milk production. The experiment lasted 105 days, divided into five 21-day periods (14 days used for adaptation to experimental diets and 07 days for data and sample collection). Diets were based on cactus cladodes (*Opuntia stricta* [Haw] Haw.), sugarcane bagasse, and concentrate. Dietary treatments comprised increasing levels of FFCG (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) replacing corn. Replacing corn with FFCG improved ( $P < 0.05$ ) adjusted milk production and synthesis of fat, lactose, and total solids in milk. Cows fed FFCG quadratically increased ( $P < 0.05$ ) the intake of dry matter, crude protein, and total digestible nutrients, and linearly reduced ( $P < 0.05$ ) the intake of total non-fiber carbohydrates (NFC). Except for ether extract and NFC, FFCG did not alter ( $P > 0.05$ ) nutrient digestibility. Adding FFCG to the diets reduced ( $P < 0.05$ ) the excretion of urea-N in milk and N excretion via urine. These results demonstrate that FFCG can replace up to 63,5% of corn in diets composed of cactus cladodes and sugarcane bagasse to enhance production efficiency in crossbred cows.

**Keywords:** co-product, *Opuntia* sp., lipid supplementation, Girolando cows.

## 1. INTRODUÇÃO

As principais estratégias para aumentar a densidade energética da dieta de vacas lactantes são o fornecimento de forragens de alta qualidade, maior inclusão de grãos e suplementação com fontes lipídicas (AVENDAÑO-REYES, 2012). No entanto, a alta ingestão de grãos estimula o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico no rúmen (tais como *Streptococcus bovis* e lactobacilos), o que pode acarretar deslocamento do abomaso, acidose ruminal e laminite (NRC, 2001). Compostos lipídicos, por outro lado, não são significativamente oxidados nem degradados por microorganismos ruminais (PALMQUIST; MATTOS, 2009).

O gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX), um coproduto do processamento dos grãos de milho, vem sendo apontado como fonte de energia promissora para vacas leiteiras de alta produção (MILLER et al., 2009). O GIMEX contém aproximadamente 50% de gordura e é composto principalmente de ácidos graxos insaturados (C18:2 n-6 e C18:1 *cis*-9; NETTO et al., 2022). Porém, fatores como quantidade fornecida e perfil de ácidos graxos do suplemento utilizado, genética do rebanho e composição da dieta basal interferem na resposta obtida com a suplementação lipídica (BERNARD et al., 2021; HASSANAT; BENCHAAAR, 2021; GALEANO et al., 2022; TORAL et al., 2016).

Diversos estudos conduzidos até o momento acerca da suplementação lipídica para vacas leiteiras apontam que fontes lipídicas podem comprometer a ingestão de matéria seca, a digestibilidade da fibra e a síntese de gordura do leite quando associadas a forragens com alta concentração de carboidratos solúveis. Em contraste, o fornecimento de feno e silagens de gramíneas parece minimizar ou anular tais efeitos (BAYAT et al. 2018; BENCHAAAR et al., 2015; HASSANAT; BENCHAAAR, 2021; RODRIGUES et al., 2017).

A palma forrageira (*Opuntia* sp.) é um dos recursos forrageiros mais importantes para alimentação de rebanhos leiteiros localizados na região semiárida em virtude de sua adaptação e valor nutritivo (FERREIRA et al., 2009). O bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), por sua vez, é um resíduo da produção de açúcar e etanol comumente adquirido para suplementação volumosa na época de escassez de forragem (FREITAS et al., 2019). No entanto, ainda não há dados na literatura que reportem o desempenho e utilização de nutrientes por vacas leiteiras alimentadas com GIMEX em uma dieta basal contendo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar.

Considerando o papel central da composição da dieta basal sobre a resposta de vacas leiteiras alimentadas com fontes lipídicas, o presente trabalho foi baseado na hipótese de que a substituição do milho por GIMEX melhoraria o desempenho das vacas em lactação alimentadas com palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar sem produzir efeitos negativos sobre o consumo e digestão dos nutrientes, balanço de nitrogênio e a síntese de gordura do leite. Objetivou-se, assim, avaliar os efeitos da substituição do milho por GIMEX sobre o desempenho, produção e composição do leite, ingestão e digestibilidade de nutrientes e balanço de nitrogênio de vacas mestiças alimentadas com dietas contendo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de volumoso.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido entre os meses de janeiro e maio de 2020 no município de Arcoverde, Pernambuco, Brasil (latitude -8.35, longitude -36.84) e seguiu padrões éticos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE), licença n° 7149140220.

### **2.1. Animais e instalações**

Dez vacas múltiplas da raça Girolando (5/8 Holandês x 3/8 Gir), com peso vivo médio inicial de  $500 \pm 66$  kg e período de lactação de 90 dias  $\pm 15$  dias, foram alojadas em baias individuais (24 m<sup>2</sup>) e adaptadas ao manejo, às instalações e aos ingredientes da dieta por um período de 15 dias. As baias, separadas entre si por cordoalhas de aço, possuem uma área de piso de concreto, com cochos individuais cobertos e bebedouros compartilhados, e uma área de terra batida recoberta com cama de areia.

### **2.2. Delineamento e período experimental**

Ao final do período de adaptação pré-experimental, os animais foram distribuídos em dois Quadrados Latinos 5 x 5 com base na produção de leite média individual. O experimento teve duração total de 105 dias divididos em cinco períodos experimentais de 21 dias. Cada período experimental foi composto por 14 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e 07 dias para coleta de dados e amostras.

### 2.3. Dietas experimentais

As dietas foram formuladas segundo recomendações do NRC (2001) para atender as exigências nutricionais de vacas com produção média diária de 15 kg leite/dia e teor de gordura do leite de 3,5%. A palma Orelha-de-Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw) e o bagaço de cana-de-açúcar foram utilizados como ingredientes volumosos na proporção de 42 e 32 % da matéria seca (MS) dietética, respectivamente. As dietas testadas foram compostas por cinco níveis de substituição (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) do milho moído por gérmen de milho integral extra gordo (GIMEX; Tabela 1).

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS)

Ingrediente	Nível de substituição do milho por GIMEX, % MS				
	0	25	50	75	100
Palma OEM	415,0	415,0	415,0	415,0	415,0
Bagaço de cana	318,8	319,1	319,2	319,4	319,5
Milho moído	148,0	111,0	74,0	37,0	0,00
GIMEX <sup>1</sup>	0,00	37,0	74,0	111,0	148,0
Farelo de glúten de milho 60	83,0	83,0	83,0	83,0	83,0
Ureia/SA <sup>2</sup>	18,2	17,9	17,8	17,6	17,5
Sal comum	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Sal mineral <sup>3</sup>	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Composição químico-bromatológica					
Matéria seca	431,4	434,3	437,1	439,8	442,7
Matéria orgânica	924,7	924,8	924,9	924,9	924,9
Extrato etéreo	16,6	30,9	45,2	59,5	73,8
Proteína bruta	140,2	141,2	142,5	143,5	144,9
FDNcp <sup>4</sup>	380,4	385,7	390,8	396,0	401,1
Carboidratos não-fibrosos <sup>5</sup>	467,5	446,1	425,0	403,7	382,6
Nutrientes digestíveis totais <sup>6</sup>	686,8	715,3	718,3	744,3	753,4
Ácidos graxos totais <sup>7</sup>	10,7	23,6	36,8	49,9	62,9
C16:0	2,17	3,89	5,62	7,34	9,06
C18:0	0,42	0,70	0,98	1,27	1,55
C18:1 <i>cis</i> -9	2,52	7,09	11,66	16,23	20,79

**Tabela 1 (Continuação).** Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS)

	Nível de substituição do milho por GIMEX, % MS				
	0	25	50	75	100
C18:2 n-6	4,83	11,12	17,41	23,69	29,98
C18:3 n-3	1,15	1,27	1,38	1,50	1,61

<sup>1</sup>Gérmen integral de milho extra gordo.

<sup>2</sup>Ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1.

<sup>3</sup>Componentes: fosfato bicálcico, calcário, sal comum, flor de enxofre, sulfato de zinco, sulfato de cobre, sulfato de manganês, iodato de potássio e selenito de sódio.

<sup>4</sup>Fibra em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas.

<sup>5</sup>Estimado de acordo com equação proposta por Detmann e Valadares Filho (2010):  $CNF = 100 - [\%MM + \%EE + \%FDN_{cp} + (\%PB - \%PBu + \%U)]$ .

<sup>6</sup>Estimado segundo Sniffen et al. (1992):  $NDT = PBd + (EEd \times 2,25) + CNFd + FDNd$ ; d = digestível.

<sup>7</sup>Estimado de acordo com Sukhija e Palmquist (1988).

O fornecimento das dietas foi realizado duas vezes ao dia (07:00 e 16:00 horas) na forma de mistura completa. Antes do fornecimento da manhã, as sobras de cada animal foram pesadas e registradas para ajuste da quantidade de ração fornecida (com base no consumo do dia anterior), permitindo sobras de 5 a 10%.

#### 2.4. Amostragem e análise da composição do leite

As vacas foram submetidas a duas ordenhas diárias (às 06:30 e 15:30 horas) utilizando ordenhadeira mecânica com balde ao pé e sistema de ordenha espinha de peixe. O leite coletado era armazenado em tanque de resfriamento com capacidade de 2.000 litros.

O volume de leite produzido por cada animal foi contabilizado diariamente e registrado durante todo o período de coleta de dados. A equação proposta por Sklan et al. (1992) foi utilizada para obtenção da produção diária de leite corrigida (PLCG) para 3,5% de gordura, onde  $PLCG (3,5\%) = [(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ de gordura do leite}) \times PL \text{ kg/dia}]$ .

Amostras de leite (1% da produção de cada ordenha) foram coletadas nos dias 19 e 20 de cada período experimental e refrigeradas até que pudessem ser combinadas por animal, imediatamente após a coleta do dia 20. Uma alíquota de 50 mL da amostra composta foi armazenada em um tubo plástico contendo Bronopol® e utilizada para determinação dos teores de gordura, proteína, caseína, lactose, sólidos totais e ureia.



As análises foram realizadas em leitor combinado (COMBISCOPE TM FTIR 600, DELTA INSTRUMENTS, WALTHAM, MA) para determinação da composição (LACTOSCOPE FTIR MODELO FT-1.0) e contagem de células somáticas do leite (SOMASCOPE MKII MODELO CA-3A5), pertencente ao Laboratório de Análise de Leite do Departamento de Zootecnia da UFRPE (PROGENE, Recife, Pernambuco)

## **2.5. Consumo de nutrientes**

O consumo de nutrientes foi determinado por diferença da quantidade de nutrientes fornecida em cada dieta e os nutrientes contidos nas sobras. As amostras de sobras e dos alimentos fornecidos foram coletadas dos dias 15 a 21 de cada período experimental. Ao final da coleta, as amostras de sobras referentes a cada animal foram combinadas e homogeneizadas manualmente. Em seguida, uma subamostra representativa de sobras e alimentos foi retirada e submetida à pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante. As amostras pré-secas foram posteriormente moídas em moinho de facas (modelo Thomas Wiley Co, Swedesboro, NJ) utilizando peneira de 2 mm para incubação *in situ* e determinação da fibra em detergente neutro indigestível (FDNi); e peneira de 1 mm para realização de análises químico-bromatológicas.

## **2.6. Digestibilidade de nutrientes**

A estimativa da digestibilidade aparente dos nutrientes foi realizada a partir da relação entre os nutrientes absorvidos e excretados nas fezes (nutriente consumido - nutriente excretado/nutriente consumido). As amostras de fezes foram coletadas entre os dias 15 e 20 do período experimental pelo método *spot*, às 6h, 8h, 10h, 12h ou 14h (uma vez ao dia), diretamente da ampola retal dos animais. Estas amostras foram combinadas ao final de cada período, pré-secas e processadas, seguindo o mesmo procedimento descrito para alimentos e sobras.

As amostras compostas de fezes pré-secas e moídas a 2 mm foram utilizadas para estimativa da excreção fecal total através de seu conteúdo de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Do mesmo modo, o conteúdo de FDNi dos alimentos volumosos, concentrados e sobras foi utilizado para estimativa da quantidade de FDNi consumido. Todos

os procedimentos empregados para determinação da FDNi seguiram a metodologia descrita por Detmann et al. (2021).

A quantidade de FDNi presente nas amostras foi determinada por meio da incubação dos alimentos volumosos, sobras e fezes (0,8 g) e ingredientes concentrados (1,0 g) no rúmen de um bovino mestiço por 288 horas, segundo recomendações de Detmann et al. (2021). A pesagem e incubação das amostras foi realizada em sacos de tecido não-tecido (TNT) medindo 6 cm x 11 cm.

## **2.7. Análises químicas e estimativas**

As análises químicas das amostras de alimentos, sobras e fezes foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS, método 934.01), matéria mineral (MM, método 942.05), proteína bruta (PB, método 968.06), extrato etéreo (EE, método 920.39), fibra em detergente neutro (FDN). Todas as análises, exceto FDN, foram realizadas segundo as metodologias descritas por AOAC (2005). Para análise da FDN, adotou-se o método sugerido por Mertens (2002) com utilização de  $\alpha$ -amilase termoestável seguido por correção para cinzas residuais. Finalmente, a FDN foi corrigida para proteína insolúvel conforme sugerido por Licitra, Hernandez e Van Soest (1996).

Os teores de carboidratos não-fibrosos das dietas foram calculados de acordo com estimativas de Detmann e Valadares Filho (2010) onde:  $CNF = 100 - (\%MM + \%EE + FDN_{ncp} + (\%PB - \%PBu + \%U))$ , em que:  $\%PBu$  = percentual de PB proveniente da ureia; e  $\%U$ : percentual de ureia. O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi estimado com base na equação descrita por Weiss (1999), na qual  $NDT = PBd + (EEd \times 2,25) + CNFd + FDNd$ ; d = digestível.

## **2.8. Balanço de nitrogênio**

O balanço de compostos nitrogenados (nitrogênio retido) foi determinado pela diferença entre a quantidade de nitrogênio ingerida (N ingerido) e excretada nas fezes, no leite e na urina. O total de nitrogênio excretado no leite (N leite) foi quantificado usando a proteína total do leite (PTL), onde  $N \text{ leite (g/dia)} = PTL/6,38$ . A quantificação de nitrogênio total nas fezes (N fezes) foi feita segundo o procedimento descrito por Detmann et al. (2021). O nitrogênio excretado na urina (N urina) foi estimado a partir da equação proposta por

Jonker, Kohn e Erdman (1999): N-urina (g/dia) = (ingestão de N x 0,83) – N leite – 97, em que digestibilidade verdadeira do N = 0,83; N metabólico = 97 g/dia.

## 2.9. Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento experimental Quadrado Latino 5 x 5 duplo balanceado para efeitos *carry-over* (LUCAS, 1957). Os dados coletados foram avaliados a partir de análise de variância e regressão utilizando o procedimento MIXED do programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2012) segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + P_k + (A/Q)_{lj} + \epsilon_{ijkl}$$

onde:  $Y_{ijkl}$  = observação  $ijkl$ ;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito fixo do tratamento  $i$ ;  $Q_j$  = efeito fixo do quadrado  $j$ ;  $P_k$  = efeito fixo do período  $k$ ;  $(A/Q)_{lj}$  = efeito aleatório do animal  $l$  dentro do quadrado  $j$ ;  $\epsilon_{ijkl}$  = erro aleatório com a média 0 e variância  $\sigma^2$ .

As médias obtidas para os diferentes níveis de substituição foram comparadas a partir do desdobramento da soma dos quadrados dos tratamentos em contrastes polinomiais e ajustes das equações de regressão. Efeitos lineares e quadráticos foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substituição do milho por GIMEX elevou quadraticamente ( $P < 0,05$ ) a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura ( $y = -0,0005x^2 + 0,0635x + 12,915$ ), bem como a produção de gordura ( $y = -0,0189x^2 + 2,6977x + 442,23$ ), lactose ( $y = -0,0214x^2 + 2,3251x + 580,49$ ) e sólidos totais do leite ( $y = -0,0214x^2 + 2,3251x + 580,49$ ; Tabela 2). Por outro lado, a ingestão de GIMEX reduziu linearmente o teor de N-ureico no leite ( $P < 0,05$ ). Em função da melhoria observada na produção de leite, houve aumento linear da eficiência alimentar através do consumo de GIMEX ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Desempenho e composição do leite de vacas Girolando submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
PLCG <sup>3</sup>	13,14	13,70	15,13	15,34	14,49	1,2084	0,0007	0,0056
EAA <sup>4</sup>	1,00	1,04	1,14	1,18	1,18	0,1151	0,0003	0,3434
Composição do leite, g/dia								
Gordura	452,90	471,90	542,80	547,30	516,90	47,1982	0,0005	0,0115
Proteína	406,90	411,00	429,70	427,30	414,00	27,3986	0,3223	0,1298
Lactose	589,90	605,90	643,90	652,90	590,40	52,0259	0,5078	0,0364
Sólidos totais	1580,00	1625,00	1762,30	1781,10	1669,30	128,0300	0,0180	0,0105
Ureia, mg/dL	17,98	17,11	17,56	15,03	12,99	1,7637	0,0002	0,1223

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>Efeito linear (L) e quadrático (Q) dos diferentes níveis de GIMEX.

<sup>3</sup>Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura

<sup>4</sup>Eficiência alimentar ajustada (PLCG/CMS).

A ingestão de GIMEX elevou linearmente ( $P < 0,05$ ) a ingestão de EE e de modo quadrático ( $P < 0,05$ ) a ingestão de MS ( $y = -0,0001x^2 + 0,0035x + 13,102$ ), PB ( $y = -0,00002x^2 + 0,00149x + 1,97743$ ) e NDT ( $y = -0,0001x^2 + 0,0152x + 9,0274$ ). No entanto, houve redução do linear ( $P < 0,05$ ) do consumo de MO e CNF (Tabela 3). A substituição do milho por GIMEX não teve efeitos significativos sobre o consumo de FDN ( $P > 0,05$ ).

A substituição do milho por GIMEX reduziu linearmente ( $P < 0,05$ ) a digestibilidade do CNF, mas elevou de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) a digestibilidade do EE ( $y = -0,0006x^2 + 0,0896x + 995,6$ ). Apesar disto, os níveis crescentes de GIMEX não alteraram significativamente a digestibilidade da MS, MO, PB e FDN das dietas ( $P > 0,05$ ; Tabela 3).

**Tabela 3.** Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas Girolando submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
Consumo, kg/dia								
Matéria seca	13,09	13,04	13,18	12,30	12,15	0,5256	<0,0001	0,0451

**Tabela 3 (Continuação).** Consumo e digestibilidade dos nutrientes em vacas Girolando submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
Matéria orgânica	12,23	12,18	12,29	11,48	11,34	0,5095	<0,0001	0,0568
Proteína bruta	1,97	2,01	2,01	1,93	1,91	0,0832	0,0178	0,0341
Extrato etéreo	0,21	0,42	0,62	0,78	0,93	0,0304	<0,0001	0,0034
Fibra em detergente neutro	4,61	4,72	4,80	4,43	4,53	0,3194	0,0861	0,1234
Carboidratos não-fibrosos	5,79	5,49	5,33	4,60	4,40	0,2364	<0,0001	0,2555
Nutrientes digestíveis totais	8,99	9,37	9,50	9,22	9,18	0,4004	0,6057	0,0206
Digestibilidade, g/kg								
Matéria seca	647,17	647,05	626,68	656,23	627,61	14,5819	0,1275	0,7563
Matéria orgânica	686,89	688,41	672,54	697,17	668,95	11,8907	0,1468	0,3851
Proteína bruta	727,03	737,00	709,70	778,35	748,11	23,3378	0,0942	0,7872
Extrato etéreo	995,48	997,77	998,50	999,06	998,96	0,4493	<0,0001	0,0008
Fibra em detergente neutro	366,81	387,26	375,21	411,69	395,24	30,1098	0,0532	0,6000
Carboidratos não-fibrosos	933,07	926,02	909,47	899,55	873,14	13,0301	<0,0001	0,3786

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>Efeito linear (L) e quadrático (Q) dos diferentes níveis de GIMEX.

A adição crescente de GIMEX às dietas exerceu efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) sobre o consumo de N ( $y = -0,0041x^2 + 0,2834x + 313,06$ ) e reduziu em 10 g/dia a excreção de N via urina ( $P < 0,05$ ; Tabela 4). Contudo, não foram observados efeitos significativos do GIMEX sobre a quantidade de N excretado via fezes, a quantidade de N retida ou sobre as relações N retido/N consumido e N leite/N consumido ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 4.** Balanço de nitrogênio de vacas Girolando submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM	Valor de P <sup>1</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
N consumido, g/dia	312	319	319	307	302	13,0122	0,0208	0,0359
N fezes, g/dia	82	82	91	67	75	6,9165	0,0599	0,3577
N leite, g/dia	63	64	67	66	64	4,1947	0,2275	0,0907

**Tabela 4 (Continuação).** Balanço de nitrogênio de vacas Girolando submetidas a níveis crescentes de ingestão de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX)

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
N urina, g/dia	101	106	103	93	91	9,5803	0,0011	0,0669
N retido, g/dia	68	69	60	82	74	7,3231	0,1065	0,5413
N retido/N consumido, g/kg	0,23	0,24	0,21	0,28	0,26	0,0247	0,0617	0,5246
N leite/N consumido, g/kg	0,20	0,20	0,21	0,22	0,21	0,0119	0,0062	0,3331

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>Efeito linear (L) e quadrático (Q) dos diferentes níveis de GIMEX.

Embora tenha influenciado o consumo de alimentos de modo quadrático, a substituição de até 63,5% do milho por GIMEX mostrou-se capaz de elevar a produção de leite (PLCG máxima estimada = 14,93 kg/dia).

Sabe-se que o fornecimento de fontes lipídicas pode otimizar a produção de leite de vacas em terço médio de lactação (tais como os animais utilizados no presente estudo), ainda que a suplementação reduza o consumo de matéria seca (WELD; ARMENTANO, 2017). O aumento da produção de gordura, lactose, sólidos totais do leite confirma a melhoria na eficiência de produção de leite observada no presente estudo (Tabela 2) e corrobora os resultados encontrados por Rabiee et al. (2012), em uma metaanálise realizada para avaliar os efeitos da suplementação lipídica em vacas leiteiras.

O efeito positivo do GIMEX sobre a produção de gordura do leite pode ser explicado pelo aumento do consumo de EE (Tabela 3) e, provavelmente, de ácidos graxos insaturados, intensificando a captação de ácidos graxos dietéticos pela glândula mamária. Adicionalmente, o aumento da síntese de lactose no leite (Tabela 2) sugere que a ingestão de GIMEX teve impacto positivo sobre a concentração de propionato no rúmen, uma vez que o propionato é o principal substrato para síntese de glicose (molécula primária para síntese de lactose na glândula mamária; LIN et al., 2016); e o consumo e digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos foram reduzidos linearmente pela substituição do milho por GIMEX (Tabela 3).

Estudos realizados anteriormente verificaram aumento da concentração ruminal de propionato em função da suplementação com óleos (IVAN et al., 2001; KAIRENIUS et al., 2018), relacionando este resultado a manipulações da população de bactérias e protozoários

do rúmen. Ainda que não contribuam diretamente com a síntese de propionato, protozoários captam açúcares solúveis e amido disponíveis no ambiente ruminal (MENDOZA; BRITTON; STOCK, 1993). Deste modo, seria plausível que uma redução no número de protozoários resultante da ingestão de GIMEX elevasse a disponibilidade de substratos para bactérias produtoras de propionato no rúmen, elevando ainda mais o aporte de glicose (via utilização de propionato na gliconeogênese) para síntese de lactose no leite.

Em adição aos efeitos da substituição do milho por GIMEX sobre a produção e composição do leite, Allen (2000) explica que a elevada absorção e metabolização de ácidos graxos insaturados (em quantidades que excedem o limite de biohidrogenação ruminal) desencadeia mecanismos neurais de saciedade que resultam na redução no consumo de alimentos. Este fenômeno já foi observado em experimentos onde ácidos graxos insaturados foram infundidos diretamente no abomaso (BENSON et al., 2001; DRACKLEY et al., 1992; LITHERLAND et al., 2005) e poderia explicar o efeito quadrático das dietas contendo GIMEX sobre o consumo de MS.

Apesar disto, estima-se que a ingestão de proteína bruta e nutrientes digestíveis totais só foi negativamente impactada por níveis de substituição superiores a 37,2% e 76,0%, respectivamente, quando os valores de ingestão de proteína bruta e nutrientes digestíveis totais atingiram 2,0 kg/dia e 9,60 kg/dia. Este comportamento indica que o atendimento às exigências de proteína e energia foram os principais fatores envolvidos na regulação do consumo de alimentos e aumento de produção em vacas alimentadas com GIMEX.

Embora o consumo e a excreção de N (principalmente via leite e urina) sejam positivamente correlacionados (BURGOS; FADEL; DEPETERS, 2007; MÜLLER et al., 2021), o aumento quadrático no consumo de N em função dos níveis crescentes de GIMEX (Tabela 4) não foi acompanhado por maior excreção de N via urina, sendo um resultado desejável do ponto de vista econômico e ambiental.

Este resultado pode estar atrelado ao suposto efeito dos ácidos graxos insaturados contidos no GIMEX sobre a microbiota ruminal (particularmente sobre a abundância de protozoários do rúmen) associado à composição das dietas (substituição do milho por GIMEX e adição de ureia para ajuste da proteína bruta dietética). Tais condições favoreceriam a sincronização entre o N disponível e os carboidratos de rápida degradação

ruminal contidos na palma, estimulando a incorporação de N na proteína microbiana e/ou reciclagem de N e reduzindo a excreção de N via urina e leite.

Em ovinos parcialmente defaunados com óleo de girassol, Doranalli e Mutsvangwa (2011) observaram aumento na reciclagem de N-ureia para o trato gastrointestinal e suprimento de N microbiano em relação à dieta controle (sem óleo). Conseqüentemente, a ingestão de óleo reduziu a excreção de N via urina. É importante mencionar, ainda, que a diminuição da excreção de N-ureico no leite em vacas alimentadas com GIMEX (Tabela 2) pode estar associada à redução da deaminação de aminoácidos na glândula mamária devido à elevação da densidade energética das dietas (BENCHAAAR et al., 2015; DORANALLI; MUTSVANGWA, 2011).

A redução linear do consumo e da digestibilidade de carboidratos não-fibrosos, por sua vez, está associada à diminuição progressiva desta fração nas dietas (Tabela 1), pois o GIMEX contribui com quantidades inferiores de carboidratos fermentescíveis em comparação ao milho (NETTO et al., 2022). Por outro lado, o efeito quadrático da substituição do milho por GIMEX sobre a digestibilidade do extrato etéreo pode estar relacionado à relação existente entre fluxo de ácidos graxos insaturados e absorção de lipídeos. Plascencia et al. (2021) demonstraram que o aumento do fluxo de ácidos graxos insaturados no intestino delgado melhora a digestão de ácidos graxos; no entanto, a produção de bile (relativamente constante e resistente a altos níveis de ingestão lipídica em ruminantes) limita a absorção (PLASCENCIA et al., 2004).

Com base na quantidade de ácidos graxos totais presente nas dietas (Tabela 1), é possível inferir que o fluxo de ácidos graxos insaturados para o intestino delgado foi intensificado pelo fornecimento de GIMEX, mas a absorção pode ter sido limitada pela produção de bile em níveis de substituição acima de 74,6%. Além disso, Abdelqader et al. (2009) e Netto et al. (2022) ressaltam que gordura do GIMEX pode ter certo nível de proteção contra a biohidrogenação ruminal, o que elevaria ainda mais o fluxo de ácidos graxos insaturados para o duodeno.

A ausência de efeitos significativos das dietas contendo GIMEX sobre a digestibilidade da maior parte dos nutrientes, principalmente da fibra, é considerada um resultado positivo. De acordo com Palmquist (1995), fontes lipídicas podem impactar negativamente a degradação da fração fibrosa no rúmen, seja diretamente pelo efeito tóxico



de ácidos graxos insaturados às células microbianas ou indiretamente pela adesão dos lipídeos às partículas fibrosas do alimento.

A composição da dieta basal dos animais, particularmente a inclusão do bagaço de cana (fonte de fibra fisicamente efetiva com baixos níveis de carboidratos não-fibrosos), provavelmente contribuiu para manutenção de condições normais do ambiente ruminal e ausência de efeitos significativos da substituição sobre a degradação da fibra.

Contrariamente ao comportamento aqui observado, Netto et al. (2022) encontraram redução linear significativa da digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e fibra em vacas holandesas alimentadas com níveis crescentes de GIMEX e dietas à base de cana-de-açúcar (rica em sacarose) e palma forrageira. Estas diferenças suportam resultados encontrados em outros estudos (BAYAT et al. 2018; BENCHAAAR et al., 2015; HASSANAT; BENCHAAAR, 2021; RODRIGUES et al., 2017) e demonstram a influência do volumoso fornecido sobre a digestão de nutrientes em vacas suplementadas com fontes lipídicas.

#### 4. CONCLUSÃO

A substituição de até 63,5% do milho por GIMEX pode ser considerada como estratégia dietética para melhorar a eficiência da produção de leite de vacas mestiças alimentadas com palma forrageira e volumosos ricos em FDN e FDN fisicamente efetiva, como o bagaço de cana-de-açúcar. A substituição do milho por GIMEX possibilita, ainda, reduzir a excreção urinária de nitrogênio em vacas leiteiras.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELQADER, M.M. et al. Evaluation of corn germ from ethanol production as an alternative fat source in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1023-1037, 2009.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1598–1624, 2000.

AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC Intl, 2005.

AVENDAÑO-REYES, L. Heat Stress Management for Milk Production in Arid Zones. IN: CHAIYABUTR, N. **Milk Production - An Up-To-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health**. INTECH, 2012. p. 165-184. Available from:

[https://www.researchgate.net/publication/251565960\\_Heat\\_Stress\\_Management\\_for\\_Milk\\_Production\\_in\\_Arid\\_Zones](https://www.researchgate.net/publication/251565960_Heat_Stress_Management_for_Milk_Production_in_Arid_Zones). Acesso em: 10 fev. 2023.

BAYAT, A. R. et al. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 1136–1151, 2018.

BENCHAAR, C. et al. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7993–8008, 2015.

BENSON, J.A. 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.

BERNARD, L. et al. Effect of concentrate enriched with palmitic acid versus rapeseed oil on dairy performance, milk fatty acid composition, and mammary lipogenic gene expression in mid-lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 11621–11633, 2021.

BURGOS, S. A.; FADEL, J. G.; DEPETERS, E. J. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: relation of milk urea nitrogen to urine urea nitrogen excretion. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5499–5508, 2007.

DETMANN, E., VALADARES FILHO, S.C., 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 980-984, 2010.

DETMANN, E. et al. **Métodos para Análise de Alimentos**, 2. ed., Visconde do Rio Branco: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal - Suprema, 2021. 350p.

DORANALLI, K., MUTSVANGWA, T. Feeding sunflower oil to partially defaunate the rumen increases nitrogen retention, urea-nitrogen recycling to the gastrointestinal tract and the anabolic use of recycled urea-nitrogen in growing lambs. **British Journal of Nutrition**, p. 105, p. 1453–1464, 2011.

DRACKLEY, J.K. et al. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1517–1526, 1992.

FERREIRA, M.A. et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 322-329, 2009 (supl. especial).

FREITAS, W.R. et al. Milk fatty acid profile of dairy cows fed diets based on sugarcane bagasse in the Brazilian semiarid region. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 79, p. 464-472, 2019.

GALEANO, V. J. L. et al. Productive responses of dairy goats fed on diets containing elephant grass (*Pennisetum purpureum*) associated or not with cactus (*Opuntia stricta*)

cladodes, and extra-fat whole corn germ as a substitute for corn. **Small Ruminant Research**, v. 207, 106609, 2022.

HASSANAT, F.; BENCHAAAR, C. Corn silage-based diet supplemented with increasing amounts of linseed oil: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen utilization, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 5375-5390, 2021.

IVAN, M. et al. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 41, p. 215-227, 2001.

JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 1261-1273, 1999.

KAIRENIUS, P. et al. Effect of dietary fish oil supplements alone or in combination with sunflower and linseed oil on ruminal lipid metabolism and bacterial populations in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 3021–3035, 2018.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardisation of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 57, p. 347–358, 1996.

LIN, Y. et al. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 81, 2016.

LITHERLAND, N.B. et al. Dry matter intake is decreased more by abomasal infusion of unsaturated free fatty acids than by unsaturated triglycerides. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 632–643, 2005.

LUCAS, H.L. Extra-Period Latin-Square Change-Over Designs. **Journal of Dairy Science**, v. 40, n. 3, p. 225-239, 1957.

MENDOZA, G.D.; BRITTON, R.A.; STOCK, R.A. Influence of Ruminal Protozoa on Site and Extent of Starch Digestion and Ruminal Fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1572-1578, 1993.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217–1240, 2002.

MILLER, W. F. et al. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3386–3391, 2009.

MÜLLER, C. B. M. et al. Differences between Holstein dairy cows in renal clearance rate of urea affect milk urea concentration and the relationship between milk urea and urinary nitrogen excretion. **Science of the Total Environment**, v. 755, 143198, p. 1-12, 2021.

NETTO, A. J. et al. Replacing corn with full-fat corn germ in a basal diet containing cactus (*Opuntia stricta*) cladodes and sugarcane as forage sources induces milk fat depression associated with the trans-10 shift in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 288, 115289, 2022.

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

PALMQUIST, D. L. Digestibility of cotton lint fiber and whole oilseeds by ruminal microorganisms. **Animal Feed Science Technology**, v. 56, p. 231-242, 1995.

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

PLASCENCIA, A. et al. Influence of levels of fat supplementation on bile flow and fatty acid digestion in cattle. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 3, p. 763–768, 2004.

PLASCENCIA, A. et al. Influence of unsaturated to saturated ratio of fatty acids reaching the duodenum on postruminal digestion of stearic acid in Holstein steers fed a high-fat finishing diet. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 8, p. 465–470, 2021.

RABIEE, A.R. et al. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3225-3247, 2012.

RODRIGUES, J. P. P. et al. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4435–4447, 2017.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® User's Guide**, Version 9.4. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2012.

SKLAN, D. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992.

SNIFFEN, C. J. et al. Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Cattle Diets: II. Carbohydrate and Protein Availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577. 1992.

SUKHIJA, P. S.; PALMQUIST, D. L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.1202–1206, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00084a019>.

TORAL, P. G. et al. Comparison of ruminal lipid metabolism in dairy cows and goats fed diets supplemented with starch, plant oil, or fish oil. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 301–316, 2016.

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

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

## **CAPÍTULO II**

---

**Gérmen integral de milho extra gordo como alternativa lipídica para vacas leiteiras consumindo palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de volumoso: produção e qualidade nutricional da gordura do leite**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a produção, composição e perfil de ácidos graxos (AG) do leite de vacas mestiças alimentadas com dieta composta por palma Orelha-de-Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw), bagaço de cana-de-açúcar e níveis crescentes de gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX). Foram utilizadas 10 vacas Girolando (5/8 Holandês x 3/8 Gir), múltiparas, com peso vivo inicial de  $500 \pm 66$  kg e período de lactação de  $90 \pm 15$  dias. Os animais foram submetidos a 15 dias de adaptação às condições de manejo, instalações e à dieta basal (período pré-experimental). Ao final deste período, os animais foram distribuídos em dois quadrados latinos  $5 \times 5$  de acordo com a produção de leite ao final do período pré-experimental. Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo 14 para adaptação às dietas experimentais e sete para coleta de dados e amostras. As dietas experimentais foram compostas por palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e um concentrado no qual o milho foi progressivamente substituído por GIMEX (0%, 25%, 50%, 75% ou 100% de substituição), correspondente aos tratamentos G0, G25, G50, G75 e G100, respectivamente. A adição de níveis crescentes de GIMEX na dieta promoveu efeito quadrático ( $P = 0,0183$ ) sobre a produção de leite, que aumentou progressivamente de 13,4 kg/dia (G0) para 14,9 kg/dia com G75 (+ 1,5 kg/dia), e então decresceu 0,8 kg/dia com 100% de substituição. O teor de gordura no leite aumentou linearmente ( $P = 0,0387$ ) em resposta à inclusão de GIMEX, com valores variando entre 3,42 e 3,73%. O teor de proteína apresentou comportamento quadrático ( $P = 0,0106$ ), sendo reduzido em 0,18 unidades percentuais entre G0 e G75, seguido de incremento ( $\sim 0,08$  unidades percentuais) quando o GIMEX substituiu integralmente o milho. O teor de sólidos totais foi inalterado pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). De modo geral, a substituição de milho por GIMEX reduziu, de modo linear ou quadrático, os teores (g/100g de AG totais) de AG saturados com  $\leq C16$ , AG de cadeia ímpar e ramificada, e de C18:3 n-3 (e demais AG n-3) na gordura do leite. Em contrapartida, houve aumento linear ou quadrático dos teores de AG de cadeia longa ( $\geq C18$ ), isômeros de C18:1 *cis/trans* (exceto C18:1 *cis*-11), isômeros de CLA (especialmente o CLA *cis*-9, *trans*-11), C18:2 n-6 e demais AG n-6. Estas alterações nas proporções de AG individuais resultaram em mudanças nas proporções dos principais grupamentos de AG do leite, como redução linear dos AG saturados, aumento dos AG mono e poli-insaturados (efeito quadrático e linear, respectivamente), e aumento linear das relações C18:1 *trans*/C18:0, C18:1 *trans*-11/C18:0 e n-6:n-3. Além disso, os índices de atividade da enzima SCD-1 foram reduzidos de modo linear ( $SCD_{14}$ ,  $SCD_{16}$  e  $SCD_{CLA}$ ) ou quadrático ( $SCD_{18}$ ) com o aumento do nível de GIMEX na dieta. Com base nestes resultados, conclui-se que a substituição de milho por GIMEX, em dieta à base de palma forrageira e bagaço de cana, resulta em mudanças positivas no perfil de AG do leite de vacas Girolando, notadamente o aumento dos teores de C18:1 *trans*-11 e de CLA *cis*-9, *trans*-11 e redução do C16:0, o que agregaria valor ao produto final em um cenário de bonificação por qualidade nutricional. Adicionalmente, a suplementação da dieta com GIMEX aumentou o teor de gordura do leite, indicando que a dieta basal proporcionou um ambiente ruminal capaz de prevenir a depressão da gordura do leite (DGL) comumente associada ao desvio da rota de biohidrogenação em favor da produção de C18:1 *trans*-10.

**Palavras-chave:** *Opuntia* sp, vacas mestiças, semiárido, suplementação lipídica, co-produto, gordura do leite.

**Abstract:** This study was designed to evaluate the performance, milk composition, and milk fatty acid profile of crossbred cows fed diets composed of cactus cladodes (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw), sugarcane bagasse and increasing levels of full-fat corn germ (GIMEX). Ten multiparous Girolando (5/8 Holstein x 3/8 Gir) cows were used in the study (mean initial body weight of  $500 \pm 66$  kg and  $90 \pm 15$  days in milk). Cows were adapted to management conditions, facilities, and basal diet for 15 days (pre-experimental period); thereafter, they were randomly distributed into two 5x5 Latin Squares based on their milk production at the end of the pre-adaptation phase. Experimental periods lasted 21 days (14 days for adaptation of the cows, seven days for data sampling). Experimental diets were composed of cactus cladodes, sugar cane bagasse, and a concentrate in which corn was progressively replaced with FFCG (0%, 25%, 50%, 75% or 100% of substitution). These levels represented treatments G0, G25, G50, G75 and G100, respectively. Adding FFCG to the diet increased milk production quadratically ( $P = 0,0183$ ); milk production increased from 13,4 kg/day (G0) to 14,9 kg/day in G75 (+ 1,5 kg/day), and then declined 0,8 kg/day at complete substitution. Milk fat content increased linearly ( $P = 0,0387$ ) in response to FFCG, with milk fat percentage ranging from 3,42 and 3,73%. Milk protein content showed a quadratic behavior ( $P = 0.0106$ ); between G0 and G75, milk protein percentage reduced by 0.18 percentage units, and increased  $\sim 0.08$  percentage units when FFCG replaced corn entirely. The total solids content in milk was unchanged by treatments ( $P > 0.05$ ). Overall, the substitution of corn by FFCG reduced (linearly or quadratically) the concentration of  $\leq C16$  saturated fatty acids (FA, g/100 g of total FA), odd branched-chain FA, and C18:3 n-3 (as well as other n-3 FA) in milk fat. In contrast, there was a linear or quadratic increase in the proportion of long-chain fatty acids ( $\geq C18$ ), isomers of *cis/trans* C18:1 (except *cis*-11 C18:1), CLA isomers (especially *cis*-9, *trans*-11 CLA), C18:2 n-6 and other n-6 FA. These changes in proportions of individual FAs resulted in altered proportions of the major FA groupings in milk, including a linear reduction in saturated FAs, an increase in mono- and polyunsaturated FAs (quadratic and linear effect, respectively), and a linear increase in the *trans* C18:1/C18:0, *trans*-11 C18:1/C18:0, and n-6:n-3 ratios. In addition, activity indices of the SCD-1 enzyme were reduced either linearly (SCD14, SCD16, and SCDCLA) or quadratically (SCD18) by increasing levels of FFCG in the diet. Based on these results, we can conclude that the replacement of corn with FFCG in a diet based on cactus cladodes and sugarcane bagasse results in positive modifications in the FA profile of milk from Girolando cows, notably increased contents of *trans*-11, C18:1 and *cis*-9, *trans*-11 CLA, and reduced C16:0 content. This strategy would add value to the final product through improved milk nutritional quality. Additionally, FFCG supplementation increased milk fat content, indicating that the basal diet was favorable to the rumen environment and to preventing the milk fat depression (DGL) commonly associated with a detour of the BH pathway in favor of *trans*-10 C18:1 synthesis.

**Keywords:** *Opuntia* sp., crossbred cows, semi-arid, fat supplementation, co-products, milk fat.



## 1. INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira é uma das poucas atividades economicamente viáveis no semiárido nordestino brasileiro (FERREIRA et al., 2009). No entanto, a produção leiteira tem sido impactada pela escalada nos preços de comercialização do milho (SANTOS, 2020), o que estimula a busca por fontes energéticas alternativas de menor custo.

Fontes lipídicas podem ser estrategicamente utilizadas na dieta de vacas em lactação criadas em regiões quentes para substituir alimentos concentrados ricos em carboidratos de rápida fermentação ruminal e, ao mesmo tempo, aumentar a densidade energética da dieta, proporcionando redução do estresse térmico pelo calor (MILLER et al., 2009; MOALLEM et al., 2010). Dependendo da composição lipídica do suplemento utilizado, estas fontes também podem melhorar o perfil de ácidos graxos do leite (KLIEM et al., 2019).

Neste aspecto, o processamento industrial do milho gera um coproduto de alto valor nutricional, rico em lipídeos insaturados (principalmente 18:2 n-6 e C18:1 *cis*-9), de fácil manuseio (ingrediente sólido de elevada estabilidade oxidativa; NETTO et al., 2022) e com custo competitivo frente a outras fontes lipídicas comumente utilizadas: o gérmen integral de milho extra gordo (GIMEX).

Segundo Miller et al. (2009), o GIMEX pode ser utilizado como fonte lipídica em dietas à base de silagem de milho e feno de alfafa para vacas de alta produção. No entanto, o NRC (2001) aponta que o efeito de fontes lipídicas sobre a produção de leite depende da composição da dieta basal, sugerindo que o tipo de volumoso pode interferir nesta resposta. Além disso, a resposta produtiva e a composição do leite, incluindo o seu perfil de ácidos graxos, variam consideravelmente em função da interação entre as diferentes fontes lipídicas e os alimentos volumosos utilizados na dieta (CHILLIARD et al., 2001; RUPPERT et al., 2003; SADEGHI et al., 2019).

A palma forrageira é um volumoso frequentemente empregado na dieta de rebanhos leiteiros nas regiões semiáridas do Nordeste brasileiro (FERREIRA et al., 2009). Evidências recentes indicam que a presença de palma na dieta modula a biohidrogenação (BH) ruminal dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na dieta, favorecendo a incorporação de ácidos graxos potencialmente benéficos à saúde humana, como C18:1 *trans*-11 (ácido vacênico, AV) e CLA *cis*-9, *trans*-11 (ácido rumênico, AR), no leite de vacas leiteiras (GAMA et al.,

2021). Este efeito parece estar associado, ao menos em parte, à presença de quantidades apreciáveis de compostos fenólicos na palma.

Embora estudos iniciais indiquem o potencial do GIMEX como fonte lipídica alternativa para vacas leiteiras (MILLER et al., 2009; NETTO et al., 2022), Netto et al. (2022) verificaram que a associação de GIMEX com palma em dietas contendo cana-de-açúcar fresca altera a rota normal de BH ruminal e induz a síndrome de depressão da gordura do leite. Diante disto, o presente estudo foi delineado para testar a hipótese de que a substituição de milho por GIMEX poderia melhorar o desempenho produtivo dos animais e promover mudanças positivas no perfil de ácidos graxos do leite de vacas ingerindo dieta contendo palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM; *Opuntia stricta* [Haw.] Haw) e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de volumoso.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi conduzida de acordo com padrões éticos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) protocolo n° 7149140220. O experimento ocorreu entre os meses de janeiro e maio de 2020 na cidade de Arcoverde, Pernambuco, Brasil (latitude -8.35, longitude -36.84).

### **2.1. Animais e instalações**

Foram utilizadas dez vacas multíparas da raça Girolando com peso vivo inicial de 500 ± 66 kg e período de lactação de 90 ± 15 dias. As vacas foram alojadas em baias individuais (24 m<sup>2</sup>) separadas entre si por cordoalhas de aço. Cada baia continha uma área de piso de concreto, com cochos individuais e bebedouros compartilhados, e uma área de terra batida recoberta com cama de areia.

### **2.2. Delineamento e período experimental**

Os animais foram distribuídos, segundo a produção de leite, em dois quadrados latinos 5 x 5. O período experimental total (105 dias) foi dividido em cinco períodos de 21 dias, sendo os primeiros 14 dias de cada período destinados à adaptação dos animais às dietas experimentais e os últimos sete dias para coleta de dados e amostras.

Antes do início experimento, todas as vacas foram adaptadas ao manejo, às instalações e aos ingredientes da dieta por 15 dias. A produção diária de leite ao final do período pré-experimental foi utilizada para distribuição dos animais nos quadrados latinos.

### 2.3. Dietas experimentais

Os tratamentos foram representados por cinco níveis de substituição (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) do milho moído por GIMEX (Tabela 1). A palma OEM e o bagaço de cana de açúcar foram utilizados como volumosos nas dietas, nas mesmas proporções (aproximadamente 42 e 32 % da MS, respectivamente).

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS)

Ingrediente	Nível de substituição do milho por GIMEX, % MS				
	0	25	50	75	100
Palma OEM	415,0	415,0	415,0	415,0	415,0
Bagaço de cana	318,8	319,1	319,2	319,4	319,5
Milho moído	148,0	111,0	74,0	37,0	0,00
GIMEX <sup>1</sup>	0,00	37,0	74,0	111,0	148,0
Farelo de glúten de milho 60	83,0	83,0	83,0	83,0	83,0
Ureia/SA <sup>2</sup>	18,2	17,9	17,8	17,6	17,5
Sal comum	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Sal mineral <sup>3</sup>	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Composição químico-bromatológica					
Matéria seca	431,4	434,3	437,1	439,8	442,7
Matéria orgânica	924,7	924,8	924,9	924,9	924,9
Extrato etéreo	16,6	30,9	45,2	59,5	73,8
Proteína bruta	140,2	141,2	142,5	143,5	144,9
FDNcp <sup>4</sup>	380,4	385,7	390,8	396,0	401,1
Carboidratos não-fibrosos <sup>5</sup>	467,5	446,1	425,0	403,7	382,6
Nutrientes digestíveis totais <sup>6</sup>	686,8	715,3	718,3	744,3	753,4
Ácidos graxos totais <sup>7</sup>	10,7	23,6	36,8	49,9	62,9
C16:0	2,17	3,89	5,62	7,34	9,06
C18:0	0,42	0,70	0,98	1,27	1,55
C18:1 <i>cis</i> -9	2,52	7,09	11,66	16,23	20,79

**Tabela 1 (Continuação).** Proporção dos ingredientes e composição das dietas experimentais (g/kg MS)

	Nível de substituição do milho por GIMEX, % MS				
	0	25	50	75	100
C18:2 n-6	4,83	11,12	17,41	23,69	29,98
C18:3 n-3	1,15	1,27	1,38	1,50	1,61

<sup>1</sup>Gérmen integral de milho extra gordo.

<sup>2</sup>Ureia + sulfato de amônio na proporção 9:1.

<sup>3</sup>Componentes: fosfato bicálcico, calcário, sal comum, flor de enxofre, sulfato de zinco, sulfato de cobre, sulfato de manganês, iodato de potássio e selenito de sódio.

<sup>4</sup>Fibra em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas.

<sup>5</sup>Estimado de acordo com equação proposta por Detmann e Valadares Filho (2010):  $CNF = 100 - [\%MM + \%EE + \%FDN_{cp} + (\%PB - \%PBu + \%U)]$ .

<sup>6</sup>Estimado segundo Sniffen et al. (1992):  $NDT = PBd + (EEd \times 2,25) + CNFd + FDNd$ ; d = digestível.

<sup>7</sup>Estimado de acordo com Sukhija e Palmquist (1988).

As proporções de volumosos e concentrados nas dietas experimentais foram ajustadas para atender às exigências nutricionais recomendadas pelo NRC (2001) para vacas com produção média diária de 15 kg leite/dia e teor de gordura do leite de 3,5%. As dietas foram fornecidas à vontade na forma de mistura completa às 07:00 e 16:00 horas, e a quantidade fornecida foi ajustada diariamente para permitir 5 a 10% de sobras. A quantidade de sobras foi pesada e registrada diariamente antes do arraçoamento da manhã.

#### 2.4. Coleta e análise da composição do leite

O volume de leite produzido nas duas ordenhas diárias (às 06:30 e 15:30 horas) foi registrado diariamente durante o período de coleta de dados. A produção diária de leite corrigida (PLCG) para 3,5% de gordura foi calculada através da equação sugerida por Sklan et al. (1992):  $PLCG (3,5\%) = [(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ de gordura do leite}) \times PL \text{ kg/dia}]$ .

Nos dias 19 e 20 de cada período experimental foram coletadas amostras individuais de leite referentes à 1% da produção de cada ordenha (duas amostras diárias), as quais foram mantidas sob refrigeração até a última coleta do dia 20, quando então as amostras foram combinadas por animal e por período. Uma alíquota de 50 mL da amostra composta foi adicionada em um tubo plástico contendo Bronopol® e mantida entre temperatura de 2 a 6° C. Estas amostras foram enviadas ao laboratório de análise de leite do Departamento de

Zootecnia da UFRPE (PROGENE, Recife, Pernambuco) e analisadas quanto aos teores de gordura, proteína e sólidos totais dentro de um intervalo de cinco dias.

Uma segunda alíquota (5 mL) das amostras compostas de leite, sem adição de conservante, juntamente com amostras dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais, foram submetidas à determinação do perfil de ácidos graxos no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, Minas Gerais).

## **2.5. Perfil de ácidos graxos (AG) do leite e atividade enzimática**

As amostras de leite foram descongeladas em temperatura ambiente e uma alíquota de 1 mL foi utilizada para extração da fração lipídica (método 989.05, AOAC, 2012). Após evaporação do solvente sob nitrogênio a 40°C, os lipídeos extraídos foram dissolvidos em hexano e acetato de metila, e então transesterificados com uma solução de metóxido de sódio em metanol, conforme descrito por Baldin et al. (2013). A mistura foi neutralizada com ácido oxálico, utilizando 1 g do ácido em 30 mL de éter dietílico, seguida da adição de cloreto de cálcio para remoção dos resíduos de metanol.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram então separados e quantificados em cromatógrafo a gás modelo 7820A (AGILENT TECHNOLOGIES, SANTA CLARA, CA, USA) equipado com FID e uma coluna capilar de sílica fundida CP-Sil 88 (100 m × 0,25 mm × 0,2 µm; VARIAN, MISSISSAUGA, ON, CANADA). As condições de operação do equipamento foram as mesmas descritas por Cruz-Hernandez et al. (2007).

Os FAME contidos nas amostras de leite foram identificados por comparação com o tempo de retenção de padrões comerciais (Supelco® 37 Component FAME Mix; LARODAN AB, STOCKHOLM, SWEDEN; LUTA-CLA® 60, BASF). Os isômeros de C18:1 *trans/cis* e o CLA *trans*-9, *cis*-11 foram identificados de acordo com suas ordens de eluição reportadas sob as mesmas condições analíticas (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007).

A composição de AG do leite foi expressa como proporção dos AG totais utilizando fatores de resposta teóricos (WOLFF; BAYARD; FABIEN, 1995). As relações entre os teores de C14:1 *cis*-9/C14:0, C16:1 *cis*-9/C16:0, C18:1 *cis*-9/C18:0 e CLA *cis*-9, *trans*-11/C18:1 *trans*-11 no leite foram utilizadas para estimativa do índice de atividade da enzima esteroil-CoA dessaturase-1 (SCD-1) na glândula mamária, conforme descrito por Kelsey et al. (2003).

## 2.6. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi Quadrado Latino 5 x 5 duplo. A distribuição dos animais em cada quadrado foi realizada de forma balanceada para prevenir para efeitos *carry-over* (LUCAS, 1957). Os dados coletados foram analisados a partir da análise de variância e regressão utilizando o procedimento MIXED do programa SAS (*Statistical Analysis System*, 2009), segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + P_k + (A/Q)_{lj} + \varepsilon_{ijkl}$$

onde:  $Y_{ijkl}$  = observação  $ijkl$ ;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito fixo do tratamento  $i$ ;  $Q_j$  = efeito fixo do quadrado  $j$ ;  $P_k$  = efeito fixo do período  $k$ ;  $(A/Q)_{lj}$  = efeito aleatório do animal  $l$  dentro do quadrado  $j$ ;  $\varepsilon_{ijkl}$  = erro aleatório com a média 0 e variância  $\sigma^2$ .

As médias obtidas para os diferentes níveis de substituição foram comparadas a partir do desdobramento da soma dos quadrados dos tratamentos em contrastes polinomiais e ajustes das equações de regressão. Efeitos lineares e quadráticos foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substituição do milho pelo GIMEX promoveu um efeito quadrático sobre a produção de leite ( $P = 0,0183$ ; Tabela 2). A adição de até 75% de gérmen nas dietas (G0 a G75) elevou a produção de leite de 13,37 kg/dia para 14,93 kg/dia (+1,5 kg), mas reduziu em 0,85 kg/dia quando o GIMEX substituiu integralmente o milho (G100).

Quanto à composição do leite, foi observado um aumento linear ( $P = 0,0387$ ) do teor de gordura em resposta à substituição do milho pelo GIMEX. Por outro lado, o teor de proteína do leite foi alterado de modo quadrático em resposta à substituição ( $P = 0,0106$ ). Houve queda de 0,18 unidades percentuais no teor de proteína do leite quando o milho foi substituído por até 75% de GIMEX (G75), seguido de ligeiro incremento (0,09 unidades percentuais) quando o GIMEX substituiu integralmente o milho. O teor de sólidos totais não foi influenciado pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 2.** Produção e composição do leite de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição de milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
Produção de leite, kg/dia	13,37	13,97	14,61	14,93	14,08	1,123	0,0361	0,0183
Composição do leite, %								
Gordura	3,45	3,42	3,73	3,68	3,66	0,174	0,0387	0,4025
Proteína	3,06	2,96	2,97	2,88	2,97	0,075	0,0062	0,0106
Sólidos totais	11,80	11,59	12,03	11,91	11,88	0,206	0,1800	0,6387

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>L: efeito linear; Q: efeito quadrático. Diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

A substituição de milho por GIMEX teve impacto expressivo sobre o perfil de ácidos graxos do leite (Tabela 3). Com exceção dos ácidos C4:0, C5:0 e C16:1 *trans*-9, verificou-se redução linear ( $P < 0,05$ ) nas proporções de ácidos graxos de cadeia curta (C4:0 a C10:0) e média (C12:0 a C16:0) do leite. Do mesmo modo, as proporções dos ácidos graxos de cadeias  $\geq$  C20 (exceto C20:0 e C20:1 n-9) foram linearmente reduzidas ( $P < 0,05$ ) pela inclusão de GIMEX nas dietas.

**Tabela 3.** Perfil de ácidos graxos do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição de milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
C4:0	3,3087	3,4743	3,4119	3,2028	3,1524	0,1602	0,1198	0,1898
C5:0	0,0204	0,0201	0,0185	0,0183	0,0188	0,0010	0,0803	0,3653
C6:0	2,2513	2,1748	1,9073	1,7353	1,5770	0,1276	<0,0001	0,7427
C7:0	0,0168	0,0140	0,0123	0,0113	0,0105	0,0010	<0,0001	0,1172
C8:0	1,4713	1,3555	1,1163	0,9766	0,8857	0,0875	<0,0001	0,3339
C9:0	0,0204	0,0156	0,0126	0,0127	0,0117	0,0012	<0,0001	0,0076
C10:0	3,1593	2,6774	2,0533	1,8146	1,5848	0,2063	<0,0001	0,0515
C11:0	0,0704	0,0546	0,0408	0,0369	0,0321	0,0059	<0,0001	0,0136
C12:0	3,6389	2,8887	2,1906	1,9675	1,6890	0,2204	<0,0001	0,0066

**Tabela 3 (Continuação).** Perfil de ácidos graxos do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
C12:1 <i>cis</i> -9	0,1009	0,0794	0,0507	0,0480	0,0364	0,0064	<0,0001	0,0320
C14:0	11,0734	9,5893	7,9794	7,3498	6,5737	0,5637	<0,0001	0,1069
C14:0 <i>iso</i>	0,1160	0,1023	0,0890	0,0913	0,0745	0,0061	<0,0001	0,5758
C14:1 <i>cis</i> -9	1,0400	0,8188	0,6518	0,5534	0,4878	0,0739	<0,0001	0,0240
C15:0	1,0387	0,8699	0,7536	0,7121	0,6372	0,0304	<0,0001	0,0112
C15:0 <i>iso</i>	0,2718	0,2318	0,2023	0,1832	0,1520	0,0120	<0,0001	0,4209
C15:0 <i>anteiso</i>	0,5919	0,5183	0,4831	0,4400	0,3804	0,0236	<0,0001	0,7079
C16:0	31,5946	26,2426	23,1183	23,0576	21,4286	1,1107	<0,0001	0,0007
C16:0 <i>iso</i>	0,2248	0,1887	0,1559	0,1496	0,1219	0,0105	<0,0001	0,1858
C16:1 <i>trans</i> -9	0,0889	0,1520	0,2190	0,2691	0,3371	0,0291	<0,0001	0,9202
C16:1 <i>cis</i> -9	1,5601	1,1298	0,9953	0,9084	0,8847	0,1175	<0,0001	0,0147
C17:0	0,6489	0,5407	0,4830	0,4644	0,4005	0,0160	<0,0001	0,0109
C17:0 <i>iso</i>	0,4066	0,3674	0,3636	0,3451	0,3098	0,0171	<0,0001	0,8657
C17:0 <i>anteiso</i>	0,5592	0,4903	0,4840	0,4610	0,3442	0,0446	0,0016	0,4852
C17:1 <i>cis</i> -9	0,2496	0,1834	0,1719	0,1569	0,1329	0,0183	<0,0001	0,0091
C18:0	6,8171	10,6160	11,7213	13,3583	13,1279	0,8195	<0,0001	0,0027
C20:0	0,1308	0,1681	0,1753	0,1908	0,1836	0,0124	<0,0001	0,0019
C20:1	0,1263	0,1414	0,1460	0,1383	0,1461	0,0086	0,0157	0,1204
C20:2	0,0284	0,0268	0,0236	0,0224	0,0198	0,0015	<0,0001	1,0000
C20:3	0,0486	0,0492	0,0476	0,0477	0,0437	0,0031	0,0443	0,2475
C20:4	0,1947	0,1540	0,1273	0,1312	0,1048	0,0101	<0,0001	0,0284
C20:5	0,0140	0,0136	0,0122	0,0121	0,0120	0,0007	0,0004	0,8858
C21:0	0,0203	0,0200	0,0168	0,0178	0,0157	0,0014	0,0004	0,8604
C22:0	0,1207	0,1096	0,0927	0,0810	0,0799	0,0100	<0,0001	0,1267
C22:5	0,0331	0,0279	0,0246	0,0244	0,0201	0,0019	<0,0001	0,2958
C23:0	0,0234	0,0227	0,0185	0,0206	0,0193	0,0015	0,0257	0,3348
C24:0	0,0460	0,0399	0,0313	0,0312	0,0286	0,0033	<0,0001	0,0933

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>L: efeito linear; Q: efeito quadrático. Diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando P < 0,05.



Dentre os ácidos graxos C18 secretados no leite (Tabela 4), apenas o ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) foi reduzido linearmente em função dos tratamentos ( $P < 0,05$ ). As proporções de ácido esteárico (C18:0), oleico (C18:1 *cis*-9), C18:1 *cis*-12 e araquídico (C20:0) responderam de forma quadrática à suplementação com GIMEX ( $P < 0,05$ ).

Outros ácidos graxos C18, como os ácidos linoleico (18:2 *cis*-9, *cis*-12), vacênico (18:1 *trans*-11) e rumênico (CLA *cis*-9, *trans*-11) aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ) ou não foram afetados pelos tratamentos (C18:3 n-6 e C18:1 *cis*-11;  $P > 0,05$ ).

**Tabela 4.** Proporção de ácidos graxos C18 na gordura do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição de milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
C18:0	6,8171	10,6160	11,7213	13,3583	13,1279	0,8195	<0,0001	0,0027
C18:1 <i>trans</i> -4	0,0276	0,0448	0,0805	0,0883	0,1019	0,0091	<0,0001	0,1928
C18:1 <i>trans</i> -5	0,0228	0,0354	0,0614	0,0654	0,0779	0,0080	<0,0001	0,2399
C18:1 <i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -8	0,2269	0,4231	0,6045	0,6456	0,8283	0,0570	<0,0001	0,2384
C18:1 <i>trans</i> -9	0,1734	0,3130	0,4415	0,5258	0,6511	0,0517	<0,0001	0,6210
C18:1 <i>trans</i> -10	0,3365	0,7232	1,1874	1,3262	1,7667	0,1900	<0,0001	0,7287
C18:1 <i>trans</i> -11	1,3372	2,3243	3,5807	4,2577	5,3995	0,5546	<0,0001	0,8273
C18:1 <i>trans</i> -12	0,2138	0,4682	0,6863	0,7362	0,9160	0,0567	<0,0001	0,0310
C18:1 <i>trans</i> -13/ <i>trans</i> -14	0,5020	1,0286	1,1966	1,2566	1,3210	0,1690	0,0012	0,1103
C18:1 <i>trans</i> -16	0,1322	0,2573	0,3397	0,3700	0,3935	0,0319	<0,0001	0,0041
C18:1 <i>cis</i> -9	17,0081	19,9223	22,5621	21,9779	22,9734	1,1373	<0,0001	0,0079
C18:1 <i>cis</i> -11	0,7104	0,6519	0,7060	0,6928	0,6793	0,0472	0,7370	0,7622
C18:1 <i>cis</i> -12	0,1968	0,3647	0,4960	0,4331	0,4591	0,0394	<0,0001	0,0004
C18:1 <i>cis</i> -13	0,0891	0,0869	0,1094	0,1011	0,1195	0,0107	0,0110	0,7519
C18:1 <i>cis</i> -15 + 19:0	0,0494	0,0600	0,0613	0,0629	0,0709	0,0061	0,0109	0,8088
C18:2 <i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12	0,0213	0,0181	0,0246	0,0369	0,0297	0,0043	0,0041	0,8717
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12	0,0315	0,0530	0,0505	0,0487	0,0760	0,0080	<0,0001	0,5459
C18:2 n-6	2,8782	2,8602	2,9992	3,0359	3,0295	0,1223	0,0350	0,7591
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,7576	1,2476	1,9179	1,9106	2,6108	0,2649	<0,0001	0,7088
C18:2 <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	0,0200	0,0266	0,0351	0,0337	0,0403	0,0059	0,0028	0,5700

**Tabela 4 (Continuação).** Proporção de ácidos graxos C18 na gordura do leite (g/100 g de ácidos graxos totais) de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição de milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,0142	0,0192	0,0190	0,0197	0,0218	0,0021	0,0060	0,4464
C18:3 n-6	0,0492	0,0486	0,0419	0,0454	0,0442	0,0042	0,0900	0,3202
C18:3 n-3	0,1104	0,0952	0,0957	0,0877	0,0780	0,0073	0,0001	0,9021

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>L: efeito linear; Q: efeito quadrático. Diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

Os efeitos da adição de GIMEX sobre a concentração de ácidos C18 contribuíram significativamente para o aumento linear ou quadrático ( $P < 0,05$ ) da proporção de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados do leite (PUFA; Tabela 5). Por outro lado, o consumo de GIMEX reduziu linearmente ( $P < 0,05$ ) as proporções de ácidos graxos ômega-3 (n-3), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácidos graxos de cadeia média (AGCM), ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos de cadeia ímpar (AGCI), ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) e ácidos graxos de cadeia ímpar ramificada (AGCIR) na gordura do leite. A proporção de ácidos graxos ômega-6 (n-6) não foi afetada pelas dietas ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 5.** Somatório dos principais grupos de ácidos graxos, relações entre ácidos graxos e índices de atividade da enzima esteroil-CoA desaturase 1 (SCD-1) na gordura do leite de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição de milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
$\sum$ AG n-3	0,1577	0,1368	0,1325	0,1243	0,1096	0,0078	<0,0001	0,7042
$\sum$ AG n-6	3,1992	3,1387	2,2394	3,2822	3,2421	0,1265	0,3048	0,9479
$\sum$ 18:1 <i>trans</i>	2,9723	5,6185	8,1786	9,2714	11,4560	0,8666	<0,0001	0,2944
$\sum$ 18:1 <i>trans</i> - (AV+AR) <sup>3</sup>	0,8774	2,0466	2,6798	3,1034	3,4456	0,3297	<0,0001	0,1104
$\sum$ AGCC <sup>3</sup>	10,1904	9,6823	8,4889	7,7291	7,2003	0,5379	<0,0001	0,6466

**Tabela 5 (Continuação).** Somatório dos principais grupos de ácidos graxos, relações entre ácidos graxos e índices de atividade da enzima estearoil-CoA desaturase 1 (SCD-1) na gordura do leite de vacas recebendo dietas contendo níveis crescentes de GIMEX em substituição ao milho

Item	Nível de substituição do milho por GIMEX, %					EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	25	50	75	100		L	Q
$\Sigma$ AGCM <sup>3</sup>	46,3070	38,7203	33,2884	32,3748	29,6913	1,7512	<0,0001	0,0019
$\Sigma$ AGS <sup>3</sup>	67,7875	62,9044	57,0342	56,8236	52,9263	1,8028	<0,0001	0,0717
$\Sigma$ MUFA <sup>3</sup>	24,6638	29,5881	34,6628	34,9050	38,0316	1,5307	<0,0001	0,0229
$\Sigma$ MUFA <i>cis</i>	21,3750	23,6150	26,0620	25,1550	26,0400	1,1212	<0,0001	0,0160
$\Sigma$ MUFA <i>trans</i>	3,2900	5,9720	8,5980	9,7500	11,9930	0,8927	<0,0001	0,3146
$\Sigma$ PUFA <sup>3</sup>	4,2270	4,6760	5,4560	5,4950	6,1690	0,3233	<0,0001	0,6946
$\Sigma$ AGCI <sup>3</sup>	1,9463	1,6186	1,4122	1,3447	1,1938	0,0488	<0,0001	0,0034
$\Sigma$ AGCR <sup>3</sup>	2,2287	1,9492	1,8241	1,7135	1,4212	0,0744	<0,0001	0,9606
$\Sigma$ AGCIR <sup>3,4</sup>	4,1752	3,5681	3,2359	3,0584	2,6147	0,1142	<0,0001	0,1662
Razões entre AG								
C18:1 <i>trans</i> /C18:0	0,3848	0,5326	0,7070	0,6794	0,8989	0,0768	<0,0001	0,7984
C18:1 <i>trans</i> -11/C18:0	0,1729	0,2180	0,3064	0,3134	0,4208	0,0448	<0,0001	0,6996
n-6/n-3	20,5366	23,3382	24,8491	27,1740	29,7705	1,1662	<0,0001	0,9052
Índices de atividade da SCD-1 <sup>5</sup>								
SCD <sub>14</sub>	0,0858	0,0788	0,0761	0,0679	0,0688	0,0052	<0,0001	0,3058
SCD <sub>16</sub>	0,0457	0,0408	0,0414	0,0370	0,0392	0,0031	0,0177	0,2531
SCD <sub>18</sub>	0,7288	0,6520	0,6553	0,6247	0,6373	0,0199	0,0004	0,0254
SCD <sub>CLA</sub>	0,3710	0,3553	0,3469	0,3194	0,3281	0,0157	0,0024	0,4959

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

<sup>2</sup>L: efeito linear; Q: efeito quadrático. Diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

<sup>3</sup>AV = C18:1 *trans*-11; AR = CLA *cis*-9, *trans*-11; AGCC = ácidos graxos de cadeia curta; AGCM = ácidos graxos de cadeia média; AGS = ácidos graxos saturados; MUFA = ácidos graxos monoinsaturados; PUFA = ácidos graxos poli-insaturados; AGCI = ácidos graxos de cadeia ímpar; AGCR = ácidos graxos de cadeia ramificada; AGCIR = ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada.

<sup>4</sup>Soma de AG de cadeia ímpar e ramificada, exceto 13:0, 17:0 *iso* e 17:0 *anteiso*, pois estes co-eluíram com 12:1 *cis*-9, 16:1 *trans*-9 e 16:1 *cis*-9, respectivamente.

<sup>5</sup>Índices estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) calculados para os pares 14:1 *cis*-9/14:0 (SCD<sub>14</sub>), 16:1 *cis*-9/16:0 (SCD<sub>16</sub>), 18:1 *cis*-9/18:0 (SCD<sub>18</sub>) e CLA *cis*-9, *trans*-11/18:1 *trans*-11 (SCD<sub>CLA</sub>; KELSEY et al., 2003).

Houve alteração das razões entre os ácidos graxos C18:1 *trans* e esteárico (C18:1 *trans*/C18:0), entre os ácidos vacênico e esteárico (C18:1 *trans*-11/C18:0) e entre ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 (n-6/n-3), com aumento linear significativo ( $P < 0,0001$ ) em função da substituição de milho por gérmen (Tabela 5).

Os índices de atividade da SCD-1 para os pares C14:1 *cis*-9/C14:0 (SCD<sub>14</sub>), C16:1 *cis*-9/C16:0 (SCD<sub>16</sub>) e CLA *cis*-9, *trans*-11/C18:1 *trans*-11 foram reduzidos linearmente ( $P < 0,05$ ) em resposta à substituição de milho por GIMEX (Tabela 5). Por outro lado, o índice da SCD-1 para o par C18:1 *cis*-9/C18:0 (SCD<sub>18</sub>) apresentou comportamento quadrático ( $P = 0,0254$ ) em função dos tratamentos.

Os efeitos da suplementação lipídica sobre o desempenho e a composição do leite de vacas leiteiras são variáveis. Porém, apesar da divergência entre os resultados reportados na literatura, uma meta-análise realizada a partir de dados de 38 estudos envolvendo a suplementação de diferentes fontes lipídicas para vacas leiteiras identificou um padrão de aumento na produção de leite dos animais suplementados (RABIEE et al., 2012). Tais observações são consistentes com a hipótese inicial deste estudo de que a substituição de milho por GIMEX poderia elevar a produção de leite dos animais.

A resposta quadrática de desempenho aos níveis crescentes de gérmen se deu, provavelmente, por elevação da densidade energética da dieta resultante da adição de GIMEX. Segundo o NRC (2001), a produção de leite é frequentemente melhorada em resposta ao suprimento de energia adicional com inclusão de fontes de gordura, e por este motivo a suplementação lipídica é usada como forma de elevar a densidade energética da dieta e dar suporte à produção de leite (LOCK et al., 2013). No entanto, Palmquist (1983) ressaltou que a produção de leite responde à suplementação com gordura de modo curvilíneo, a exemplo do presente estudo. Comportamento semelhante foi encontrado por Abdelqader et al. (2009) e Neto et al. (2022) para vacas suplementadas com até 21% e 16%, respectivamente, de gérmen de milho integral na MS total da dieta.

A composição das dietas experimentais exibida na tabela 1 mostra que o teor de EE das dietas aumentou gradativamente com a inclusão de GIMEX, chegando a 7,4% MS. Este valor é muito próximo do limite máximo de consumo de EE recomendado para ruminantes (7,0 % MS; KOZLOSKI, 2016). É possível que a quantidade de lipídios ingerida nos tratamentos G75 e G100 tenha causado prejuízos à atividade da microbiota ruminal, à

digestão da fração fibrosa no rúmen e, conseqüentemente, à ingestão de alimentos, afetando a produção de leite.

De fato, verificou-se redução do consumo de MS em vacas alimentadas com nível moderados (G25 e G50) a altos (G75 e G100) de GIMEX (dados não-publicados). Neto et al. (2022) também observaram redução linear do consumo de MS quando o milho do concentrado foi integralmente substituído por GIMEX (até 16% da MS da dieta) em dieta contendo palma e cana fresca como volumosos. Vale mencionar, ainda, que o teor de EE das sobras no nível G100 foi duas vezes maior (15,4%) que o teor de EE da dieta originalmente ofertada (7,4%), indicando que a substituição total do milho por GIMEX ocasionava rejeição do concentrado pelos animais. Assim, o efeito do GIMEX sobre a aceitabilidade das dietas pode ter comprometido a ingestão de energia e a eficiência da produção de leite.

Uma das preocupações relacionadas à suplementação lipídica de vacas leiteiras é a síndrome de depressão de gordura do leite (DGL), na qual a produção e o teor de gordura do leite são reduzidos sem alterações da produção de leite (BAUMAN; GRIINARI, 2003). O efeito linear significativo dos tratamentos sobre o teor de gordura do leite (Tabela 2) mostra que níveis crescentes de substituição do milho por GIMEX beneficiam a secreção de gordura do leite no presente estudo.

Griinari et al. (1998) demonstraram que o teor de fibra e de carboidratos fermentescíveis na dieta basal são fatores determinantes para evitar a ocorrência de DGL ocasionada por inclusão de lipídios insaturados na dieta. No estudo de Neto et al. (2022) houve queda brusca da concentração de gordura no leite (de 3,49% para 2,23%) quando dietas à base de cana-de-açúcar *in natura*, palma forrageira e GIMEX foram ofertadas para vacas holandesas. Por outro lado, a utilização de bagaço-de-cana como fonte de FDNfe no presente estudo resultou em aumento da concentração de gordura no leite de vacas Girolando.

Não está claro se esta diferença entre resultados está relacionada a efeitos associativos adversos entre a cana *in natura*/bagaço, palma e GIMEX no rúmen, à quantidade de GIMEX suplementada (levemente menor no atual experimento), ao teor de FDNcp das dietas (10,9% maior no presente estudo) ou se a uma possível sensibilidade de vacas Holandesas à DGL (utilizadas no estudo de Neto et al., 2022) quando comparado a vacas mestiças. Porém, as observações de Griinari et al. (1998) e os valores percentuais de gordura no leite aqui encontrados apontam que a quantidade e efetividade da fibra presente no bagaço de cana

podem ter sido decisivas para a manutenção de uma concentração apropriada de gordura no leite. Além disso, uma das características peculiares da palma é sua alta concentração de carboidratos não-fibrosos na forma de pectina (PESSOA et al., 2020), o que favorece a fermentação acética e evita comprometimento do fornecimento de acetato e butirato para a síntese de gordura na glândula mamária (OLIVEIRA et al., 2007).

Com relação ao efeito do consumo de GIMEX sobre a concentração de proteína do leite, se pode presumir que a resposta quadrática na concentração de proteína seja meramente um efeito de diluição, já que a produção de leite também apresentou um comportamento quadrático. Este efeito é frequentemente observado em vacas leiteiras suplementadas com fontes lipídicas (KLIEM et al., 2013; MILLER et al., 2009; SOUZA et al., 2017; WU; HUBER, 1994; YLIOJA et al., 2018), pois a concentração de proteína no leite é resultado da produção de leite e proteína do leite (DEPETERS; CANT, 1992).

Em casos em que a densidade energética da dieta é elevada através da adição de lipídeos em detrimento de carboidratos, a produção de leite aumenta, mas a produção de proteína no leite é reduzida (DEPETERS; TAYLOR; BALDWIN, 1989). A substituição de fontes energéticas ricas em carboidratos não-fibrosos por fontes ricas em lipídeos pode resultar em deficiência de glicose para as bactérias ruminais, comprometendo a síntese de proteína microbiana e a disponibilidade de aminoácidos para síntese de proteína do leite (DUNKLEY; SMITH; FRANKE, 1977). Além disso, a suplementação lipídica pode comprometer diretamente o suprimento de aminoácidos para a síntese de proteína no leite na glândula mamária através do declínio no consumo de MS (WU; HUBER, 1994).

As alterações nas proporções dos diferentes ácidos graxos presentes no leite (Tabela 3) mostram que os ácidos graxos insaturados (ex.: C18:2 n-6 e, em menor proporção, C18:1 cis-9) presentes no GIMEX foram, em alguma extensão, disponibilizados para BH ruminal, favorecendo a secreção de ácidos graxos desejáveis no leite como o C18:1 trans-11 e o CLA cis-9, trans-11.

O decréscimo na concentração de ácidos graxos <C16 (Tabela 3) corrobora com os achados de Leskinen et al. (2019), que encontraram resultados semelhantes para os teores de ácidos graxos <C16 (exceto o somatório de C16:1 *trans*) em vacas suplementadas com óleo de girassol (50 g/kg da dieta) em dietas com baixa proporção de concentrado (35% da MS total). Estima-se que aproximadamente 90% do ácido mistiroleico (C14:1 *cis*-9) e entre 50 e

56% do ácido palmitoleico (C16:1 *cis*-9) presentes no leite bovino sejam advindos da síntese endógena pela esteroil-CoA dessaturase mamária (GLASSER et al., 2008). Assim, o decréscimo linear dos teores de ácidos graxos <C16 no leite indica que houve inibição da síntese endógena de ácidos graxos de cadeia curta e média em função do maior aporte dietético de ácidos graxos de cadeia longa (com destaque para C18:2 n-6) nos tratamentos com GIMEX. Este efeito é tipicamente observado em resposta ao incremento da concentração de ácidos graxos de cadeia longa na dieta (DOREA; ARMENTANO, 2017).

Os ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada (ACGIR), tais como C17:0 *iso* e C17:0 *anteiso*, são largamente provenientes da membrana lipídica de bactérias ruminais (BAS et al., 2003; VLAEMINK et al., 2006). Deste modo, os valores individuais e o somatório de ácidos graxos de cadeia ímpar e de cadeia ramificada dispostos nas Tabelas 3 e 5 indicam que a substituição do milho por GIMEX, nos níveis aqui adotados, inibe o crescimento da microbiota ruminal, mas não inibe completamente a atividade enzimática das bactérias atuantes na biohidrogenação; e/ou inibe a síntese *de novo* de ácidos graxos bacterianos por estimular a incorporação de lipídeos dietéticos (VLAEMINCK et al., 2006).

A relação entre crescimento microbiano e concentração bacteriana de ACGIR foi destacada por Vlaeminck et al. (2006), os quais encontraram relação fortemente negativa entre a taxa de crescimento bacteriano e a concentração bacteriana de C17:0 *iso*. Complementando este achado, Baumann et al. (2016) observaram que a infusão ruminal de óleo de soja reduziu a proporção de ACGIR no leite e sugeriram que a suplementação lipídica estimulou a captação de ácidos graxos dietéticos por bactérias ruminais. Além disso, é importante considerar que a redução da proporção de ACGIR na gordura do leite pode ser parcialmente atrelada a um possível efeito do GIMEX sobre protozoários, que são susceptíveis aos efeitos antimicrobianos dos lipídeos insaturados (YANG et al., 2009) e contém quantidades superiores de certos ácidos ramificados em relação a bactérias (OR-RASHID et al., 2007).

Os efeitos da adição de fontes lipídicas na dieta sobre as proporções de C18:0 (produto final da biohidrogenação ruminal) e de C18:1 *cis*-9 na gordura do leite (este último oriundo majoritariamente da síntese endógena mamária via ação da SCD1 sobre o C18:0) depende significativamente da proporção de ácidos graxos de cadeia longa no suplemento lipídico utilizado (STOFFEL; CRUMP; ARMENTANO, 2015) e da composição da dieta basal dos

animais (GAMA et al., 2021). Tendo em vista que o GIMEX contém, predominantemente, ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (Neto et al., 2022), seria esperado que sua adição progressiva à dieta resultasse em aumentos lineares nas proporções de C18:0 e C18:1 *cis*-9 na gordura do leite devido à maior disponibilidade de substratos para biohidrogenação ruminal e, conseqüentemente, maior formação de C18:0 no rúmen e aumento do seu suprimento para a glândula mamária. No entanto, observou-se um aumento quadrático na proporção de ambos os AG na gordura do leite dos animais (Tabela 4), resultado similar ao reportado por Neto et al. (2022). A explicação para este comportamento parece residir na presença da palma forrageira nas dietas de ambos os estudos.

Gama et al. (2021) relataram que a substituição parcial de silagem de sorgo por palma forrageira (*Opuntia stricta*) em dieta suplementada com óleo de soja (2,7% MS) promoveu uma redução significativa das proporções de C18:1 *cis*-9 e C18:0 na gordura do leite. Estes autores sugeriram que os compostos fenólicos presentes na palma (ALVES et al., 2017; IZUEGBUNA; OTONULA; BRADLEY, 2019) modulam a biohidrogenação ruminal por meio de alteração da composição da microbiota ruminal, de modo que maiores quantidades de C18:1 *trans*-11 deixam o rúmen em detrimento de C18:0 (VASTA et al., 2019). Este efeito é consistente com o aumento linear na relação C18:1 *trans*-11/C18:0 na gordura do leite dos animais no presente estudo (Tabela 5).

A síntese endógena mamária por ação da enzima SCD1, a partir do C18:1 *trans*-11 proveniente da BH ruminal, é responsável pela maior parte do CLA *cis*-9, *trans*-11 secretado no leite (LOOR et al., 2005). A redução linear do índice de atividade da SCD-1 para o par CLA *cis*-9, *trans*-11/C18:1 *trans*-11 (SCD<sub>CLA</sub>), observada em resposta à inclusão de gérmen nas dietas (Tabela 5), sugere, portanto, uma redução da síntese endógena de CLA *cis*-9, *trans*-11 com o aumento do nível de GIMEX na dieta. Assim como observado para SCD<sub>CLA</sub>, houve também redução linear no índice SCD<sub>14</sub>, considerado o melhor indicador da atividade da SCD1 na glândula mamária (referência). Este comportamento sugere que a suplementação da dieta com GIMEX possa ter, de fato, reduzido a atividade desta enzima na glândula mamária dos animais, embora Neto et al. (2022) tenham observado uma resposta quadrática sobre ambos os índices com a inclusão de GIMEX na dieta.

Outro importante isômero do CLA, CLA *trans*-10, *cis*-12, também teve sua proporção aumentada na gordura do leite em resposta ao GIMEX (Tabela 4). Maiores concentrações de



C18:1 *trans*-10 e de CLA *trans*-10, *cis*-12 são normalmente observadas no leite de vacas com DGL (CONTE et al., 2018), pois esta condição está geralmente associada a uma mudança da via normal de biohidrogenação ruminal para a formação de C18:1 *trans*-10 (ZENED et al., 2013) em detrimento de C18:1 *trans*-11 e aumento da proporção C18:1 *trans*-10/C18:1 *trans*-11 na gordura do leite para valores acima de 1, o que é comumente referido como *trans*-10 shift (DEWANCKELE et al., 2020). No entanto, embora significativa, a magnitude das alterações nas proporções de C18:1 *trans*-10 e de CLA *trans*-10, *cis*-12 em resposta aos níveis crescentes de GIMEX na dieta parece não ter sido suficiente para induzir a DGL, já que os animais suplementados com GIMEX apresentaram aumento linear do teor de gordura do leite (Tabela 2) o que, como discutido previamente, parece estar associado em grande parte à composição da dieta basal utilizada neste estudo.

A redução linear das proporções dos ácidos  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e docosapentaenoico (DPA, 22:5 n-3) na gordura do leite (Tabela 3) pode ser explicada pela extensiva biohidrogenação do C18:3 n-3 no rúmen (TORAL et al., 2018) e pelo efeito negativo do GIMEX sobre o consumo de MS (dados não apresentados), o que por sua vez é consistente com os baixíssimos teores de C18:3 n-3 encontrados na gordura do leite dos animais (0,08 a 0,11 g/100g de AG totais). Somado a isto, os volumosos utilizados nas dietas experimentais (especialmente o bagaço de cana-de-açúcar) tem potencial limitado para enriquecimento do leite com C18:3 n-3 (FREITAS et al., 2019; NETTO et al., 2022), diferentemente de outras forrageiras tropicais (LOPES et al., 2015). Freitas et al. (2019) encontraram valores de C18:3 n-3 tão baixos quanto os do presente estudo (em média 0,10 g/100g de AG) no leite de vacas mestiças consumindo de 30 a 54% de bagaço de cana na dieta. Para vacas alimentadas com cana in natura, palma e GIMEX, Netto et al. (2022) reportaram valores de C18:3 n-3 no leite entre 0,20 e 0,18 g/100g de AG.

O aumento do teor de C18:2 n-6 e a redução concomitante do teor de C18:3 n-3 na gordura do leite em resposta ao fornecimento de níveis crescentes de GIMEX resultou em aumento expressivo da relação n-6:n-3 no leite (Tabela 5). De acordo com Ribeiro et al. (2014), a relação n-6/n-3 é um parâmetro utilizado para avaliar a qualidade nutricional de gorduras, óleos e dietas; do ponto de vista da saúde humana, alimentos com menores valores de n-6/n-3 são mais desejáveis. No entanto, as menores proporções de AGS de cadeia média e o enriquecimento do leite com MUFA e PUFA nas dietas com GIMEX, em particular com

compostos bioativos como C18:1 *trans*-11 e CLA *cis*-9, *trans*-11, são considerados pontos positivos em se utilizar o GIMEX como alternativa ao milho na dieta de vacas leiteiras.

## 5. CONCLUSÃO

A substituição do milho por GIMEX pode ser recomendada para vacas Girolando produzindo 15 kg/dia de leite contendo 3,5% de gordura e alimentadas com palma forrageira. Esta medida possibilita maximizar a produção de leite e modificar o perfil de ácidos graxos de modo a reduzir o teor de ácidos graxos saturados e elevar o conteúdo de ácidos graxos insaturados desejáveis no leite, como CLA *cis*-9, *trans*-11, C18:1 *trans*-11. A substituição de milho por GIMEX pode se configurar como estratégia interessante para suplementação energética de rebanhos em sistemas de produção praticados na região semiárida nordestina.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELQADER, M. M. et al. Evaluation of corn germ from ethanol production as an alternative fat source in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1023-1037, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1207>.

ALVES, F. A., et al. Seasonal variability of phenolic compounds and antioxidant activity in prickly pear cladodes of *Opuntia* and *Nopalea* genres. **Food Science and Technology**, v.37, p.536–543, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-457x.19316>.

AOAC INTERNATIONAL. Official Method 989.05. Fat in milk. Modified Mojonnier ether extraction method. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg: AOAC Intl, 2012.

BAS, P. et al. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2940–2948, 2003.

BALDIN, M.; GAMA, M. A. S.; DRESCH, R.; HARVATINE, K. J.; OLIVEIRA, D. E. A rumen unprotected conjugated linoleic acid supplement inhibits milk fat synthesis and improves energy balance in lactating goats. **Journal of Animal Science**, v.91, p.3305-3314, 2013. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5766>

BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203-227, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>.

BAUMANN, E. et al. Effect of lipid supplementation on milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.6311–6323, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10746>.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v.70, p.31–48, 2001.

CONTE, G. et al. A canonical discriminant analysis to study the association between milk fatty acids of ruminal origin and milk fat depression in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.6497–6510, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13941>.

CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J. K. G.; KENNELLY, J. J.; GLIMM, D. R.; SORENSEN, B. M.; OKINE, E. K.; GOONEWARDENE, L. A.; WESELAKE, R. J. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3786–3801, 2007. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2006-698>

DEPETERS, E. J.; TAYLOR, S. J.; BALDWIN, R. L. Effect of dietary fat in isocaloric rations on the nitrogen content of milk from Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, 1989.

DEPETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2043-2070, 1992. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77964-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77964-8).

DEWANCKELE, L. et al. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. **Journal of Dairy Science**, v.103, p.7655–7681, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17662>.

DOREA, J. R. R.; ARMENTANO, L. E. Effects of common dietary fatty acids on milk yield and concentrations of fat and fatty acids in dairy cattle. **Animal Production Science**, v.57, p.2224–2236, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN17335>.

DUNKLEY, W. L.; SMITH, N. E.; FRANKE, A. A. Effects of Feeding Protected Tallow on Composition of Milk and Milk Fat. **Journal of Dairy Science**, v.60, p.1863-1869, 1977.

FERREIRA, M. A. et al. 2009. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.322-329, 2009. (supl. especial)

FREITAS, W. R. Milk fatty acid profile of dairy cows fed diets based on sugarcane bagasse in the Brazilian semiarid region. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.79, p.464-472, 2019.

GAMA, M. A. S. et al. Partially replacing sorghum silage with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes in a soybean oil-supplemented diet markedly increases trans-11 18:1, cis-9, trans-11 CLA and 18:2 n-6 contents in cow milk. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.00, p.1–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.13466>.

GLASSER, F.; FERLAY, A.; DOREAU, M.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; CHILLIARD, Y. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.2771–2785, 2008. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0383>

GRIINARI, J. M.; DWYER, D. A.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; PALMQUIST, D. L.; NURMELA, K. V. V. *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1251-1261, 1998. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75686-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75686-3).

IZUEGBUNA, O.; OTUNOLA, G.; BRADLEY, G. Chemical composition, antioxidant, antiinflammatory, and cytotoxic activities of *Opuntia stricta* cladodes. **PLoS One**, v.14, p.e0209682, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209682>.

KELSEY, J. A. et al. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2588–2597, 2003. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73854-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73854-5).

KLIEM, K. E. et al. Incremental effect of a calcium salt of cis-monounsaturated fatty acids supplement on milk fatty acid composition in cows fed maize silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.3211–3221, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6211>.

KLIEM, K.E. et al. Effect of a whey protein and rapeseed oil gel feed supplement on milk fatty acid composition of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.288–300, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15247>.

KOZLOSKI, G. V. Metabolismo microbiano ruminal. In: KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica de ruminantes**. 3 ed (reimpressão). Santa Maria: Ed. da UFSM, 2016. p.15-105.

LESKINEN, H. et al. Temporal changes in milk fatty acid composition during diet-induced milk fat depression in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.5148–5160, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15860>.

LOCK, A.L. et al. Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. **Journal of Dairy Science**, 96, 6650–6659, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6892>.

LOOR, J. J. et al. High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter trans and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3986–3999, 2005.

LOPES, F. C. F. et al. Lácteos naturalmente enriquecidos com ácidos graxos benéficos à saúde. In: MARTINS, P. do C. et al. **Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite: desafios e perspectivas**. Brasília: Embrapa, 2015. 434p.

Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128155/1/Cap-13-Lv-2015-Sustentabilidade-Lacteos.pdf>. Acesso em: 05 Set. 2022.

LUCAS, H.L. Extra-Period Latin-Square Change-Over Designs. **Journal of Dairy Science**, v. 40, n. 3, p. 225-239, 1957.

MILLER, W.F. et al. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3386–3391, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2118>.

MOALLEM, U. et al. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3192–3202, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2979>.

NETTO, A. J. Replacing corn with full-fat corn germ in a basal diet containing cactus (*Opuntia stricta*) cladodes and sugarcane as forage sources induces milk fat depression associated with the trans-10 shift in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.288, p.115289, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115289>.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington D.C.: National Academy Press, 2001.

OLIVEIRA, V. S. et al. Substituição total do milho e parcial do feno do capim-tifton por palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Produção, composição do leite e custos com alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.928-935, 2007.

OR-RASHID, M. M.; ODONGO, N. E.; MCBRIDE, B.W. Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. **Journal of Animal Science**, v.85, p.1228–1234, 2007. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-385>.

PALMQUIST, D. L. Use of fats in diets for lactating dairy cows. In: PROCEEDINGS OF THE 37th EASTER SCHOOL IN AGRICULTURE, 37., 1983, London. **Proceedings**. London: Cornell University, 1983. p.357–381.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Challenges with fats and fatty acid methods. **Journal of Animal Science**, v.81, p.3250–3254, 2003. DOI: <https://doi.org/10.2527/2003.81123250x>.

PESSOA, D. V. et al. Forage cactus of the genus *Opuntia* in different with the phenological phase: nutritional value. **Journal of Arid Environments**, v.181, p. 104243, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104243>.

RABIEE, A.R. et al. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.3225-3247, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4895>.

RIBEIRO, C. G. S. et al. Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.1513-1521, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-6886>.

RUPPERT, L. D. et al. Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.593–609, 2003.

SADEGHI, M. et al. Source of supplemental dietary fat interacts with relative proportion of T forage source in Holstein dairy cows: production responses, milk fat composition, and rumen fermentation. **Livestock Science**, v.227, p.143-152, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.016>.

SANTOS, P. **Em 2020, milho é vendido a ‘preço de soja’ e soja é vendida a ‘preço de boi’; entenda os motivos**. Disponível em: <<https://www.canalrural.com.br/noticias/milho-preco-de-soja-soja-preco-de-boi/>>. Acesso em: 10 jan. 2021.

SKLAN, D. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.

SOUZA, J.; BATISTEL, F.; SANTOS, F. A. P. Effect of sources of calcium salts of fatty acids on production, nutrient digestibility, energy balance, and carryover effects of early lactation grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.1072–1085, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11636>.

STOFFEL, C. M.; CRUMP, P. M.; ARMENTANO, L. E. Effect of dietary fatty acid supplements, varying in fatty acid composition, on milk fat secretion in dairy cattle fed diets supplemented to less than 3% total fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.431–442, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8328>.

SUKHIJA, P. S.; PALMQUIST, D. L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.1202–1206, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00084a019>.

TORAL, P. G. et al. In vitro ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic (EPA), docosapentaenoic (DPA), and docosahexaenoic acid (DHA) in cows and ewes: Intermediate metabolites and pathways. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.6109–6121, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14183>.

VASTA, V. et al. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.3781–3804, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>.

VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.389–417, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017>.

WOLFF, R. L.; BAYARD, C. C.; FABIEN, R. J. Evaluation of sequential methods for the determination of butterfat fatty acid composition with emphasis on trans-18:1 acids. Application to the study of seasonal variations in French butters. **Journal of AOCS**, v.72, p.1471–1483, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02577840>.

WU, Z.; HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. **Livestock Production Science**, v.39, p.141-155, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(94\)90180-5](https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90180-5).

YANG, S. L. et al. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. **Animal**, v.11, p.1562–1569, 2009. DOI: [doi:10.1017/S1751731109990462](https://doi.org/10.1017/S1751731109990462).

YLIOJA, C. M. et al. Effects of fat supplementation to diets high in nonforage fiber on production responses of midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.6066–6073, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13991>.

ZENED, A. et al. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a trans-11 to trans-10 shift of biohydrogenation. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.451–459, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds>.