

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

RODRIGO MACAGNAN

**CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* E INCLUSÃO DO FARELO DE SOJA
EXPELLER NA DIETA DE VACAS HOLANDESAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2018

RODRIGO MACAGNAN

**CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* E INCLUSÃO DO FARELO DE SOJA EXPELLER
NA DIETA DE VACAS HOLANDESAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientador: Dra. Ana Carolina Fluck
Co-orientadora: Emilyn Midori Maeda.

DOIS VIZINHOS

2018



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Gerência de Ensino e Pesquisa
Curso de Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

TCC

CINÉTICA RUMINAL *IN VITRO* E INCLUSÃO DO FARELO DE SOJA EXPELLER NA DIETA DE VACAS HOLANDESAS

Autor: Rodrigo Macagnan

Orientadora: Dr. Ana Carolina Fluck

Co-orientadora: Emilyn Midori Maeda.

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADO em 19 de novembro de 2018.

Prof^a. Dr^a. Magali Floriano da
Silveira

Mestranda Fabiana Hoffmann

Dr. Ana Carolina Fluck
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar forças para seguir, me encorajado para prosseguir com meus objetivos até o presente momento.

A minha família, por todo apoio nos momentos em que mais precisei, estavam ao meu lado me dando forças para alcançar meus sonhos.

Ao meu amor Nubia da Silva Oliveira que está ao meu lado durante toda esta caminhada, me incentivando e me ajudando incansavelmente.

A minha orientadora Ana Carolina Fluck, que não mediu forças para realização desde trabalho, me incentivando, aconselhando e passando seus conhecimentos, neste período de estudos.

A minha Co-orientadora Emilyn Midori Maeda, pela ajuda e incentivo na realização desde trabalho.

Para também a minha orientadora Lilian Regina Rothe Mayer, que desde o início da graduação acreditou em mim.

A todos os professores que contribuíram na minha formação.

Aos meus amigos da universidade, especialmente a: Joel, Jonas, Allan, Ana, Soraia, Samira, André, Laila, Luana, Taynara, Daniel.

A toda equipe da rações quality.

A Ademir Ambrosi Junior, por jamais ter me negado qualquer ajuda e a todo o conhecimento e experiência passada, sem sua ajuda este trabalho jamais iria acontecer.

A Dilencar Barichello por toda sua contribuição.

Aos companheiros de laboratório, Tiane, Renata, Fernanda, Olmar, Laura, Ronaldo, Roberta, Eduarda, Daniel.

Muito obrigado!

RESUMO

MACAGNAN, Rodrigo. Cinética ruminal *in vitro* e inclusão do farelo de soja expeller na dieta de vacas holandesas. 34f. Trabalho (Conclusão de Curso) - Programa de graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

O farelo de soja expeller pode ser utilizado como suplemento proteico na dieta de vacas de leite. Porém, ainda não estão elucidados seus efeitos na microbiota ruminal e qual nível tem efeito direto sobre a produção e qualidade do leite. Assim, o objetivo foi avaliar o impacto da inclusão do farelo de soja expeller na qualidade e produção do leite de vacas holandesas, assim como a cinética ruminal *in vitro* do farelo de ambos os farelos. A coleta de dados a campo foi realizada em uma propriedade particular, no interior do município de Dois Vizinhos- Paraná. Foram utilizadas 20 vacas holandesas, divididas em dois tratamentos: um com inclusão de farelo de soja expeller e o outro tratamento com a utilização de farelo de soja convencional. Foram avaliadas a produção do leite através de pesagem, assim como amostras, que foram coletadas nos dias 0,15,30 e 45 dias para determinação de proteína, gordura, nitrogênio ureico, lactose e sólidos totais. A cinética ruminal *in vitro* foi realizada no laboratório de parasitologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. As leituras de pressão e volume serão realizadas após 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48 e 72 horas, após os resultados obtidos, foi aplicado um modelo matemático para estimar a cinética ruminal *in vitro*. Os dados encontrados no presente trabalho foram submetidos a análise de variância pela ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste F pelo programa SAS. Para os resultados a campo nenhuma variável diferiu significativamente, não demonstrando diferença a inclusão do farelo de soja expeller na dieta de vacas holandesas. Já os resultados referentes a cinética para o farelo de soja convencional e o farelo de soja expeller para as respectivas variáveis, Vf_1 , K_1 , Vf_2 , K_2 , L , e os valores encontrados foram, 13,2045; 0,2506; 10,5911; 0,0318; 4,4108 para o farelo convencional, já para o farelo expeller foi 15,2635; 0,1724; 6,2376; 0,0317; 13,1548, respectivamente. O farelo de soja expeller apresenta uma degradação inferior comparada ao outro farelo. Não houve diferenças significativas para a produção de leite como para a produção de sólidos.

Palavras chaves: Degradabilidade proteica, fontes proteicas, gordura do leite e proteína não degradável no rúmen.

ABSTRACT

Macagnan, Rodrigo. Ruminant kinetic *in vitro* and inclusion of expeller soybean meal in Holstein cows feed. In 2018. 34f. TCC (Labor Course Completion) – Undergraduate degree in Animal Science, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

The expeller soybean bran can be utilized like a proteic supplement at dairy cows. However, this bran has not the effects elucidated of this in ruminal microbiota and what is the level that has direct effect on production and quality milk. So, the aim was to evaluate the *in vitro* ruminal kinetic of the conventional soybean meal and of protected soybean meal, and the impact of the inclusion of the both in milk's quality of Holstein cows. Some datas will be collect at field in a particular farm, in Dois Vizinhos, Paraná. Will be utilize 20 holstein cows, separate in two treatments, the first treatment will be with the inclusion of the protected soybean meal and the other treatment with conventional soybean meal. Will be evaluate the dairy production through of weighing, the samples will be gathering at days 0, 15, 30 e 45 days for determination of protein, fat, ureic nitrogen, lactose and solids. The kinetic will be realize at Laboratório de Parasitologia from the institution. The measurements of gas pressure and volume will be performed after 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48 and 72 hours. Then, in the results found will apply a mathematical model to estimate the ruminal kinetics *in vitro*. The dates found in this study will be subjected to analysis of variance, through ANOVA and the means will be compared by the F test, by the SAS program. For the results The field no variable differed significantly, showing no difference the inclusion of soybean meal expeller in the diet of Holstein cows. The results referring to the kinetics for conventional soybean meal and soybean meal expeller for the respective variables, VF1, K1, Vf2, K2, L, and the values found were, 13.2045; 0.2506; 10.5911; 0.0318; 4.4108 for the conventional bran, already for the Expeller Bran was 15.2635; 0.1724; 6.2376; 0.0317; 13.1548, respectively. The soybean meal expeller has a lower degradation compared to the other bran. There were no significant differences for milk production and solids production.

Key words: Milk fat, rumen Non-degradable Protein, Protein Degradability and Protein sources.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Curvas de degradação in vitro do farelo de soja expeller e farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.....	32
Figura 2 - Litros de leite produzidos pelos animais durante o período experimental. Dois Vizinhos, 2018.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 .. Demonstrativo da produção dos animais e dos dias de lactação dos animais (DEL) alimentados com farelo de soja expeller e farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.....	255
Tabela 2 Composição bromatológica do farelo de soja expeller e farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.....	256
Tabela 3 Composição da dieta em porcentagem em relação a matéria seca. Dois Vizinhos, 2018.....	266
Tabela 4 Composição bromatológica das dietas administradas para os animais. Dois Vizinhos, 2018.....	246
Tabela 5 <i>Parâmetros da cinética de degradação ruminal in vitro do farelo de soja convencional e farelo de soja expeller. Dois Vizinhos, 2018.</i>	30
Tabela 6 . exigência nutricionais dos animais para a produção desejada. Dois Vizinhos, 2018.	303
Tabela 7 . médias de produção, produção total do período experimental, e variáveis da qualidade do leite. Dois Vizinhos, 2018.....	Erro! Indicador não definido. 4

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivo específico	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Bovinocultura de leite	13
3.1.1 Bovinocultura de leite no Brasil	13
3.1.2 Bovinocultura de leite no Paraná	14
3.2 Dieta e qualidade do leite	15
3.3 Fontes protéicas	16
3.4 Farelo de soja expeller	19
3.5 Cinética ruminal <i>in vitro</i>	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Caracterização da propriedade	23
4.2 Avaliação <i>in vivo</i> da inclusão do farelo de soja expeller na produção e composição do leite de vacas holandesas	23
4.3 Metodologias para análises laboratoriais	26
4.4 Cinética ruminal <i>in vitro</i>	27
4.5 Análises estatísticas	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.2 Cinética <i>in vitro</i> do farelo de soja convencional e expeller	30
5.3 Avaliação <i>in vivo</i> da inclusão do farelo de soja expeller na produção e composição do leite de vacas holandesas	32
5.3.1 Escolha dos níveis de inclusão do farelo de soja expeller	32
5.3.2 Produção e qualidade do leite	34
6 CONCLUSÃO	38
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

INTRODUÇÃO

Recentemente, os laticínios passaram a adotar novas práticas, de acordo com as indicações da IN 62, priorizando a remuneração pela qualidade do leite. Através disso, os produtores e técnicos estão se conscientizando para melhorar a qualidade do mesmo com várias formas de manejo, tais como prover uma nutrição balanceada ao rebanho, boas práticas de ordenhas e higiene, assim como sanidade do rebanho.

O Paraná possui um rebanho bovino de 9.314.908 cabeças o que representa aproximadamente 4,3% do rebanho nacional (SEAB, 2017), sendo o segundo estado no ranking de produção de leiteira, produzindo em 2015 cerca de 4,6 bilhões de litros, e persistindo na segunda colocação até os dias atuais, somente atrás de Minas Gerais (PARANÁ,2016).

A proteína é o segundo nutriente em maior proporção no rúmen, somente atrás dos carboidratos. No rúmen, ela pode ser digerida e utilizada para síntese de proteína microbiana, produto de alta qualidade biológica, ou passar inerte pelo ataque dos micro-organismos ruminais e sofrer digestão química no abomaso.

Nos rebanhos de bovinos leiteiros de alta genética e produção, podem haver exigências maiores de aminoácidos, superiores a aqueles encontrados na proteína microbiana. A proteína de alguns alimentos tem valores biológico superiores em relação a proteína microbiana, porém, ao chegar no rúmen, esse nutriente é degradado e metabolizado majoritariamente pela microflora ruminal, sendo transformada e igualando a proteína de alimentos inferiores que passam pelo mesmo processo de digestão ruminal (ANDRIGUETTO, 1998) .

A energia é o principal nutriente para que os microrganismos ruminais apresentem crescimento máximo (BERAN et al., 2007). No entanto, devemos ter cuidados também com a proteína degradável no rúmen (PDR) pois o seu excesso é absorvido e levado através da corrente sanguínea para o fígado, onde a mesma será convertida em ureia. No entanto essa transformação apresenta gasto energético e após esse processo ela pode ser reabsorvida pela saliva ou ser excretada via urina. De acordo com Krolow et al. (2012), nos sistemas de balanceamento nutricional esse nutriente é o mais oneroso das dietas e níveis incorretos de seus teores leva a uma inviabilidade econômica dos custos com a alimentação.

Em busca de otimizar a passagem de proteína para o abomaso, uma solução seria a utilização do farelo de soja expeller na alimentação dos ruminantes. Contudo, o grão de soja, para tornar-se este farelo, deve passar por processos térmicos e de pressão para que ocorra a proteção e aumente sua porcentagem de PNDR (ALVES, 2001). Essa proteção é devida as ligações entre carboidratos- proteína, conhecida como reação de Maillard, deixando o alimento indisponível para o animal ou diminuindo sua degradabilidade ruminal. Porém, se não houver cuidados na sua fabricação, essa proteína não é aproveitada pelo animal e acaba sendo excretada.

Em vista disso, muitos produtos com alto teor de PNDR estão sendo testados em busca de melhorar a produção, qualidade do leite e desempenho animal. Assim, o objetivo foi avaliar a cinética ruminal *in vitro* deste farelo, assim como o impacto da inclusão na qualidade e produção do leite de vacas holandesas e compará-lo ao farelo de soja tradicional.

1. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo foi avaliar a cinética ruminal *in vitro* deste farelo, assim como o impacto da inclusão na qualidade e produção do leite de vacas holandesas e compará-lo ao farelo de soja tradicional.

2.2 Objetivo específico

- Avaliar a produção e qualidade do leite de vacas holandesas suplementadas com o farelo de soja expeller e farelo de soja convencional.
- Comparar os parâmetros da cinética ruminal *in vitro* do farelo de soja expeller e farelo de soja convencional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Bovinocultura de leite

A pecuária leiteira está percorrendo um caminho em que saímos de produções menores, de baixo investimento, e baixa produtividade, sendo características do sistema a pasto, direcionando-se para sistemas nos quais preconizam uma elevada produção e desempenho do animal (STOCK et al., 2008). Como exemplo temos as criações de animais em sistema de confinamento que reduz a mão de obra com manejo, aperfeiçoa a produção energéticas dos animais, e maior controle do ambiente térmico, assim gerando maior produtividade por animal (PERISSONOTTO, 2003).

2.1.1 Bovinocultura de leite no Brasil

A partir de 2009 a produção de leite no Brasil apresentou uma elevação até chegar em seu auge no ano de 2014, com a captação de leite fechando neste mesmo ano em 35 bilhões de litros captados, já em 2016, a quantidade de leite captada acabou diminuindo, devido a fatores como: custo e problemas climáticos em regiões produtoras (SEAB, 2017).

No início do século XXI, os quatros maiores estados produtores de leite no Brasil eram Minas Gerais, com uma produção equivalente a 30% do total produzido no Brasil, os demais são Goiás representando 10,84%, em seguida, Rio Grande do Sul com 10,35% e São Paulo apresentando 10,03% da produção nacional (GOMES, 2001).

Atualmente, estados da região sul tem despontado nesta atividade. Minas Gerais continua sendo o principal estado produtor, com cerca de 9,1 bilhão de litros, representando 26,1% da produção total, seguidos de Paraná e Rio Grande do Sul, estes dois estados juntos apresentam 26,5% do total produzido. Comparando as regiões, a região Sul foi a que apresentou produção superior das demais, seguida foi a região Sudeste (PARANÁ, 2016).

Uma característica predominante em todo o Brasil é a heterogeneidade da pecuária leiteira, isto é, podemos encontrar na mesma microrregião produtores com alto grau tecnológico e produtores sazonais, que possuem essa atividade como secundária, somente para sobrevivência (PEREIRA; ANDRADE, 2011).

O Brasil ocupa o quarto lugar no ranking de produção leiteira, atrás de EUA, Índia, China e em 5º colocação a Alemanha, porém apresenta uma produtividade baixa em relação aos demais colocados, entre os cinco primeiros no ranking só exibe maior produtividade quando comparado com a Índia. A baixa produtividade brasileira é atribuída a deficiência nutricional, genética das vacas que na maioria das vezes são cruzadas com zebu por conta das condições climáticas do país (FISCHER et al., 2012).

A crescente evolução da produção pode ser descrita como ocorreu no Paraná, onde os governos estadual e dos municípios, por meio de medidas fiscais e de incentivos financeiros, levou a atividade leiteira para regiões em que a mesma não era a principal atividade, buscando assim melhorar a produção do estado como um todo (CAPUCHO; PARRÉ, 2012).

3.1.2 Bovinocultura de leite no Paraná

O estado paranaense é um dos principais produtores de leite do Brasil, ocupando o 2º lugar dos estados mais produtores, ficando atrás somente de Minas Gerais, sua produção representa cerca de 13,5% de toda produção nacional (SEAB, 2017).

O Paraná possui a principal bacia leiteira do Brasil, sendo situada no município de Castro, neste local cerca de 70% dos produtores trabalham em sistemas de confinamento total ou semi-confinamento (SILVA et al., 2012).

O estado apresenta bem definida três principais regiões produtoras, sendo estas, região oeste, sudoeste e centro-oriental, ficando elas responsáveis por uma grande parcela de todo leite produzindo, representando em torno de 64% da produção leiteira estadual (CAPUCHO; PARRÉ., 2012).

Segundo Bazotti et al. (2012) a importância desta atividade regionalmente pode-se dizer que é heterogênea, isto é, na mesorregião centro-oriental, quase dois terços dos produtores, retiram cerca de 75% da sua receita exclusivamente do leite, enquanto que na região oeste e sudoeste somente um quarto da população consegue atingir essa proporção.

Porém, entre as três principais regiões produtoras, a região que mais produziu leite em 2015, foi a região oeste, seguida pela região sudoeste, enquanto o centro-

oriental ficou atrás das demais, as produções delas foram 1,120 bilhão, 1,099 bilhão e 660 milhões de litros, respectivamente (ZOCCAL, 2017).

O que difere as regiões oeste e sudoeste da região centro-oriental é a agricultura familiar (SCHMITZ & dos SANTOS, 2014). Segundo Bazotti et al. (2012), a atividade leiteira para essas regiões é uma forma de diversificação econômica das propriedades, enquanto no centro-oriental, os produtores são mais especializados e possui sistemas mais tecnificados de produção.

A região sudoeste é responsável por cerca de 24% de toda a produção paranaense, esta região apresentou um crescimento a partir do ano de 2000, quando diminuiu o número de vacas ordenhadas, mas aumentou a produção dos animais, representando assim, aumentando a produtividade dos animais (SCHMITZ & dos SANTOS, 2014).

3.2 Dieta e qualidade do leite

Almeida (2013) relata que os laticínios começaram a remunerar os produtores por qualidade do leite produzido e não somente pela quantidade. Com isso, os produtores estão buscando melhorar a qualidade do mesmo com várias formas de manejo entre eles podemos citar: uma nutrição balanceada e boas práticas de ordenha.

Conforme IN 62 do dia 11 de dezembro de 2011, deixa claro medidas e controle para a qualidade do leite, desde seu processo de retirada, estocagem, higiene e sanidade do rebanho. Por conta disso o produtor deve manter níveis mínimos dos constituintes do mesmo, seguindo assim os requisitos impostos pela normativa que são eles: gordura (min) 3%, proteína (min) 2,9%, CBT (max) 100 mil UFC/ml e CCS (max) 400 mil CS/ml. Sólidos totais (min) 8,4% (MAPA, 2011), esses requisitos são os principais e mais importantes.

O consumo alimentar dos animais é o principal motivo para aumentar produção, ou seja, quando maior a capacidade ingestiva dos animais, maior será a quantidade de nutrientes disponível para o animal, com isso ocorre o aumento da produção do seu produto, leite ou carne (NRC,2001). O consumo ele pode ser limitado das seguintes formas: físico e químicos, isto é, os físicos são limitados pela capacidade de ingestão de FDN do rúmen, já o químico ele pode ser expresso pela limitação no atendimento das exigências de energia (MERTENS, 1994).

Segundo Cordeiro (2007), relata em seu trabalho que níveis crescente de PB para vacas no terço inicial de lactação, aumentou o consumo médio de nutrientes e produção de leite, para o seu maior nível de inclusão, este de 16% de PB na MS, porém não apresentou diferença significativa para proteína, gordura e lactose do leite.

Conforme Dürr (2002), um dos principais constituintes do leite é a proteína, sendo que o principal fator que pode causar mudanças em suas concentrações, é a nutricional. A quantidade de energia na dieta é a principal causa de variação nas concentrações da proteína do leite. Oliveira et al. (2007), também relatam que a manipulação da dieta, com objetivo de alterar a produção e a composição do leite, tornou-se prática comum dentro da atividade leiteira, sendo que a produção de leite e o teor de gordura são os mais influenciados pela dieta.

Alberton et al. (2012) verificaram que a maior concentração de proteína no leite foi no inverno, enquanto a menor no verão, pode se dizer que animais em estresse térmico acabam consumindo menos alimentos, conseqüentemente não atingindo a sua exigência para uma boa síntese do leite, entretanto, a época do ano que apresentou maior concentração, possui alimentos com mais qualidade e ambiente que proporciona o maior consumo de alimento.

Outro nutriente de grande importância no leite é a gordura, o fator de principal interferência nas concentrações da mesma no leite é nutricional, a relação volumoso:concentrado interfere diretamente nas concentrações de gordura, com o aumento de concentrados nas dietas dos animais, aumenta a produção de propionato no rúmen, o qual é precursor de glicose que interfere na produção de leite e diminui a concentração de gordura. Já o aumento da disponibilidade de volumosos verifica-se maiores produções de ácido acético, este sendo precursor responsável por cerca de 50% gordura do leite (COLLA, 2009; ANDRIGUETTO, 1998).

A relação entre nutrição animal e qualidade do leite é muito forte, uma nutrição adequada é uma mistura complexa de carboidratos, proteínas, gorduras, minerais e vitaminas (ZATTA. et al., 2017). Fontes com alta PNDR são fornecidos para vacas em lactação no intuito de aumentar a produção de leite e sólidos dos animais (ALVES, 2001).

3.3 Fontes protéicas

A proteína é o segundo nutriente em maior proporção no rúmen, somente atrás dos carboidratos, sendo sua digestão de alta complexidade (ANDRADE-MONTEMAYOR et al., 2009). A proteína apresenta dois estágios de digestão, no qual ela pode ser digerida no rúmen formando a proteína microbiana ou passar sem sofrer alterações na sua composição, e ser digerida no abomaso, juntamente com a proteína microbiana (VAN SOEST, 1994; SANTIAGO et al., 2013).

Alguns problemas podem estar relacionados à qualidade da proteína bruta (PB), à sua deficiência ou pelo não atendimento das exigências dos microrganismos ruminais (PEGORARO et al., 2017). Segundo Van Soest, (1994) dietas que apresentam valores abaixo de 7% de proteína bruta podem afetar o desenvolvimento microbiano e a digestão ruminal, levando assim, a perda de peso dos animais, baixa produção de leite, e perdas reprodutivas.

A proteína é constituída dos seguintes compostos: nitrogênio não proteico (NNP), proteica verdadeira (PDR e PNDR) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), esta última fração da proteína está ligada a lignina, com isso ela se torna indigestível para animal (De MEDEIROS; MARINO, 2015).

Uma parcela da PB é o NNP sendo sua principal fonte a ureia, está é prontamente degradada no rúmen pelas enzimas uréase, fazendo assim liberação de amônia, muitas espécies bacterianas produzem uréase, mas a principal está presente no epitélio ruminal. Outras fontes de NNP são os nitratos e nitritos, encontrado em vários alimentos, o nitrato é convertido em nitrito, e em seguida são transformadas em amônia, mas para que isso aconteça no rúmen, precisa de uma fonte de carboidratos prontamente disponível, pois para transformação do nitrito em amônia, é necessária energia e se isso não ocorrer o nitrito pode intoxicar as bactérias e animal (KOZLOSKI, 2011).

Segundo o NRC (2001), a proteína microbiana apresenta 80% de sua constituição de proteína verdadeira, com digestibilidade em torno de 80%, sendo sua proteína metabolizável em 64%, a proteína endógena, é considerada em torno de 7%, sendo sua digestibilidade em 80%, já a PNDR é considera 100% de proteína verdadeira e sua digestibilidade variando em torno de 90 a 95 %.

A proteína microbiana é uma fonte de altíssima qualidade devido ao seu alto valor biológico (FELISBERTO et al., 2011; TEDESCHI et al., 2015), pois seu perfil de amino-ácidos é semelhante ao dos produtos oriundo dos ruminantes. Já outra fonte de amino-ácidos disponíveis é a PNDR, sendo que todos os alimentos possuem uma

parcela de PNDR, porém diferindo em qualidade e perfil de amino-ácidos (PEREIRA et al., 2005)

A proteína dietética que é fornecida para os animais pode ser dividida em duas frações, a proteína digerida no rúmen (PDR) ou proteína não digerida no rúmen (PNDR). Segundo Figueiredo et al. (2014), quantidades em excesso de PDR será excretada vias urina, fezes e leite. Já a PNDR deve-se observar a quantidade e a qualidade da mesma para que os aminoácidos essenciais sejam absorvidos no duodeno dos animais, e não pelos microrganismos existentes no rúmen. A disponibilidade de aminoácidos para absorção intestinal é fundamental para garantir a produtividade dos ruminantes (CALDAS NETO et al., 2008).

As exigências de proteína para os ruminantes são divididas em duas, isto é, PDR e PNDR. A PDR deve suprir as exigências da flora microbiana, utilizada para crescimento e produção de proteína microbiana, já a segunda, a PNDR é utilizada para completar a proteína que chega ao abomaso, para ser digerida e no duodeno absorvido os aminoácidos resultantes desta digestão (NRC, 2001).

Segundo o NRC (2001), recomenda-se teores de PDR e PNDR para vacas leiteiras que produzem 13 Kg de leite dia, respectivamente iguais á, 9,66 e 2,62%. Já Cordeira (2007), encontrou valores de 12,09 e 4,09 % para uma produção de 13,3 kg de leite.

Guimarães (2011), cita que os alimentos podem ser classificados em ricos, intermediários e pobres em PNDR. Dentre os alimentos ricos em PNDR cita-se: farinhas de peixes, carne e ossos, sangue, resíduos de cervejaria, farelo de soja tratado termicamente (farelo de soja expeller). O caroço de algodão é classificado como intermediário. Os alimentos pobres em PNDR são: farelos de soja, amendoim, canola, sendo esses últimos ricos em proteína degradável no rúmen.

Porém, conforme IN 8/ 2004 é proibido a utilização de quaisquer produtos de origem animal para a alimentação de animais ruminantes (MAPA, 2004), sendo assim os alimentos citados como fontes proteicas devem ser utilizadas somente as de origem vegetal (ANDRADE-MONTEMAYOR et al., 2009).

Fontes de fornecimento de proteína *by-pass* de qualidade, são especificamente a proteína da soja tratada termicamente e farinha de peixe, sendo esta última de utilização proibida no Brasil devido a IN 8/2004, no entanto, a proteína da soja é de fácil utilização e rica em lisina, este sendo um aminoácido limitante para a produção dos ruminantes (SANTOS e JUCHEM, 2000; ALVES, 2001).

O farelo de soja é a principal fonte proteica utilizada na fabricação de concentrados para ruminantes (GUIMARÃES, 2011), tanto por apresentar proteína de alto valor biológico como pela larga escala de produção no país (AZEVEDO et al., 2015).

Em virtude da proteína ser o ingrediente mais caro da dieta, a economia nos sistemas de produção animal é altamente dependente da eficiência de sua utilização. Nos sistemas de balanceamento nutricional esse nutriente é o mais oneroso das dietas e níveis incorretos de seus teores leva a uma inviabilidade econômica com os custos da alimentação (KROLOW et al. 2012; RUSSELL, 1992).

Com o aquecimento no momento de fabricação deste produto ocorre uma proteção sobre a degradabilidade pelo alimento das bactérias, com isso sucede um aumento da eficiência metabólica, pois a proteína que passa inerte pelo rúmen é aproveitada em torno de 98% no intestino dos animais (SILVA E THIAGO, 2003). Vários estudos estão buscando aperfeiçoar a proteção ruminal e a proteína de soja por ser uma fonte de alta qualidade, está sendo muito pesquisada. Alguns procedimentos já foram realizados, podemos citar o grão de soja tostado e o farelo de soja expeller, que visam melhorar o fluxo de aminoácidos essenciais no intestino dos animais (SANTOS e JUCHEM, 2000).

3.4 Farelo de soja expeller

A grande importância da suplementação de proteína *by-pass* é pelo fluxo de aminoácidos para os bovinos (ALVES, 2001). Segundo Andriguetto (1998) rebanhos de alta produção pode haver exigências maiores de aminoácidos, superiores a aqueles encontrados na proteína microbiana. Um fator a ser levado em consideração é a digestibilidade da proteína que atinge o duodeno sendo está de extrema importância pois contribui para que as exigências dos aminoácidos possam ser atendidas. (BRANCO et al., 2006).

A proteína da soja é uma boa fonte de lisina (FIGUEIREDO et al., 2014). Outro motivo para sua utilização é devido a proteína da soja apresentar alto valor biológico e fácil comercialização deste produto, devido a produção em larga escala da soja (AZEVEDO et al., 2015).

Uma das principais características do farelo de soja expeller é o alto teor de proteína não degradável no rúmen (PNDR), sendo considerado um alimento rico em

PNDR, (GUIMARÃES, 2011). De acordo com Silva (2016) o farelo de soja expeller é produzido a partir de um processamento em alta temperatura e pressão controlada. Para extração do óleo não são utilizados solventes, sendo sua extração mecânica.

Segundo NRC (2001), o alto teor de PNDR do farelo de soja expeller é devido a sua fabricação que ocorre em processos de altas temperaturas e pressão, podendo gerar ligações entre carboidratos- proteína, conhecida como reação de Maillard, deixando o alimento indisponível para o animal ou diminuindo sua digestibilidade ruminal, este procedimento faz com que a proteína *in natura* do grão de soja seja desnatura transformando-a em proteína não degradável no rúmen ou proteína de escape (ALVES, 2001).

Silva (2016), relata que com o aumento da proteção ruminal, a uma grande tendência em diminuir a digestibilidade intestinal, porém em seu estudo com farelos de soja expeller, os mesmos apresentaram digestibilidade intestinal em torno de 95%, demonstrando assim que não houve interferência do processamento sob a digestibilidade.

A suplementação de farelo de soja expeller busca além de melhorar a produção e qualidade do leite, diminuir os custos alimentares que são altos na produção leiteira de animais confinados. Conforme Silveira et al. (2011), estima-se que os custos variáveis com a alimentação do gado de leite giram em torno de 60 a 70%, sendo uma parcela bastante representativa do faturamento das fazendas.

Para melhorar o conhecimento sobre o farelo de soja expeller e outros alimentos com alto teor em PNDR que chegam ao mercado nacional e internacional, deve-se entender primeiro como os micro-organismos ruminais se comportam na presença deles. De acordo com Mizubuti et al. (2014), o método de produção de gás *in vitro* é uma das melhores formas de avaliar o comportamento dos micro-organismos sobre os alimentos, podendo ser avaliados os gases resultantes da fermentação ruminal, gás carbônico e metano, assim podendo ser verificado taxas de degradação dos alimentos e tempo de latência.

3.5 Cinética ruminal *in vitro*

A produção animal está passando por grande transformação, priorizando na parte nutricional um maior e mais profundo conhecimento sobre os alimentos utilizados nas dietas. Para ruminantes, é de suma importância conhecer as frações

degradáveis de carboidratos e proteínas, estimando as curvas de degradação do alimento a nível ruminal (PEREIRA et al. 2005; MUNIZ et al., 2012).

Segundo Detmann (2010), para um desempenho satisfatório, é necessária uma boa relação entre as bactérias e os ruminantes, esta relação recebe o nome de simbiose. Os mamíferos não apresentam enzimas que degradam CHO fibroso resultante de plantas forrageiras, com as bactérias habitando o rúmen do animal, as mesmas conseguem degradar os CHO fibrosos e dar nutrientes para o hospedeiro (MIZUBUTI et al., 2014). A evolução do trato gastrointestinal nos ruminantes proporcionou o desenvolvimento desta relação mutualística entre o animal ruminante e sua microbiota (MACKIE, 2002).

A microbiota ruminal, é basicamente formada por: bactérias, protozoários e fungos, sendo as bactérias em maior proporção (KOZLOSKI, 2011). Alguns fatores nutricionais podem interferir nos micro-organismos presente no rúmen, tais como a utilização de dietas contendo gramíneas tropicais em estágio de desenvolvimento avançado estas contendo valores de PB abaixo de 7%. De acordo com Van Soest (1994), valores abaixo de 7% de PB pode interferir o crescimento microbiano, digestão ruminal e conseqüentemente a formação de proteína microbiana.

Os micro-organismos ruminais que degradam carboidratos, podem ser divididos em dois tipos: os que degradam carboidratos não fibrosos (CNF) e os que degradam os carboidratos fibrosos (CF), as bactérias que degradam CF apresentam uma alta afinidade pelo seu substrato, porém seu crescimento é menor do que as bactérias amilolíticas (KOZLOSKI, 2011).

O conhecimento da degradabilidade ruminal das diferentes frações dos alimentos e, especialmente, da proteína é de suma importância (TONANI et al., 2001; VELOSO et al., 2006). A utilização da cinética de degradação pode ser muito importante para verificar a relação de degradação em CHO e proteínas no rúmen, para que possamos verificar a sincronização e as curvas de degradação do alimento, com isso, melhor aproveitamento dos compostos nitrogenados no rúmen evitando assim sua excreção e aumentando o crescimento microbiano (MIZUBUTI et al., 2014).

A cinética é descrita a partir de curvas de degradabilidade sobre as frações dos nutrientes, associando a taxa de digestão e o tempo em que o alimento permanece incubado (MERTENS, 1977). A técnica *in vitro* da cinética, é reproduzida em frascos onde se tenta simular o ambiente ruminal, sendo medidos os gases resultantes de sua fermentação que são: CO₂ e CH₄ (MOULD et al., 2005).

A cinética associada a produção de gás, é capaz de verificar se os alimentos e dietas possuem sincronização na degradação de carboidratos e proteínas, podendo assim maximizar o desempenho dos microrganismos ruminais e do seu hospedeiro (RUSSEL et al., 1992; DAVIES et al., 2000). Os carboidratos são os principais substratos para o crescimento microbiano e a proteína microbiana é a principal fonte de aminoácidos para os ruminantes, visto que, quaisquer variações na taxa de degradação e nas frações dos alimentos podem afetar significativamente a síntese de proteína microbiana, sendo assim, o fornecimento de aminoácidos para o animal (CABRAL et al., 2000).

A utilização da técnica *in vitro* gás possui várias vantagens sobre as outras técnicas *in vitro* de quantificação de resíduos, cita-se: a representatividade dos nutrientes fermentáveis, tratando-se dos solúveis que produzem gases e também os não solúveis aqueles que não são fermentáveis e não interferem na produção de gás, além de que a cinética pode ser realizada com grande número de amostras, em somente uma única incubação, e também por não necessitar de equipamentos caros e sofisticados, tornando-se uma técnica simples de ser realizada (GETACHEW, 2004; MALAFAIA et al., 1998).

3. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da propriedade

O presente trabalho foi realizado no município de Dois Vizinhos, caracterizado por apresentar clima subtropical úmido ou cfa e precipitação média em torno de 2000 a 2500 mm/ ano, apresentando altitude média de 556 metros acima do nível do mar, e temperaturas nos meses frios variando de -3° até 18°C e nos meses quentes em médias de 22°C (ALVARES et al., 2013)

O estudo foi realizado em uma propriedade rural particular, cuja atividade é bovinocultura de leite, que é desenvolvida há 15 anos na propriedade. A mesma possui 60 vacas leiteiras com média de produção de 30 litros por vacas, idade variando em torno de 2 a 8 anos e peso médio de 600 kg.

Os animais foram alojados em sistema de confinamento do tipo compost barn, com o pé direito em torno de 5 metros de altura, e uma área de cama em torno de 800 m², tendo uma proporção de 15 m²/animal. A sala de alimentação é separada do barracão, porém próxima, com distância, em torno de 5 metros com acessibilidade interrupta dos animais para a alimentação. Os bebedouros são localizados na proximidade da sala de alimentação, garantindo que os animais bebam água após realizar alimentação, prosseguindo caminho para a cama.

É realizado o revolvimento da cama duas vezes ao dia, para a secagem da mesma. A prática é feita com o auxílio de um escarificador, revirando em torno de 20 cm de cama, para a incorporação dos dejetos. Aproximadamente de 45 a 60 dias o produtor faz a compra de maravalha nova para reintegração desta sob áreas mais úmidas na cama do compost barn.

4.2 Avaliação *in vivo* da inclusão do farelo de soja expeller na produção e composição do leite de vacas holandesas

Todos os procedimentos do trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso com os animais (CEUA UTFPR, sob protocolo nº 2018-02).

O experimento contará com 24 animais e dois tratamentos, sendo que o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, os animais foram escolhidos por lactações, isto é, animais de segunda e terceira lactação e sua idade aproximadamente de 4 a 6 anos, assim deixando os tratamentos o mais homogêneo possível, para que não haja interferência de outros fatores sobre o trabalho

Os animais apresentaram uma média leiteira em torno de 40 litros por dia, peso vivo médio de 650 ± 50 kg. Os animais selecionados foram separados por tratamento, para que no momento da distribuição dos alimentos nos cochos estes não possam ingerir a dieta do outro tratamento, afim de evitar erros experimentais.

Tabela 1. Demonstrativo da produção dos animais e dos dias de lactação dos animais (DEL) alimentados com farelo de soja expeller e com o farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.

FSE			FSC		
Animal	Produção	DEL	Animal	Produção	DEL
99	30	43	7	42	40
397	38	60	693	55	21
529	44	44	105	45	78
159	46	22	683	35	70
698	42	65	4	42	68
160	36	71	72	35	197
398	38	56	674	50	37
3	44	155	10	35	174
695	33	15	467	32	10
435	42	145	600	36	142
61	38	120	853	30	36
103	42	115	12	34	16
MÉDIA	39	76		39	74

FSE- farelo de soja expeller, FSC- farelo de soja convencional.

. O tratamento 1 será composto de 12 animais com a inclusão de farelo de soja expeller constituído de 45% de PB e 65 % de PNDR, o segundo tratamento será composto do restante dos animais e irá testar a inclusão do farelo de soja convencional constituído de 45% de PB. As quantidades administradas de cada farelo nas dietas foram calculadas a partir dos níveis de garantia fornecidos pela empresa (Tabela 2), juntamente com os demais ingredientes.

Tabela 2. Composição bromatológica do farelo de soja expeller e farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.

	FSC	FSE
PB	44	45,66
FDA	9,24	13,74
FDN	25	20,55
PNDR	35	65
PDR	65	35
MS	88	92
EE	1,53	8,53

PB- Proteína bruta, FDA- Fibra detergente ácida, FDN - Fibra detergente neutra, PNDR- proteína não degradável no rúmen, PDR- proteína degradável no rúmen, MS- Matéria seca, EE- extrato etéreo, FSC- farelo de soja convencional, FSE- farelo de soja expeller

*com base no teor de MS

** Valor de PNDR e PDR expressos em porcentagem da PB

Ambas as dietas (Tabela 3) foram *ad libitum* e calculadas a partir das exigências estipuladas pelo NRC 2001.

Tabela 3. Composição da dieta em porcentagem em relação a matéria seca. Dois Vizinhos, 2018.

Dietas	FSC*	FSE*
Silagem	44	43
Farelo de soja convencional	16	10
Farelo de soja Expeller	0	7
Sal mineral	2	2
Tamponante	1	1
Ureia	1	1
Casca de soja	11	11
Grão úmido	19	19
Silagem de pré-secado	6	6

FSC- farelo de soja convencional, FSE- farelo de soja expeller.

*Em % da MS

As dietas foram fornecidas três vezes ao dia, sendo logo após as ordenhas. Além disso, tiveram como base volumoso e concentrado na proporção de 50:50. O volumoso foi composto por silagem de milho e silagem de pré-secado de capim vaqueiro (*Cynodon dactylon*) este estando em estágio vegetativo, enquanto o concentrado será a partir de Silagem de grão úmido, Farelo de soja e casca de soja. Neste caso, a administração do farelo de soja expeller e do farelo de soja convencional

se dará de forma exclusiva, isto é, vaca por vaca. Já a suplementação mineral foi disponibilizada na própria dieta e ajustada conforme as necessidades das vacas.

Tabela 4. Composição bromatológica das dietas administradas para os animais. Dois Vizinhos, 2018.

	Silagem de milho	Silagem Pré-secado	Casca	Grão úmido	FSE	FSC
MS *(%)	31	47,5	88	66	91	88
PB (%)	8,7	18,7	10,5	9,2	44,5	47,7
FDN (%)	39,4	59,09	67,07	8,53	33,25	29,09
FDA (%)	22,3	29,02	41,09	0,24	11,16	7,39
MM (%)	5	10	4	2	7	7
MO (%)	95	90	96	98	93	93
EE (%)	-	-	-	-	7,9	1,2

PB- Proteína bruta, FDA- Fibra detergente acida, FDN - Fibra detergente neutra, PNDR- proteína não degradável no rúmen, PDR- proteína degradável no rúmen, MS- Matéria seca, EE- extrato etéreo, FSC- farelo de soja convencional, FSE- farelo de soja expeller

*Valores estimados com base na MS.

O experimento aconteceu no inverno, com duração de 45 dias, sendo realizado um período de adaptação a mudança na dieta de 15 dias e após será realizado pesagem do leite diária e coleta de amostras para análise laboratoriais nos dias 0,15 e 30 respectivamente.

As amostras para análise da composição do leite foram coletadas em dois períodos do dia, na última ordenha do dia e primeira ordenha, para ser o mais homogêneo possível as amostras, em seguida elas foram encaminhadas para a Associação Paranaense de Criadores de Bovinos Leiteiros da Raça Holandesa para a determinação dos teores de proteína, gordura, sólidos totais, nitrogênio ureico e lactose.

4.3 Metodologias para análises laboratoriais

Foram realizadas análises laboratoriais para estimativa da composição nutricional dos alimentos, no laboratório de análise de alimentos da UTFPR, Campus Dois Vizinhos.

Foram coletadas amostras de todos os alimentos da dieta dos animais para a preparação das análises, as amostras foram ser pesadas e levadas à estufa de circulação forçada de ar à 55°C por 72 horas. Os teores de matéria seca (MS) foram determinados por secagem em estufa a 105°C durante 8 horas (Método 967.03;

AOAC, 1998) e cinzas por queima em mufla a 600°C durante 4 horas. O teor de matéria orgânica (MO) será calculado como $100 - MM$ (Método 942.05; AOAC, 1998).

A proteína bruta (PB) foi determinada indiretamente a partir do valor de nitrogênio total (N), através do método de Kjeldahl (Método 2001.11; AOAC, 2001). Após os valores encontrados serão determinados utilizando fator de correção do nitrogênio (6,25).

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) vão ser realizados conforme método de Van Soest et al. (1991), adaptado por Komarek et al. (1993) utilizando saquinhos de poliéster de 16 micras e o material submetido a temperatura de 110°C em autoclave por 40 minutos (Senger et al., 2008). Para FDN, foi incluída alfa-amilase (MERTENS, 2002).

A análise de extrato etéreo (EE) será realizada utilizando o equipamento semiautomático (ANKOM^{XT15} Extraction System, ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY, EUA) com filter bags próprias para análise.

4.4 Cinética ruminal *in vitro*

Para o ensaio da cinética de degradação *in vitro*, foram utilizadas três repetições laboratoriais que irão gerar três perfis de produção de gás durante 72 horas de incubação.

O preparo do meio de cultura será realizado de acordo com Goering e Van Soest (1970). O preparo do inóculo ruminal e da incubação seguirão as recomendações de Hall e Mertens, (2008).

O inóculo ruminal foi obtido de um bovino macho fistulado (Comissão de Ética no Uso de Animais –CEUA UTFPR, protocolo nº 2014-008), castrado, da raça holandesa, peso ± 650 kg, mantido em pastagem e suplementado durante, 7 dias, com 2 kg de concentrado previamente formulado, conforme recomendações de Abreu et al. (2014).

O equipamento para aferir a pressão e o volume de gás é semelhante ao descrito por Malafaia et al. (1999) com algumas modificações (Abreu *et al.*, 2014). As leituras de pressão e de volume foram realizadas nos tempos 1, 2, 3, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48 e 72, horas após o material incubado. As leituras de volume serão expressas em mL $0,1 \text{ g}^{-1}$ de MS incubada.

4.5 Análises estatísticas

Os dados dos efeitos dos farelos de soja sobre a produção e qualidade do leite serão realizados pelo teste de variância ANOVA e as médias serão comparadas pelo teste F e verificado se há diferença estatísticas pelo programa SAS. Sendo utilizado um modelo matemático para realização e interpretação dos dados estáticos, conforme o mesmo a seguir:

$$Y_i = \mu + \alpha_i + \varepsilon_i$$

Onde: (Y_i) é a média estimada referente aos tratamentos, (μ) condissera a média do tratamento, (α) será o efeito de tratamento e o (ε) é o erro experimental.

Já para obter-se os valores referentes a degradabilidade das bactérias sobre os produtos, será calculada a partir do modelo matemático M3, proposto por Zwietering et al. (1990) e Schofield et al. (1994), que consiste em considerar a fração de rápida digestão e lenta da digestão. Cujas formula é:

$$V_t = V_{f1}[1 - \exp(-k_1 t)] + V_{f2} \exp[-\exp[1 + k_2 e(L - t)]] + \varepsilon$$

Em que:

V_t (M (1) – (4)) é a produção cumulativa de gases em função do tempo;

V_f (M (1) – (2)) é o volume total de gás (ml g^{-1} de matéria orgânica degradada);

V_{f1} : máximo de volume produzido pela degradação da fração solúvel de rápida digestão;

V_{f2} : volume máximo de gás produzido pela degradação da parte potencialmente degradável insolúvel da fração lenta;

k_1 : Taxa específica do gás produzido pela degradação da fração solúvel de rápida digestão

k_2 : Taxa específica de produção de gás para degradação da parte potencialmente degradável insolúvel da fração lenta

t: tempo de incubação

exp.: base do logaritmo

L: tempo de latência (lag time)

ε : erro experimental associado a cada experimentação.

Sendo que estes cálculos serão realizados pelo Nlin do programa estatístico SAS.

1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 Cinética *in vitro* do farelo de soja convencional e expeller

Os farelos de soja apresentaram o Vf_1 maior do que o Vf_2 (Tabelas 5), isso significa maiores quantidades das frações de rápida degradação, isto é, carboidratos não fibrosos, o que demonstra maior degradação nas primeiras horas de incubação.

De acordo com Mizubuti et al. (2014), em trabalho avaliando cinética ruminal *in vitro* de diferentes fontes proteicas, a fonte de farelo de soja apresentou maior volume de degradação do Vf_2 que é a fração que determina os carboidratos fibrosos (CF), os resultados foram de 41,47 para o mesmo e para a fração Vf_1 foi de 36,7. Essa diferença em relação ao nosso trabalho se deve ao tempo de incubação diferente do que o autor citado, sendo que ele utilizou 144 horas e o nosso trabalho foi realizado 72 horas de incubação.

O farelo de soja expeller em relação ao convencional apresentou maior volume de degradação no Vf_1 , porém o k_1 foi menor que o farelo de soja convencional, representando uma menor taxa de degradação da fração de rápida degradação, podendo ser explicada pelo seu processo de fabricação.

Já o Vf_2 do farelo expeller é inferior, devido ao alto período de latência que o mesmo teve em relação ao farelo convencional, assim diminuiu o tempo de degradação das frações de lenta degradação, gerando menor volume de gás produzido.

Tabela 5. Parâmetros da cinética degradação ruminal *in vitro* do farelo de soja convencional e farelo de soja expeller. Dois Vizinhos, 2018.

Parâmetro	FSE		FSC	
	Estimado	Erro padrão	Estimado	Erro padrão
Vf_1	15,2635	7,845	13,2045	5,3159
K_1	0,1724	0,127	0,2506	0,0995
Vf_2	6,2376	8,7647	10,5911	5,4409
K_2	0,0317	0,0409	0,0318	0,0141
L	13,1548	34,9453	4,4108	11,8662

Vf_1 : volume máximo de gás produzido pela degradação da fração solúvel de rápida digestão (mL/0,1 g de MS); Vf_2 : volume máximo de gás produzido pela degradação da fração de lenta digestão (mL/0,1 g de MS); K_1 : taxa de degradação da fração solúvel de rápida digestão (expressos em h^{-1}); K_2 : taxa de degradação da fração de lenta digestão (expressos em h^{-1}); L: Tempo de latência (Horas).

Houve período de latência para os dois farelos avaliados, sendo que o farelo convencional apresentou um período de latência menor em relação ao expeller, o mesmo apresentou um período de 13,15 horas, isso demonstra que o processamento foi bem-sucedido, apresentando proteção ruminal e tornando esta proteína *by pass*.

Segundo Silva (2016), O farelo de soja expeller é fabricado em processos de altas temperaturas e pressão, podendo gerar ligações entre carboidratos- proteína, conhecida como reação de Maillard, deixando o alimento indisponível para o animal ou diminuindo sua degradabilidade ruminal,

Este procedimento faz com que a proteína *in natura* do grão de soja seja desnatura transformando-a em proteína não degradável no rúmen ou proteína de escape (ALVES, 2001). Esse procedimento, pode ter colaborado para o período de latência ser superior para o farelo de soja expeller.

Outro ponto muito importante nos parâmetros estudados é as taxas de degradação da fração de rápida degradação ou K_1 , que o farelo de soja expeller apresentou sua taxa inferior comparado ao farelo de soja convencional, este resultado é explicado pela proteção ruminal que ocorre com este produto, assim podemos observar que este alimento é menos degradável que o farelo de soja expeller

Os comportamentos das curvas de degradação dos farelos de soja foram sigmóides (Figura 1), onde seu crescimento exponencial máximo foi nas primeiras horas de incubação. Os maiores níveis de gases acumulados foram em torno de 36 horas, após esse período a produção de gases tendeu-se a manter estável, sendo sua produção de gás de 19,41 e 22,09 mL/0,1 g de MS, para o farelo de soja expeller e farelo de soja convencional, respectivamente.

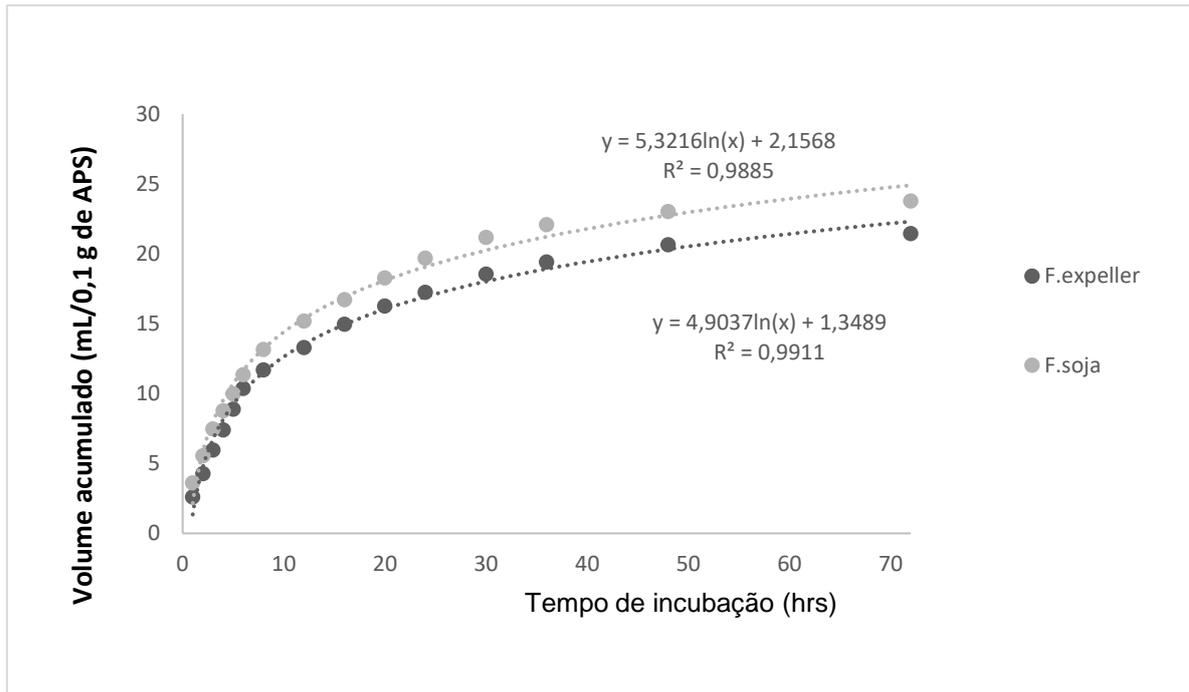


Figura 1-Curvas de degradação *in vitro* do farelo de soja expeller e farelo de soja convencional. Dois Vizinhos, 2018.

A maior parte da degradação proteica dos alimentos acontece nas primeiras horas de alimentação, principalmente quando são fornecidos alimentos concentrados, como exemplo o farelo de soja, isso é devido ao alto teor de frações A, B1 e B2 desses alimentos, sendo que essas frações são rapidamente degradadas no rúmen (PEGORARO et al.; 2017).

Outro ponto bastante importante é o alto teor de EE do farelo de soja expeller,(TABELA 2) desse modo a curva de degradação do mesmo é menor em relação ao outro, segundo Van Soest (1994), dietas contendo níveis acima de 7% na MS pode diminuir a degradação das bactérias e mutualmente a taxa de fermentação dos animais.

Segundo os parâmetros estudados, eles demonstraram que existe a proteção da proteína pelo ataque microbiano, sua curva de degradação se alterou devido ao alto teor de EE e pelo alto tempo de latência presente neste alimento.

5.3 Avaliação *in vivo* da inclusão do farelo de soja expeller na produção e composição do leite de vacas holandesas

5.3.1 Escolha dos níveis de inclusão do farelo de soja expeller

A dieta dos animais foi calculada a partir das recomendações do NRC 2001, onde as mesmas foram realizadas para os animais atingirem a produção de 45 litros por animal. Para que isso fosse possível calculamos as dietas para verificar qual seria a melhor nível ou quantidade a ser administradas para os animais.

Hernández et al. relatam que as exigências de proteína dos ruminantes são atendidas pela proteína microbiana sintetizada no rúmen e pela proteína dietética que escapa à degradação ruminal e pela proteína endógena reciclada. Sendo que a proteína cuja é fornecida aos animais pode ser dividida em duas: proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR). A PDR deve suprir as exigências da flora microbiana, utilizada para crescimento e produção de proteína microbiana, já a segunda, a PNDR é utilizada para completar a proteína que chega ao abomaso, para ser digerida e no duodeno absorvido os aminoácidos resultantes desta digestão (NRC, 2001).

O melhor nível de inclusão de farelo de soja expeller na dieta dos animais é em torno de 50% (TABELA 6), no nosso caso utilizamos a quantidade de 2 Kg por animal, melhor distribuição desde alimento para os animais.

Tabela 6. exigência nutricionais dos animais para a produção desejada. Dois Vizinhos, 2018.

Níveis (%)	Exigências nutricionais		
	PB (%)	PDR (%)	PNDR (%)
Exigências	15,91	10,59	5,1
100	16,37	9,54	6,83
75	16,04	9,56	6,48
50	16,54	10,79	5,78

Segundo Van Soest, (1994), dietas que apresentam valores abaixo de 7% de proteína bruta podem afetar o desenvolvimento microbiano e a digestão ruminal, levando assim, a perda de peso dos animais, baixa produção de leite, e perdas reprodutivas.

No presente trabalho nenhum nível atingiria valores menores de 7% da dieta dos animais, porém, os níveis 100 e 75 % não atenderiam as exigências de PDR, o que poderia levar a perda do crescimento microbiano e menores produções de proteína microbiana.

Desse modo, o melhor e o nível escolhido foi o de 50 % de inclusão de farelo de soja, sendo que este foi o nível que atende as exigências de PB, PDR e PNDR para a produção desejada.

5.3.2 Produção e qualidade do leite

As médias referentes a variável gordura (Tabela 7), não apresentaram diferença significativas ($P>0,05$). Pode ser observada uma queda das percentagens da variável do farelo de soja expeller (FSE) em relação ao farelo de soja convencional (FSC), podendo esse resultado estar ligado ao elevado teor de EE presente no farelo de soja expeller.

Vargas et al. (2002) descrevem que fontes de lipídeos insaturados estimulam as bactérias produtoras de proprionato, causando uma diminuição na produção de acetato, principal precursor da gordura do leite. Esse processo ocorre também com a relação volumoso: concentrado, quando a diminuição da parte volumosa da dieta e aumento de concentrados. Desse modo, o FSE elevou os níveis de EE na dieta o que resultou em diminuição dos teores de gordura, porém não foi significativo.

Tabela 71. médias de produção, produção total do período experimental, e variáveis da qualidade do leite. Dois Vizinhos, 2018.

	TRATAMENTOS			
	FSE	FSC	ERRO	P>F
RPG	1,1	0,96	0,053	0,063
GORD	2,99	3,44	0,168	0,066
PROT	3,15	3,11	0,064	0,64
LACT	4,75	4,75	0,054	0,91
SÓL	11,76	14,92	0,207	0,09
NUL	14,92	16,01	1,48	0,24
PROD	41,7	41,6	2,36	0,892

RPG: Relação proteína:gordura, GORD: Gordura, PROT: proteína, LACT: lactose, SÓL: Sólidos, NUL: Nitrogênio Ureico no leite, PROD: média de produção.

As médias de proteína do leite não diferiram significativamente ($P>0,05$). Esses resultados contradizem com distintas pesquisas. Mielke et al. (1980) encontraram queda na percentagem de proteína do leite em 0,2 % para vacas alimentadas com

farelo de soja tratado termicamente em relação ao farelo de soja convencional. Já Faldet e Satter (1991), encontram queda na produção de proteína em 0,5%.

De acordo com Oliveira et al. (2007), avaliando a composição química e física do leite em vacas suplementadas com farelos de alta PNDR, mas com sua fonte volumosa a base de silagem de milho, as percentagens de proteína foram muito variáveis e contraditória.

A RPG não apresentou diferença significativa para os tratamentos ($P>0,05$). Conforme Bach (2002) a relação proteína:gordura do leite pode ser um parâmetro ruminal simples, isto é, pode demonstrar possíveis problemas ruminais como acidose subclínica ou cetose subclínica, a partir da relação proteína:gordura encontrado nos teores do leite.

Os resultados de sólidos totais não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$), porém, apresentaram uma tendência a serem inferiores em virtude da queda da percentagem de gordura os sólidos totais acabaram reduzindo seus teores no tratamento FSE em relação ao FSC.

Segundo Alves (2001), fontes com alta PNDR são fornecidas para vacas em lactação no intuito de aumentar os sólidos totais dos animais pois aumentariam as concentrações de proteína e manteriam as de gordura. Nesse estudo foi observado o contrário, teores de gordura e sólidos diminuíram e a proteína se manteve.

Os resultados de lactose para os dois tratamentos foram iguais, sendo que as mesmas não se diferiram significativamente ($P>0,05$) Esse valor foi superior aos dados de Oliveira et al. (2007) os quais descrevem valores médios para os tratamentos com inclusão de farelo de soja tratado termicamente 4,40% de lactose.

A lactose apresenta papel fundamental para a produção de leite. Conforme Ribas et al. (2015), vacas com alta CCS apresentam danos teciduais o que compromete a síntese de lactose, consequentemente a produção leiteira, devido a lactose apresentar papel de regulação osmótica do leite.

A lactose pode ser um indicador de mastite das vacas, isso é, devido as lesões teciduais que a glândula da vaca sofre, a lactose acaba transpassando para a corrente sanguínea e sendo excretada na urina, assim diminuindo também as percentagens no leite, isso ocorre principalmente em animais que apresentam mastite clínica ou níveis de CCS alta (SHUSTER et al., 1991).

As médias para o nitrogênio ureico no leite (NUL) não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$), porém, os resultados do FSE foram inferiores ao FSC. O FSE,

por possuir um alta PNDR, proporciona maior aporte de aminoácidos no intestino delgado para que ocorra a digestão química neste órgão, com esse mecanismo ocorre uma diminuição na degradação ruminal e conseqüentemente redução nos níveis de amônia (ALVES, 2001).

A NUL é frequentemente utilizada para avaliação dos níveis de proteína e da sincronização da degradação dos carboidratos e da proteína no rúmen, seus níveis adequados são de 11 a 15 mg/dl (MOORE E VARGAS,1996 e NRC, 2001). Valores acima desses mencionados podem gerar problemas reprodutivos nos animais, como diminuição da fertilidade dos mesmos, devido ao aumento do pH do trato reprodutivo. (RAJALA-SCHULTZ et al. 2001).

Os resultados para a produção média de leite não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) Esses valores podem ser um reflexo de uma boa nutrição, pois as dietas foram calculadas para atender todas as exigências dos animais, em PB, PNDR, PDR, energia e os demais nutrientes.

De acordo com Guidi et al. (2007), as principais fontes de PNDR capazes de elevar a produção de leite de vacas de alta produção é a proteína da soja, porém, os principais resultados de aumento na produção é quando a fonte de volumoso é silagem de quê feno de alfava, em virtude que este volumoso apresenta baixo teor de PNDR.

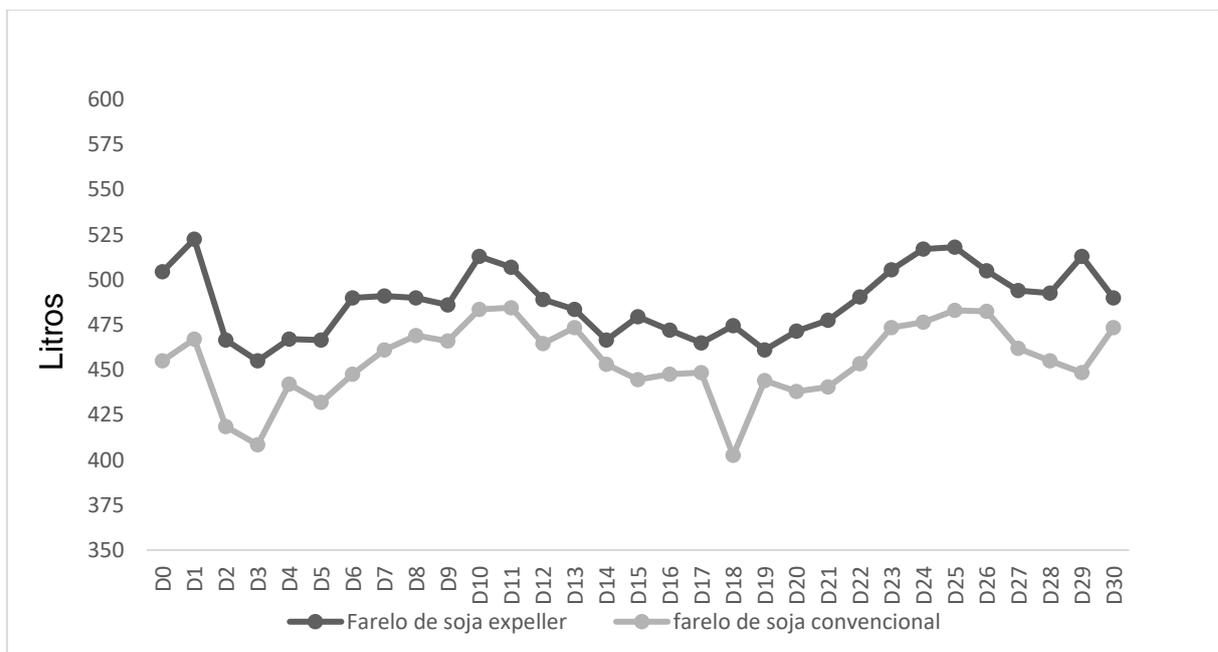


Figura 2- Litros de leite produzidos pelos animais durante o período experimental. Dois Vizinhos, 2018.

A suplementação de altos níveis de PNDR em vacas leiteiras podem não ser satisfatórios quando são alimentadas com fontes de carboidratos de alta degradação ruminal, como exemplo o grão úmido, pois ocorre desbalanço e não ocorre estímulo para a síntese de proteína microbiana, devido a baixa quantidade de proteína não degradável no rúmen. (SANTOS et al., 1998).

6 CONCLUSÃO

O FSE pelas variáveis avaliadas apresentou degradação na cinética ruminal *in vitro* inferior comparado ao FSC, assim demonstrando características de possuir uma proteína by-pass e alto teor de PNDR.

O FSE não apresentou nenhuma diferença significativas na produção e nas propriedades químicas do leite, porém devemos levar em considerações o sentido custo benefício da utilização desse alimento na dieta dos animais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M. L. C. et al. Clitoria ternatea L. as a potential high quality forage legume. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v. 27, n.02, p. 169-178, 2014.
- ANDRADE-MONTEMAYOR, H. et al. Ruminal fermentation modification of protein and carbohydrate by means of roasted and estimation of microbial protein synthesis. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.38, p.277-291, 2009.
- ANDRIGUETTO, J.M. et al. **Nutrição Animal**. Nobel. São Paulo. V. 2.
- ALBERTON, J. et al. ESTUDO DA QUALIDADE DO LEITE DE AMOSTRAS OBTIDAS DE TANQUES DE RESFRIAMENTO EM TRÊS REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zootecnia**. v. 15, n. 1, p. 5-12. 2012.
- ALMEIDA, T.V. **PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE CRU BOVINO: CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS**. universidade federal de goiás escola de veterinária e zootecnia programa de pós-graduação em Ciência Animal. Goiânia. 2013.
- ALVARES, C.A. et al. KÖPPEN'S CLIMATE CLASSIFICATION MAP FOR BRAZIL. **Meteorologische Zeitschrift**. v. 22, n. 6, p. 711-728. 2013.
- ALVES, M.F.C.C. **AVALIAÇÃO METABÓLICA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM GRÃO DE SOJA CRU E TRATADO COM CALOR**. 2001. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 16a 2nd ed. Maryland, 1998.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**, 17th Edition Property, 2001.
- AZEVEDO, H.O et al.. Ureia de liberação lenta em substituição ao farelo de soja na terminação de bovinos confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v.50, n.11, p.1079-1086, nov. 2015.
- BACH, A., Transtornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. In: **CURSO DE ESPECIALIZACIÓN**, 18., Barcelona, 2002. Anais ..., Barcelona, 2002. p.119-139.
- BACH, A. et al. Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science**. V.88, p.9–21, 2005.
- BAZOTTI et al. Caracterização Socioeconômica e Técnica da Atividade Leiteira do Paraná. **Revista Paranaense de Desenvolvimento**, n.123, p.213-234, 2012.

- BERAN, F.H.B et al. Avaliação da digestibilidade de nutrientes, em bovinos, de alguns alimentos concentrados pela técnica de três estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.130-137, 2007.
- BRANCO, A.F. et al. Digestibilidade intestinal da proteína de alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, p.1788-1795, 2006.
- BÜRGER, Peter Johann et al. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 225-235, 2000.
- CABRAL. L.S. et al. Frações de Carboidratos de Alimentos Volumosos e suas Taxas de Degradação Estimadas pela Técnica de Produção de Gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p. 2087-2098, 2000.
- CALDAS NETO, S.F. et al. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1094-1102, 2008.
- CAPUCHOT, O; PARRÉ, J.L. Produção Leiteira No Paraná: Um Estudo Considerando Os Efeitos Espaciais. **Informe Gepec**, Toledo, v. 16, nº 1, p. 112-127, 2012.
- COLLA, M. F. **VALOR DA HAPTOGLOBINA NO PLASMA COMPARADO COM A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE NO DIAGNÓSTICO DA MASTITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS**. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2009.
- CORDEIRO.C.F.A. consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana de açúcar e concentrados. **Revista brasileira de zootecnia**. V.36, nº 6, p. 2118-2126, 2007.
- DAVIES, Z. S. et al. An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.83, n.2000, p.205-221, 2000.
- DETMANN, E. Fibra na nutrição de novilhas leiteiras *In*: PEREIRA, E. S. *et al.* **Novilhas leiteiras**. Fortaleza: Graphiti gráfica e editora Ltda, 2010. cap. 8, p. 253-332.
- De MEDEIROS, R.S; MARINO, C.T. **Proteínas na nutrição de bovinos de corte**. Embrapa Gado de Corte-Capítulo em livro científico (ALICE), 2015.
- DÜRR, J. W. Atualização em pastagem e produção animal – ruminantes. Curso de extensão. Módulo 11. **Universidade de Passo Fundo**. Passo Fundo: UPF. 2002.
- EMBRAPA. Sistemas de produção de leite no Brasil. **Circular técnica**. Juiz de fora-MG. 2005.

FALDET, M.A.; SATTER, L.D. Feeding heattreated full fat soybeans to cows to early lactation, **Journal of Dairy Science**. v.74, p.3047-3054, 1991.

FELISBERTO, N.R.O et al. Effects of different sources of protein on digestive characteristics, microbial efficiency, and nutrient flow in dairy goats. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.40, n.10, p.2228-2234, 2011.

FIGUEIREDO, C.B. et.al. REFLEXÃO E IMPACTO DA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNA IDEAL NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS. **REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIM**. Vol.11. N° 04. p. 3586- 3594. 2014

FISCHER, A. et al. **PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE DE LEITE DO OESTE CATARINENSE**. RACE, Unoesc, v. 10, n. 2, p. 337-362, 2012.

GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis. **Agricultural handbook**, n.379. U.S.D.A., Washington, 1970.

GOMES, Sebastião Teixeira. **Evolução recente e perspectivas da produção de leite no Brasil**. O agronegócio do leite no Brasil. Brasília: Embrapa Gado de Leite, 2001.

GUIDI, Maria Teresa et al. Efeito de fontes e teores de proteína sobre digestibilidade de nutrientes e desempenho de vacas em lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 29, n. 3, 2007.

GUIMARÃES, T.P. exigências proteicas para bovinos de corte. **Universidade Federal de Goiás**. Seminário. Goiana. 2011.

GETACHEW, G. et al. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, v.111, p.41-56, 2004.

HALL, M.B e MERTENS, D.R. in vitro fermentation vessel type and method alter fiber digestibility estimates. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.1, p.301-307, 2008.

HERNANDEZ, LFI et al. Avaliação de dois métodos in vitro para determinar a cinética ruminal e a digestibilidade intestinal da proteína de vários alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 256-266, 2002.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3ª Ed. UFSM, Santa Maria, 212 p. 2011

KROLOW, R.H. et al. Composição do leite de vacas Holandesas em pastejo de azevém com a utilização do trevo branco como fonte proteica. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.64, n.5, p.1352-1359, 2012.

LALLES, J.P. et al. Mean retention time of dietary residues within the gastrointestinal tract of the young ruminant: a comparison of non-compartmental (algebraic) and

compartmental (modelling) estimation methods. **Animal Feed Science Technology**. v. 35. p.139-159. 1991.

MACKIE, R.I. Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. **Integrative and Comparative Biology**.v.42.p319-326. 2002.

MALAFAIA, P.A. M. et al. Cinética Ruminal de Alguns Alimentos Investigada por Técnicas Gravimétricas e Metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.27, n.2, p.370-380, 1998.

MAPA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 8. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. 25 de mar. 2004. Acesso em: 18 de março de 2018. disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-8-de-25-de-marco-de-2004.pdf/view>.

MAPA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. 29 dez. 2011.

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.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY. **EVALUATION AND UTILIZATION**. University of Nebraska. p.450-493. 1994

MERTENS, D. R. Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. **Federation Proceedings**, v.36, n.2, p.182-192, 1977.

MESQUITA, A. J.; NEVES, R. B. S.; BUENO, V. F. F.; OLIVEIRA, A. N. **A qualidade do leite na Região Centro Oeste e Norte do Brasil avaliada no Laboratório de Qualidade do leite – Goiânia – Goiás**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 3., 2008, Recife. Anais... Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, v. 1, p. 11-23.

MIELKE, C.D.; SCHINGOETHE, D.J. Heattreated soybeans for lactating cows, **Journal of Animal Science**., v.65, 1579-1585, 1980.

MIZUBUTI, I. Y. et al. Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de gás. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.1, p.2021-2028, 2011.

MIZUBUTI, Y.I et al. Cinética de degradação ruminal de alimentos proteicos pela técnica in vitro de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 555-566, 2014.

MUNIZ, E.B. et al. Cinética ruminal da fração fibrosa de volumosos para ruminantes. **Revista Ciência Agrônômica** v.43, n.3, p. 604-610. 2012.

MOULD, F.L. et al. *In vitro* microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, n.2005, p.31-50, 2005.

MOORE, D.A. Urea nitrogen testing in dairy cattle. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Whashington, D.C. National Academic Press. p.381. 2001.

NOCEK, J.E.; YOUNG, G.D. Ruminocentesis to evaluate the relationship milk fat-protein inversion and subclinical acidosis in commercial dairy cows. **Journal of Animal Science.**, v.76, suppl.1, p.297- 305, 1998.

PARANÁ. **GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ**. Agências de Notícias do Paraná. Disponível em: www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=91046. Acesso em: 04 de out de 2017.

PEDROSO, A.M. **NUTRIÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE**. Disponível em: <http://www.portaldbo.com.br/Mundo-do-Leite/Artigos/Nutricao-e-composicao-do-leite/21674>. Acesso em 5 de out. de 2017.

PEGORARO. M. et al. Avaliação nutricional e cinética de degradação in vitro de concentrados proteicos utilizados na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira Ciências da Veterinária**. v. 24, n. 1, p. 31-38. 2017.

PEREIRA. Marcos Neves; Andrade. Gustavo Augusto. **BOVINOCULTURA DE LEITE EM MINAS GERAIS**. 2011.

PEREIRA et al. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes. **Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal**. Semin: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 1, p. 125-134, jan./mar. 2005.

PERISSONOTTO, Mauricio. **Avaliação da eficiência produtiva e energética de sistemas de climatização em galpões tipo “FREETALL” para confinamento de gado leiteiro**. Piracicaba- SP. 2003.

PIMENTEL, P. G. et al. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 4, p. 959-966, 2012.

OLIVEIRA.M.A et al. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2007.

RAJALA-SCHULTZ, P.J. et al. association between milk urea nitrogen and fertility in ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.482-489, 2001.

RIBAS N.P. et al. PORCENTAGEM DE LACTOSE EM AMOSTRAS DE LEITE DE TANQUE NO ESTADO DO PARANÁ. **Archives of Veterinary Science**. v.20, n.3, p.48-58, 2015.

RUSSELL, J.B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I - Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3551-3561, 1992.

SANTIAGO. A.M.F. et al. Urea in sugarcane-based diets for dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.42, n.6, p.456-462, 2013.

SANTOS, F.A.P.; JUCHEM, S.O. Nutrição de vacas de alta produção de leite. **Simpósio internacional sobre produção de bovinos leiteiros**. Carambeí- Paraná. Ago.2000.

SANTOS, F.A.P. et al. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. **Journal of Animal Science** Savoy, v. 81, n. 12, p. 3182-3213, 1998.

SCHMITZ, A. M., & dos Santos, R. A. A produção de leite na agricultura familiar do Sudoeste do Paraná e a participação das mulheres no processo produtivo. **Terr@Plural**, Ponta Grossa, v.7, n.2, p. 339-355, 2013.

SCHOFIELD, P; PELL, A.N. Measurement and kinetic-analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3455-3463, 1994.

SEAB. **SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO**. NÚMEROS DA PECUÁRIA PARANAENSE, Ano 2017. Acesso em 04 de out.de 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/nppr.pdf>.

SILVA, H.A et al. **Viabilidade econômica da produção de novilhas leiteiras a pasto em sistemas de integração lavoura-pecuária**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 47, n. 6, p. 745-753, 2012.

SILVA, M.C. DEGRADAÇÃO PROTEICA RUMINAL *IN SITU* E DIGESTIBILIDADE INTESTINAL *IN VITRO* DE ALIMENTOS PROTEICOS. **Universidade Federal de Viçosa**.2016.

SILVEIRA, I.D et al. Simulação da rentabilidade e viabilidade econômica de um modelo de produção de leite em free-stall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.392-398, 2011.

SHUSTER, D. E. et al. Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 11, p. 3763-3774, 1991.

STOCK L.A, et al. Sistemas de produção e sua representatividade na produção de leite no Brasil. **Reunião da Associação Latino-americana de Produção Animal**, Cuzco. Anais, ALPA. p.17-18. 2008.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Rumen**, 2ndedition. Cornell University. p. 4. 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON J.B.; LEWIS B.A.. **Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.** Journal of Dairy Science, v.74, p.3583–3597, 1991.

VARGAS, Luiz Henrique et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

TEDESCHI, L.O. et al. Models of protein and amino acid requirements for cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v 44 p.109-132, 2015.

THIAGO, Luiz Roberto Lopes de S.; SILVA, José Marqui da; **Soja na Alimentação de Bovinos.** Campo Grande, MS Dezembro, 2003. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/Sojanaalimentacaodebovinos.pdf>. Acesso em: 01/04/2018.

TONANI, F.L.; RUGGIERI, A.C.; QUEIROZ, A.C. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e da fibra em detergente neutro em silagens de híbridos de sorgo colhidos em diferentes épocas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.1, p.100-104, 2001.

THIAGO, L.; **Soja na Alimentação de Bovinos.** Campo Grande-MS. dezembro, 2003. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/Sojanaalimentacaodbovinos.pdf>. Acesso em: 10/03/2018.

VELOSO, C.M. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da proteína bruta de folhas e folíolos de forrageiras tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.35, n.2, p.613-617, 2006.

ZWIETERING, M.H. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied Environmental Microbiology.** v.56, n.6, p.1875-1881, 1990.

ZATTA, M.R. Suplementação com gordura protegida de óleo de palma na alimentação de vacas leiteiras. **Revista electrónica de Veterinaria.** V.18 N° 9. 2017.

ZOCCAL, R. **Paraná: um estado cada vez mais leiteiro. Balde Branco.** Disponível em: <http://www.baldebranco.com.br/parana-um-estado-cada-vez-mais-leiteiro/>. Acesso em: 15 de fev. 2018.