

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**UTILIZAÇÃO DO GRÃO TOSTADO DE SOJA (*Glycine max.* (L) Merrill) NA  
ALIMENTAÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO**

**Médico Veterinário Nelcy Madruga de Carvalho  
Mestre em Zootecnia (UFSM)**

**Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do Grau de  
Doutor em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal**

**Porto Alegre (RS), Brasil  
Agosto, 2001**

## AGRADECIMENTOS

### **A DEUS.**

A minha esposa e filhos, pela compreensão e incentivo.

Ao Prof. Paulo Roberto Frenzel Mühlbach, pela orientação serena e democrática, pelo apoio nos momentos de dificuldades e pelos conhecimentos transmitidos durante o Curso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia da UFRGS que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. José Henrique Souza da Silva, do Departamento de Zootecnia da UFSM, pelo auxílio e orientação nas análises estatísticas.

Ao colega e amigo, Prof. Júlio Viégas, retribuindo a sua gentileza.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade concedida e confiança depositada; à CAPES, pelo apoio através da bolsa de estudos; à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Elegê Alimentos, pelos recursos financeiros para a implantação e condução do Projeto de Pesquisa.

Ao amigo e colega Zootecnista Luiz Fernando Aguirre, que tornou possível a realização do trabalho de campo; ao Médico Veterinário Jarbas Sperotto, seu progenitor Sr. Celso Sperotto e seus funcionários, pela sua decisiva cooperação ao ceder as instalações de sua propriedade para a instalação e condução do ensaio de campo. À Cooperativa de Máquinas Celeiro Ltda (COMACEL), na pessoa do seu presidente Mário Sperotto e à Cooperativa Triticola Panambi Ltda (COTRIPAL), nas pessoas dos Srs. Luiz Carlos Rodrigues e Eugênio Braun, pelo apoio logístico.

Aos professores Ari Roque Adams e Luiz Richer, do Colégio Evangélico de Panambi, pelo entusiasmo com que abraçaram a idéia e pelo trabalho desenvolvido. Ao Sr. Helio Weiller e seus filhos Marcos e Maurício, da Metalúrgica Industrial Helio Weiller, pela atenção séria, amigável e competente com que participaram no desenvolvimento deste projeto.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1. O grão de soja .....	4
2.2. A proteína na nutrição de ruminantes .....	8
2.3. A importância da proteína não degradável no rúmen, no balanceamento das dietas para ruminantes.....	11
2.4. Métodos de proteção da proteína .....	18
2.5. Tratamento térmico do grão de soja .....	20
2.6. Avaliação dos efeitos do tratamento térmico .....	26
2.6.1. Métodos “in vitro” .....	28
2.6.1.1. Solubilidade do nitrogênio e fracionamento da proteína.....	28
2.6.1.2. Método das enzimas proteolíticas.....	30
2.6.1.3. A liberação da amônia “in vitro”.....	32
2.6.1.4. Análise Eletroforética (SDS-PAGE) .....	35
2.6.1.5. NIRS (Near infrared reflectance spectroscopy) .....	36
2.6.1.6. Fermentadores de cultura contínuos .....	37
2.6.2. Teste “in situ” de degradabilidade de fontes protéicas .....	38
2.6.3. A técnica “in vitro” de estimativa da reversão da ação “by-pass” e da digestibilidade intestinal.....	41
2.7. Efeitos do tratamento térmico do grão de soja sobre aspectos produtivos.....	43
2.7.1. Animais em crescimento .....	43
2.7.2. Animais em lactação .....	45
2.8. A proteína da dieta e os níveis de uréia no sangue e no leite ...	49
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	53
3.1. Experimento 1.....	53
3.1.1. Tratamento dos grãos de soja .....	53
3.1.1.1. Matéria prima, local de tostagem e equipamento .....	53
3.1.1.2. Tostagem dos grãos de soja .....	54
3.1.2. Tratamentos .....	54
3.1.3. Local .....	56
3.1.4. Degradabilidade “in situ” da proteína do grão de soja cru e tostado.....	56
3.1.4.1. Animal utilizado .....	56
3.1.4.2. Procedimentos experimentais .....	56
3.1.5. Digestibilidade intestinal “in vitro” .....	57
3.1.5.1. Local .....	57
3.1.5.2. Procedimentos experimentais .....	58
3.1.6. Delineamento experimental e análise estatística .....	59

	Página
3.2. Experimento 2.....	60
3.2.1. Local do experimento .....	60
3.2.2. Instalações .....	60
3.2.2.1. Estábulo .....	60
3.2.2.2. Área anexa .....	61
3.2.2.3. Piquetes .....	61
3.2.2.4. Silo .....	61
3.2.2.5. Sala de ordenha .....	61
3.2.2.6. Depósito .....	62
3.2.2.7. Laboratórios .....	62
3.2.3. Animais experimentais .....	62
3.2.4. Manejo experimental .....	63
3.2.5. Tratamentos e delineamento experimental .....	65
3.2.6. Duração do experimento .....	68
3.2.7. Coleta de dados... ..	68
3.2.7.1. Alimentos e sobras .....	68
3.2.7.2. Produção de leite .....	69
3.2.7.3. Composição do leite .....	69
3.2.7.4. Parâmetro sangüíneo .....	70
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
4.1. Experimento 1.....	71
4.1.1. Degradação ruminal da proteína do grão de soja cru e tostado, avaliada pelo teste “in situ”, com incubação de 16 horas.....	71
4.1.2. Digestibilidade intestinal enzimática “in vitro” da PNDR do grão de soja submetido a tratamento térmico.....	78
4.2. Experimento 2.....	85
4.2.1. Consumo de matéria seca, proteína bruta e produção de leite.....	85
4.2.2. Produção de gordura, proteína, lactose e sólidos totais .....	102
4.2.3. Teores de nitrogênio uréico no plasma sangüíneo (NUS) e no leite (NUL).....	109
5. CONCLUSÕES .....	117
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	118
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	120
8. APÊNDICES .....	133

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1- Caracterização dos tratamentos a que foram submetidos os grãos de soja utilizados no experimento 1.....	55
2- Degradação ruminal da proteína do grão de soja submetido a diferentes tratamentos térmicos, expressa em termos de % de PB não degradada, avaliada através do teste “in situ” .....	71
3- Valores da digestibilidade intestinal “in vitro”, expressos em termos percentuais, da proteína não degradável no rúmen (PNDR), do grão de soja submetido a diferentes graus de tratamento térmico.....	79
4- Composição e densidade de nutrientes das dietas fornecidas às vacas, durante o período experimental (base matéria seca).....	86
5- Médias dos consumos diários de matéria seca (CMS) e proteína bruta (CPB); das produções diárias de leite total (PLT) e corrigido para 4% de gordura (PLT-4%); por kg de matéria seca (LKMS) e por kg de proteína bruta (LKPB) consumidos, dos animais recebendo quatro diferentes fontes protéicas na dieta .....	88
6- Médias dos teores (%) e de produção (kg) de gordura (GORD), proteína bruta (PROT), proteína verdadeira (PROT VER), lactose (LACT) e sólidos totais (SLS TOT) no leite produzido por vacas recebendo quatro diferentes fontes protéicas na dieta.....	103
7- Médias dos teores de nitrogênio uréico no plasma sanguíneo (NUS) e leite (NUL), de vacas recebendo quatro diferentes fontes protéicas na dieta, em mg/dL.....	109

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

°C	Graus centígrados
%	Por cento
/	Por
<	Menor do que
>	Maior do que
A.C.	Antes de Cristo
AGV	Ácidos graxos voláteis
ALIM	Alimento
amost.	Amostra
ANIM	Animal
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APS	Amostra parcialmente seca
CEPA	Centro de Pesquisa em Alimentação
cm	centímetro
cm <sup>2</sup>	centímetro quadrado
CMS	Consumo diário de matéria seca
CNPCS	Cornell Net Carbohydrate Protein System
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CONSUM.	Consumido
CPB	Consumo diário de proteína bruta
CV	Coefficiente de variação
DAPA	Diaminopimelic Acid
Digestib.	Digestibilidade
ELI	Energia líquida de lactação
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
g	grama
GL	Graus de liberdade
GORD	Gordura contida no leite

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
K <sub>d</sub>	Velocidade ou taxa de degradação
kg	Quilograma
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato ácido de potássio
K <sub>p</sub>	Velocidade ou taxa de passagem
LACT	Lactose contida no leite
LKMS	Leite produzido por quilograma de matéria seca consumido
LKPB	Leite produzido por quilograma de proteína bruta consumido
M.Seca	Matéria seca
Mcal	Megacaloria
mg	miligrama
mg/dL	miligrama por decilitro
ml	mililitro
mm	milímetro
mmol/L	milimol por litro
MS	Matéria seca
MUN	Milk urea nitrogen
N	Nitrogênio
N.Amost	Número da amostra
N <sup>15</sup> ou <sup>15</sup> N	isótopo radioativo do nitrogênio com valência 15
NAOH	Hidróxido de sódio
NH <sub>3</sub>	Amônia
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDN	Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
NIRS	Near Infrared Reflectance Spectroscopy
nitrog.	Nitrogênio
N-NH <sub>3</sub>	Nitrogênio amoniacal
NNP	Nitrogênio não protéico
NRC	National Research Council

NUL	Nitrogênio uréico no leite
NUS	Nitrogênio uréico no sangue
p	probabilidade
P.Bruta	Proteína bruta
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradável no rúmen
PER	Período
PLT	Produção diária total de leite
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
Prod.	Produção
PROT VER	Proteína verdadeira contida no leite
PROT	Proteína contida no leite
PUN	Plasma urea nitrogen
PVT	Proteínas vegetais texturizadas
QM	Quadrado médio
r	Coefficiente de correlação
RS	Rio Grande do Sul
RUP	Rumen undegraded protein
RUSITEC	Rumen Simulation Technique
S <sup>35</sup>	Isótopo radioativo do enxofre com valência 35
SARLE	Laboratório de Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros
SAS	Statistics Analysis System
SDS-PAGE	Sódio Dodecil Sulfato-Polyacrilamida Gel Eletroforese
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SLS TOT	Sólidos totais contidos no leite
T1	Tratamento nº 1
T2	Tratamento nº 2
T3	Tratamento nº 3
T4	Tratamento nº 4
TCA	Trichloroacetic Acid
TRAT	Tratamento
Tratam.	Tratamento

vol

volume

## SUMÁRIO

	Página
9. INTRODUÇÃO .....	1
10. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
10.1. O grão de soja .....	4
10.2. A proteína na nutrição de ruminantes .....	8
10.3. A importância da proteína não degradável no rúmen, no balanceamento das dietas para ruminantes.....	11
10.4. Métodos de proteção da proteína .....	18
10.5. Tratamento térmico do grão de soja .....	20
10.6. Avaliação dos efeitos do tratamento térmico .....	26
10.6.1. Métodos .....	“in vitro”.....28
10.6.1.1. Solubilidade do nitrogênio e fracionamento da proteína.....	28
10.6.1.2. Método das enzimas proteolíticas.....	30
10.6.1.3. A liberação da amônia “in vitro”.....	32
10.6.1.4. Análise Eletroforética (SDS-PAGE) .....	35
10.6.1.5. NIRS (Near infrared reflectance spectroscopy) .....	36
10.6.1.6. Fermentadores de cultura contínuos .....	37
10.6.2. Teste “in situ” de degradabilidade de fontes protéicas .....	38
10.6.3. A técnica “in vitro” de estimativa da reversão da ação “by-pass” e da digestibilidade intestinal.....	41
10.7. Efeitos do tratamento térmico do grão de soja sobre aspectos produtivos.....	43
2.7.1. Animais em crescimento .....	43
2.7.2. Animais em lactação .....	45
10.8. A proteína da dieta e os níveis de uréia no sangue e no leite ....	49
11. MATERIAL E MÉTODOS .....	53
11.1. Experimento 1.....	53
11.1.1. Tratamento dos grãos de soja .....	53
11.1.1.1. Matéria prima, local de tostagem e equipamento .....	53
11.1.1.2. Tostagem dos grãos de soja .....	54
11.1.2. Tratamentos .....	54
11.1.3. Local .....	56
11.1.4. Degradabilidade “in situ” da proteína do grão de soja cru e tostado.....	56
11.1.4.1. Animal utilizado .....	56

11.1.4.2. Procedimentos experimentais .....	56
11.1.5. Digestibilidade intestinal “in vitro” .....	57
11.1.5.1. Local .....	57
11.1.5.2. Procedimentos experimentais .....	58
11.1.6. Delineamento experimental e análise estatística .....	59
	Página
11.2. Experimento 2.....	60
11.2.1. Local do experimento .....	60
11.2.2. Instalações .....	60
11.2.2.1. Estábulo .....	60
11.2.2.2. Área anexa .....	61
11.2.2.3. Piquetes .....	61
11.2.2.4. Silo .....	61
11.2.2.5. Sala de ordenha .....	61
11.2.2.6. Depósito .....	62
11.2.2.7. Laboratórios .....	62
11.2.3. Animais experimentais .....	62
11.2.4. Manejo experimental .....	63
11.2.5. Tratamentos e delineamento experimental .....	65
11.2.6. Duração do experimento .....	68
11.2.7. Coleta de dados... .....	68
11.2.7.1. Alimentos e sobras .....	68
11.2.7.2. Produção de leite .....	69
11.2.7.3. Composição do leite .....	69
11.2.7.4. Parâmetro sanguíneo .....	70
12. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
12.1. Experimento 1.....	71
12.1.1. Degradação ruminal da proteína do grão de soja cru e tostado, avaliada pelo teste “in situ”, com incubação de 16 horas.....	71
12.1.2. Digestibilidade intestinal enzimática “in vitro” da PNDR do grão de soja submetido a tratamento térmico.....	78
12.2. Experimento 2.....	85
12.2.1. Consumo de matéria seca, proteína bruta e produção de leite.....	85

12.2.2. Produção de gordura, proteína, lactose e sólidos totais .....	102
12.2.3. Teores de nitrogênio uréico no plasma sanguíneo (NUS) e no leite (NUL).....	109
13. CONCLUSÕES .....	117
14. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	118
15. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	120
16. APÊNDICES .....	133

## ROASTED SOYBEANS (*Glycine Max.* (L) Merril) FOR LACTATING DAIRY COWS<sup>1</sup>

Author: Nelcy Madruga de Carvalho

Adviser: Prof. Paulo Roberto Frenzel Mühlbach

### ABSTRACT

Soybeans were roasted in an experimental roaster during 2 or 3 minutes either at 380 or 490 °C air temperature and kept or not for 30 minutes under steeping.

The heat treatment effects on soybeans were evaluated in a first trial through two different procedures: a) after 16 hours of an “in situ” ruminal incubation period, all heat treated soybeans showed an increased ( $P < 0,05$ ) rumen undegraded protein (RUP) content in comparison to raw soybeans; b) a pepsin/pancreatin “in vitro” procedure showed that roasting at 380 °C, during 2 minutes, with steeping, or at 380 °C, during 3 minutes without steeping, did not affect the “in vitro” enzymatic intestinal digestibility of soybeans ( $P > 0,05$ ). In a second trial, soybeans roasted at 380 °C, during 2 minutes and kept under steeping were included in isonitrogenous and isocaloric lactating dairy cows rations and evaluated in comparison to raw soybeans, with two other protein sources as references. There were no differences ( $P > 0,05$ ) between the roasted and raw soybeans diets related either to dry matter or crude protein intakes, milk yield and composition and plasma urea nitrogen (PUN) and milk urea nitrogen (MUN) concentrations, but roasted soybeans yielded significantly ( $P < 0,05$ ) more milk per kg of dry matter or crude protein intake than raw soybeans.

## 1. INTRODUÇÃO

O crescente melhoramento genético do rebanho leiteiro visando incrementar a produção de leite vem demandando uma racionalização no uso da proteína da dieta e a utilização de fontes protéicas de menor degradabilidade ruminal, a fim de aumentar o aporte de aminoácidos essenciais em nível intestinal. O grão de soja cru vem sendo usado como alternativa protéica na alimentação de ruminantes, contudo, para vacas leiteiras de maior produtividade, com produção superior a 25 litros/dia, tal alimento não é recomendado, devido a sua alta taxa de degradação no rúmen. Isso resulta em eventual perda nitrogenada pela urina e sobrecarga hepática, podendo, inclusive, prejudicar o desempenho reprodutivo de vacas em lactação. Além disso, estudos recentes demonstram que a inativação no rúmen, dos fatores anti-nutricionais presentes na soja crua não é totalmente eficiente, acarretando em diminuição da digestão intestinal da fração que escapa da degradação no rúmen.

As tabelas de exigências nutricionais do NRC (2001) estimam, para uma vaca de 680 kg de peso, no início de lactação, produzindo 40 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura e 3,0% de proteína verdadeira o consumo de dietas com 20,3% de proteína bruta, sendo 9,3% na forma de proteína não degradável no rúmen (PNDR), o que requer o emprego de alimentos protéicos

outros que o farelo ou grão cru de soja, que poderão ser ou de origem vegetal (farelo de glúten de milho, grãos secos de destilaria, grão de soja tostado ou extrusado) ou de origem animal (farinha de carne e ossos, farinha de sangue, farinha de peixe, farinha de penas hidrolisada). Desses últimos, os provenientes de ruminantes têm, presentemente, o seu uso proibido (PORTARIA 35/1996 do Ministério da Agricultura) como prevenção contra eventual disseminação da encefalopatia espongiforme bovina.

O grão integral de soja, com 20 % de gordura bruta, aumenta a concentração de energia da dieta e o seu tratamento térmico diminui a degradabilidade da proteína no rúmen, conforme trabalhos publicados nos EUA. Todavia a intensidade e duração do tratamento térmico poderão causar uma proteção excessiva através da reação de Maillard, por vezes irreversível, mesmo nas condições ácidas do abomaso, causando assim menor aproveitamento pelo animal. Alguns testes de laboratório, entre os quais estão incluídos o de liberação de amônia “in vitro” e o teste de degradabilidade ruminal “in situ” , permitem avaliar o efeito da proteção da proteína do grão de soja proporcionada pelo processo de tostagem enquanto que a digestão “in vitro” com pepsina-pancreatina possibilita estimar a digestibilidade abomasal (reversão da proteção contra a degradação) e intestinal do grão de soja submetido a diferentes condições e graus de tratamento térmico.

No Rio Grande do Sul, a tostagem do grão vem sendo realizada para a alimentação de suínos, em condições variadas e empíricas, em nível de produtor. Todavia, para vacas leiteiras, há necessidade de monitoramento e padronização da tostagem para a obtenção da melhor resposta. Embora o

calor moderado possa aumentar o fluxo de proteína para o intestino delgado, o calor excessivo pode diminuir a digestibilidade da proteína em nível intestinal.

Alguns trabalhos têm apresentado resultados conflitantes no que tange ao efeito do tratamento térmico e da degradação ruminal sobre o perfil de aminoácidos de variadas fontes protéicas. Ao se trabalhar com um alimento de elevado valor nutritivo, como o grão de soja, torna-se necessário conhecer o seu comportamento relativamente a estes dois aspectos.

Em que pese o fato de o emprego do grão tostado de soja ser relativamente comum nos EUA, o mesmo não acontece no Rio Grande do Sul, como de resto em todo o Brasil. Aliás, não há sequer pesquisa relevante envolvendo vacas em lactação, em condições práticas de produção, o que não está à altura da importância local do agronegócio “leite e laticínios”.

Conforme poderá ser depreendido da revisão de literatura, faltam trabalhos que integrem os testes “in vitro” e “in situ” de digestão com as medidas de resposta produtiva do animal e esse é o objetivo geral da presente proposta. Ao se propor um trabalho que utiliza o grão de soja tostado como fonte de proteína protegida para arraaçar vacas de alta produção, está se buscando uma tecnologia de grande utilidade e proveito para a produção de leite e, quiçá, para o mercado de insumos de rações comerciais.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O grão de soja

A soja (*Glycine max* (L) Merrill), surgiu como cultura por volta do século XI A.C. no nordeste da China de onde espalhou-se para se tornar uma planta universal. Sua difusão para o ocidente iniciou-se pela Europa, por volta de 1712 e a primeira menção sobre soja na literatura norte-americana data de 1804. No nosso país entrou em 1882 na Bahia e o seu primeiro registro no estado do Rio Grande do Sul data de 1901, quando foi cultivada numa fazenda no município de Dom Pedrito (Verneti, 1983).

Entre os produtos agrícolas que, na atualidade, alimentam o mundo, a soja vem ocupando uma posição de grande destaque e expansão (Bonetti, 1981). No Brasil, num período de apenas 25 anos (1960-1985), a cultura saltou de 170 mil para 10 milhões de hectares cultivados e uma produção anual que beirava os 18 milhões de toneladas (Bertrand et al., 1987). Hoje, é cultivada, no Brasil, uma área ao redor dos 14 milhões de hectares com uma produção por volta dos 36 milhões de toneladas/ano. Deste total, o estado do Rio Grande do Sul participa com pouco mais de 3 milhões de hectares e uma produção anual de 6.600 mil toneladas (IBGE, 2001).

Até meados da década de 70, o Brasil exportou soja predominantemente sob a forma de grãos mas, atualmente, a maior parte da soja brasileira é processada pela indústria nacional, sendo que na safra 97/98 18.289.065 toneladas processadas renderam 3.347.003 toneladas de óleo bruto e 14.101.669 toneladas de farelo de soja (IBGE, 1998).

O óleo é consumido principalmente no mercado interno e o farelo é exportado quase que na sua totalidade (em torno de 3/4), para os grandes consumidores mundiais, entre os quais se destacam os países da União Européia, Japão e os países da antiga União Soviética. Isto faz do Brasil o maior exportador mundial de farelo de soja.

De acordo com o NRC (2001) o grão de soja integral contém em torno de 39% de proteína bruta e 19% de extrato etéreo na matéria seca, o que o caracteriza como um alimento de alta concentração protéica e energética.

Esses componentes encontram-se armazenados no embrião da semente e se constituem em substâncias de reserva. A proteína armazena-se em estruturas celulares denominadas corpos protéicos ou grãos de aleurona, localizados no mesófilo dos cotilédones e chega a compor 40% do peso do grão (Castro, 1981). Segundo Gandolfi et al. (1983), todas as células do mesófilo são cheias de grãos de aleurona e gotículas de óleo, acrescentando-se, ainda, grãos de amido e cristais de oxalato de cálcio esparsos (Müller, 1981). Graças a essas características, a soja representa, há milênios, uma das principais fontes de proteína na alimentação dos povos do Extremo Oriente, onde é consumida na forma de grãos verdes, secos ou transformados

em farinha e também como leite ou queijo de soja (tofu). As indústrias agroalimentícias utilizam as farinhas e os concentrados na panificação, fabricação de salsichas e de alimentos para crianças em fase de aleitamento.

Os progressos tecnológicos permitiram que a indústria obtivesse produtos mais sofisticados: as proteínas vegetais texturizadas (PVT) com estrutura próxima à da carne em postas. Com a adição de aromatizantes e colorantes as PVT são usadas, sobretudo, na fabricação de salsichas e hamburguers. Mais recentemente, a indústria da alimentação animal também passou a empregar esses produtos na fabricação de alimentos para bezerras, cães e gatos sendo o farelo e o grão integral utilizados especialmente na confecção de rações para bovinos, suínos e aves.

Segundo Hagen (1997), ultimamente os produtores de leite norte americanos têm aumentado o cultivo de soja e a utilização do grão tostado nas suas criações, objetivando reduzir os custos com alimentação. Por isso, a área de soja plantada em Wisconsin passou de 133.600 hectares em 1986 para 376.000 em 1996 e, em Minnesota, de 1.900.000 hectares em 1990 para 2.400.00 hectares em 1996. Há uma estimativa de que 25% do grão produzido seria usado para alimentar os rebanhos leiteiros.

De acordo com Rotz et al. (2001), a produção de soja também tem crescido rapidamente em propriedades leiteiras do estado da Pennsylvania.

Nesse caso seu uso, na forma de grão tostado, objetiva diminuir custos com alimentação e, ao mesmo tempo, melhorar as condições ambientais diminuindo a perda de nitrogênio e o acúmulo de fósforo no solo.

De acordo com esses autores, em propriedades onde existe uma oferta ineficiente dos suplementos protéicos ou produção e consumo de rações com elevada concentração de silagem de milho, pode ser obtido um retorno de até 100 dólares por vaca/ano.

A produção de leite no Brasil, segundo o IBGE (2001), hoje já ultrapassa a casa dos 20 bilhões de litros sendo que, no Rio Grande do Sul, aproximadamente 2 bilhões de litros são produzidos anualmente. Em nosso meio, a principal fonte protéica dos concentrados fabricados para alimentar os rebanhos leiteiros é o farelo de soja, adquirido por um preço elevado e, às vezes, de qualidade incerta.

Para vacas de alta produção, já se começa a utilizar outras fontes, ricas principalmente em proteína não degradável no rúmen, como por exemplo a farinha de peixe, também de custo elevado, qualidade variável e nem sempre disponível.

Por ser a produção leiteira uma exploração que deixa uma margem bruta muito reduzida para o produtor, é natural que este procure alternativas que reduzam seu custo de produção. O uso do grão de soja dentro do seu próprio sistema parece ser uma boa opção, se considerarmos que no estado do Rio Grande do Sul houve uma migração paulatina das bacias leiteiras das regiões próximas aos grandes centros urbanos para as regiões do Planalto e Noroeste (Bitencourt et al., 2000), justamente onde se concentra produção da oleaginosa.

Aos poucos já se percebe que alguns tradicionais plantadores de soja, altamente especializados na produção do grão, estão investindo na

produção leiteira, não apenas como uma complementação de renda ou para cobrir custos operacionais da lavoura soja, mas como uma importante opção de exploração econômica (Zardo Filho, 2000).

## **2.2 A proteína na nutrição de ruminantes**

Os ruminantes, à semelhança dos suínos e aves, possuem exigências metabólicas de aminoácidos e não de proteína (Valadares Filho, 1997). Segundo o NRC (2001), esses aminoácidos, que são absorvidos no intestino delgado, compõem a chamada proteína metabolizável que, por sua vez, é composta pelo somatório da proteína bruta microbiana sintetizada a nível de rúmen, da proteína da dieta que escapa à degradação ruminal e, em menor escala, da proteína endógena (composta principalmente por material proveniente da descamação celular do epitélio respiratório, boca, esôfago, retículo-rúmen, omaso e abomaso e, em menor proporção, muco proteínas da saliva e secreções enzimáticas originadas no abomaso).

Trabalhos de pesquisa mais antigos (Oltgen, 1969), demonstraram que bovinos alimentados com dietas purificadas, onde a única fonte de nitrogênio era constituída por nitrogênio não protéico, ganharam apenas 65% do peso ganho por animais alimentados com dietas convencionais, onde recebiam suplemento protéico e energético. Ainda segundo Virtanen (1969), citado por Lin & Kung Jr. (2000), vacas em lactação alimentadas com dietas livres de nitrogênio, produziram 4.000 kg de leite por lactação a partir da proteína microbiana. Entretanto, a produção aumentou em 1.000 e 1.500 kg, respectivamente, quando 20 e 40% das exigências de nitrogênio foram

supridas na forma de proteína. Dessa maneira, ficou bem estabelecida a importância da proteína escape na alimentação de bovinos de corte e leite.

Orskov et al. (1980), afirmavam que o nível de exigências de proteína não degradável no rúmen era influenciado pela idade e nível de produção do animal. Assim, animais em crescimento acelerado e vacas de alta produção, no período inicial de lactação, têm suas exigências nutricionais aumentadas e, nestes casos, a participação relativa da proteína microbiana no total das exigências protéicas diminui, aumentando a importância da proteína não degradável. Nestas condições, o uso da proteína, que é o ingrediente mais caro da dieta, deve ser criterioso e deve-se considerar não apenas sua quantidade e qualidade mas, também, sua potencial degradabilidade no rúmen (Mühlbach et al., 2000).

A partir de conceitos embasados nesses critérios, já o NRC (1989) introduziu o conceito de proteína não degradável definindo, separadamente, as exigências de proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR). O uso de fontes de proteína não degradável no rúmen tornou-se, então, uma prática comum na formulação de dietas para ruminantes.

Conforme Buttery & Fouls (1985), na maioria das dietas a proteína microbiana sintetizada no rúmen contribui com 60 a 85% dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado e, segundo Satter (1986), em dietas com relação forragem / concentrado de 60 : 40 , essa contribuição seria em torno de 2/3 do total de aminoácidos disponíveis para absorção.

Na sua mais recente versão, o NRC (2001) enfatiza que a principal

meta, atualmente, na nutrição de ruminantes, é proporcionar quantidades de proteína degradável no rúmen (PDR) para uma adequada eficiência ruminal e obter a produtividade animal que se deseja com a menor quantidade possível de proteína bruta na dieta. Para se otimizar a eficiência de uso da proteína bruta se requer uma seleção de alimentos protéicos e suplementos à base de nitrogênio não protéico que proporcionem os tipos e quantidades de PDR que atinjam, mas não excedam, as quantidades exigidas pelos microorganismos ruminais para a síntese máxima de proteína microbiana e, simultaneamente atinjam as quantidades de PNDR digestível que otimize, tanto quanto possível, o perfil e quantidade de aminoácidos absorvíveis.

Destaca, ainda, que a proteólise ruminal da proteína bruta da dieta determina a disponibilidade de aminoácidos livres, peptídeos e nitrogênio amoniacal ( $N-NH_3$ ), a partir dos quais se processará o crescimento dos microorganismos ruminais e síntese de proteína microbiana. Avança ainda mais na necessidade de se conhecer a cinética do processo de degradação ruminal da proteína dos alimentos para que, de maneira adequada, possam ser formuladas dietas que atendam tanto às necessidades dos microorganismos quanto às do animal hospedeiro. Classifica a cinética de degradação da proteína bruta no rúmen como pertencente a um modelo de ação de massa de primeira ordem e, baseado no modelo do CNPCS (Cornell Net Carbohydrate Protein System), subdivide a proteína bruta dos alimentos em cinco frações (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e C), cuja soma corresponde à unidade. As cinco frações têm diferentes velocidades de degradação ruminal. Assim, a fração **A** constitui a

fração de proteína que é instantaneamente solubilizada no tempo zero; a fração **C**, no outro extremo, constituída por proteínas associadas à lignina, taninos e as proteínas que sofreram danos pelo calor, tais como os produtos da reação de Maillard, é considerada como não degradável. A fração **B**, remanescente, representa a proteína verdadeira potencialmente degradável e as quantidades de cada uma das suas três frações, a serem degradadas no rúmen, são determinadas por suas velocidades de degradação (kd) e de passagem (kp).

Dessa forma, a partir do momento em que se compreendeu da importância em otimizar a síntese da proteína microbiana no rúmen e a passagem inalterada de frações com composição adequada para absorção no intestino delgado, a necessidade de estimar-se a degradação ruminal dos diferentes alimentos passou a ser um dos principais objetivos da pesquisa em nutrição de ruminantes.

### **2.3 A importância da proteína não degradável no rúmen, no balanceamento das dietas para ruminantes**

Em geral, apenas a proteína microbiana produzida pelos microorganismos ruminais é suficiente para suprir as necessidades de uma vaca que produz até 20 kg de leite por dia (NRC, 1989; Woodgate, 1997).

O NRC (2001), usando equações de regressão, determina que a produção máxima de leite ocorre quando a quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR), contribui com uma quantidade correspondente a 12,2% da matéria seca da dieta, mantendo-se constantes o consumo de matéria seca (20,6 kg/dia) e a proporção de proteína não degradável do rúmen-PNDR ( 6,2%

da matéria seca da dieta). A produção de leite responderia quadraticamente à percentagem de PDR. Já, com relação à PNDR, haveria um aumento linear na produção, correspondente a 1,85 kg de leite para cada unidade percentual de aumento na proteína não degradável no rúmen. O mesmo resultado seria observado com relação à produção de proteína do leite. Todavia, o mesmo NRC (2001) recomenda cautela quanto ao uso dessas equações de regressão, em função dos baixos valores encontrados para os coeficientes de determinação. Como pode ser observado, a proteína microbiana sintetizada a nível de rúmen é insuficiente para garantir o suprimento de aminoácidos ao intestino delgado, nas quantidades exigidas por animais de níveis de produção mais elevado ou em fase de crescimento acelerado. Daí, a necessidade de se buscar alternativas para incrementar a participação da PNDR na composição da dieta. Todavia, conforme citado por Volden (1999), o fornecimento de fontes protéicas de degradabilidade muito baixa pode limitar a fermentação ruminal, tendo como resultado uma oferta reduzida de energia e aminoácidos de origem microbiana para o animal hospedeiro. A falta de entendimento deste aspecto parece ser uma das causas da ausência de respostas em experimentos conduzidos para testar o efeito da redução da proteína degradável no rúmen (PDR) da dieta, sobre a produção de leite de vacas na fase inicial de lactação (Lykos & Varga, 1995). Como estratégia para contornar esse tipo de problema, tem-se recorrido ao expediente de fornecer fontes de nitrogênio não protéico (uréia), para suprir as necessidades de produção e aumento de proteína microbiana, o que Satter (1986) aponta como uma das vantagens de se fornecer proteína protegida da degradação ruminal, aliada à economia daí

decorrente. Por outro lado, Kalscheur et al. (1999) sugerem ainda, como um dos objetivos a ser considerado na definição das dietas para vacas leiteiras, a necessidade de reduzir a excreção de nitrogênio para o meio ambiente, o que poderia ser conseguido na medida em que se formulasse dietas que não excedessem as exigências de proteína bruta. Neste caso, as exigências de proteína metabolizável para vacas de alta produção, no início da lactação, quando o consumo não está maximizado, poderiam ser, em grande parte, atendidas através da PNDR. Já para vacas no meio e final da lactação, poderiam ser formuladas dietas com concentrações mais baixas de proteína bruta, mantendo-se a produção de leite, diminuindo os custos e reduzindo a excreção de nitrogênio.

Outro aspecto a ser considerado, e que está estreitamente relacionado à maximização na produção e composição química do leite, é a necessidade de se fornecer, ao intestino delgado, uma proteína metabolizável que possua um perfil de aminoácidos compatível. Vacas de alta produção geralmente são incapazes de satisfazer suas exigências em aminoácidos exclusivamente a partir da proteína bruta microbiana. Portanto, inclusão de proteína não degradável no rúmen, na dieta, pode aumentar o fornecimento de aminoácidos ao intestino delgado e, também, modificar o perfil de aminoácidos da digesta duodenal (Tice et al., 1993; Keery et al., 1993; Hsu & Satter, 1995; Rodriguez, 1996; Volden, 1999).

Também, segundo Santos et al. (1998), qualquer recomendação sobre o fornecimento de proteína para vacas de alta produção, visando otimizar a produção leiteira, deveria, obrigatoriamente, levar em consideração as

exigências de aminoácidos essenciais, especificamente lisina e metionina, que parecem ser os mais limitantes. Segundo esses autores, existe uma grande variação quanto ao perfil de aminoácidos dos alimentos usados como fonte protéica na confecção de rações para vacas em lactação. As proporções adequadas de lisina e metionina, como % do total de aminoácidos essenciais contidos nesses alimentos, deveriam ser de 15 e 5, respectivamente. Seguindo esses critérios, a fonte que melhor atenderia às exigências nutricionais das vacas de alta produção seria a proteína microbiana seguida pelo farelo de soja.

Dos alimentos usados como fonte de PNDR, o único que seria capaz de atender essa proporção de 15:5 seria a farinha de peixe e, portanto, capaz de exercer algum efeito positivo sobre o desempenho produtivo da vaca.

Por outro lado, os aminoácidos não são utilizados com eficiência total, conforme verificado por Stern et al. (1985), sendo que a maioria deles apresenta uma digestibilidade intestinal verdadeira entre 80 e 88%, com a cistina e histidina exibindo valores ainda menores, em torno de 73 e 68%, respectivamente (Buttery & Fouls, 1985). Hvelplund et al. (1995) também apontam valores de digestibilidade intestinal para os aminoácidos entre 85 e 87% e chamam a atenção para o fato de que o sistema francês, para avaliação de proteínas, utiliza o valor de 80% enquanto a maioria dos outros sistemas tem adotado o valor de 85%.

Outra questão atualmente levada em consideração, ao se definir critérios para selecionar as fontes protéicas que deverão compor as dietas de vacas leiteiras e que está intimamente ligada ao seu maior ou menor grau de degradabilidade ruminal, é o destino da amônia liberada no rúmen.

Uma das conseqüências do excesso de  $\text{NH}_3$ , resultante da excessiva PDR fermentada no rúmen e que não é utilizada para a síntese de proteína microbiana ou mesmo de excessiva PNDR, é o aumento da concentração de uréia no plasma sangüíneo e no leite (Wittwer, 2000). Estas condições estão relacionadas a possíveis quedas nos índices de fertilidade (Melendez et al., 2000; Sinclair et al., 2000a,b; Rajala-Schultz, et al., 2001, Godden et al., 2001) e alterações na composição do leite (Mühlbach et al., 2000). Portanto, alimentos que são utilizados comumente na elaboração de dietas para ruminantes, como os farelos e os grãos integrais, bem como os subprodutos de origem animal, se comportam de maneira diferente no que se refere aos aminoácidos disponíveis para absorção no intestino delgado, de cujo suprimento depende o atendimento das exigências de manutenção, produção, reprodução e lactação. Essa condição exige dos nutricionistas um maior cuidado ao usar dados de estimativas de degradabilidade ruminal de grãos, subprodutos e, até mesmo, de forrageiras, o que já pode ser encontrado nas tabelas de composição de alimentos do NRC (2001).

Alguns subprodutos de origem animal, como farinha de penas e farinha de peixe, embora não sofram restrição legal quanto ao seu uso e possuam bons níveis de proteína protegida, apresentam limitações no que diz respeito a sua uniformidade, custo e disponibilidade.

Já de algum tempo, os países de pecuária leiteira desenvolvida vêm desenvolvendo pesquisas com o objetivo encontrar formas de tratamento que viabilizem o aumento da porção de proteína não degradável nos alimentos.

Assim, a literatura mostra resultados de trabalhos com fontes protéicas de uso não muito comum, como grãos de tremçoço (*Lupinus albus*) e sementes de fava (*Vicia faba*) submetidos a tostagem nos trabalhos de Yu et al. (1999a), Yu et al. (1999b) e Yu et al. (1999c); grãos de canola tratados com calor e/ou tanino condensado (Santos et al., 1997) e também com alimentos de uso corrente como farelo de soja que foi tratado com açúcares redutores e submetido a tratamento térmico (Bianchini et al., 1997) e grão de soja, submetido a tostagem, em diferentes temperaturas (Frosi & Mühlbach, 1998a,b).

Casper et al. (1999), ao avaliarem o efeito da sincronização entre fontes de carboidratos e proteínas sobre as taxas de fermentação ruminal e passagem, em vacas no período médio de lactação ( $153 \pm 6$  dias), não encontraram diferenças nos parâmetros de fermentação ruminal, taxas de passagem, consumo de matéria seca e produção de leite, quando substituíram o farelo de soja por farelo de soja extrusado, como fonte de PNDR.

McCormick et al. (1999), avaliaram o efeito do excesso de proteína bruta e PDR proporcionado por azevém anual sobre a eficiência reprodutiva de vacas da raça Holandês de alta produção. Complementarmente, avaliaram o efeito de suplementação com PNDR fornecida através de farelo de glúten de milho e farinha de sangue, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo desses animais. Concluíram que o aumento na quantidade de PNDR fornecida melhorou a produção de leite das vacas que estavam na fase inicial (0 a 138 dias) mas não a do grupo que se encontrava numa fase intermediária (42 a 201

dias) de lactação. Não se verificaram diferenças quanto à composição do leite em nenhum dos grupos.

Volden (1999), avaliou a produção e composição do leite de vacas que receberam dietas com diferentes quantidades (69, 53 e 48 g /kg de MS) de PNDR e submetidas a dois diferentes níveis de consumo ( 19,3 e 9,8 kg MS/dia), nos períodos inicial e final de lactação, respectivamente. Como fonte de PNDR o autor usou farinha de peixe. Verificou que maior quantidade de PNDR, fornecida durante o período de maior nível de consumo (início da lactação), proporcionou maior produção de leite e de proteína, embora não alterasse as quantidades percentuais dos componentes do leite.

Kalscheur et al. (1999), também utilizando a farinha de peixe, mais grãos secos de cervejaria e destilaria e farelo de glúten de milho como fontes de PNDR, avaliaram a produção de leite de vacas leiteiras no início, meio e fase final de lactação. Foram testados diferentes níveis (17,4 e 15,2; 15,3 e 13,3; 14,4 e 12,6%, respectivamente para início, meio e fim de lactação) de proteína bruta e de PNDR (35,5; 41,4 e 46,5%). Verificaram que a produção de leite aumentou linearmente com a quantidade de PNDR na dieta, na fase inicial de lactação. Em contraste, não houve resposta ao aumento de PNDR na dieta, durante as fases intermediária e final de lactação. Os autores concluíram que, se o consumo de matéria seca for maximizado através das fases sucessivas da lactação, dietas com concentrações menores de proteína bruta poderiam ser fornecidas para vacas nas fases intermediária e final de lactação para reduzir custos e diminuir a quantidade de nitrogênio excretado, mantendo o nível de produção de leite.

## 2.4 Métodos de proteção da proteína

A velocidade e magnitude da degradação protéica no rúmen estão diretamente relacionadas aos tipos de proteínas em questão (albuminas, globulinas, prolaminas, etc.) e à sua composição em aminoácidos (Stern et al., 1997). A conformação da proteína é um fator que interfere na sua susceptibilidade à degradação, sendo que Poncet et al. (1995) consideram que as proteínas com arranjos e ligações mais complexas (por exemplo, queratinas e albuminas) e aquelas que possuem estrutura cíclica são menos degradáveis no rúmen. A degradação ruminal também é diminuída nas proteínas que possuem características estruturais que lhes conferem caráter de hidrofobicidade, o que dificulta o acesso das enzimas proteolíticas.

O nível de consumo (Tice et al., 1993; NRC 2001), o tamanho e densidade da partícula (Tice et al., 1993; Dhiman et al., 1997) e a taxa de passagem (Van Soest, 1994) também são fatores importantes a influenciar a degradabilidade ruminal dos alimentos.

Vários métodos de tratamento das proteínas têm sido usados para reduzir sua degradação no rúmen e podem ser classificados em tratamentos químicos e físicos. Os tratamentos químicos podem, por sua vez, ser divididos em métodos nos quais o produto químico combina-se com as proteínas, por exemplo o tratamento por formaldeído e aqueles nos quais o produto químico desnatura a proteína, como no caso do tratamento com álcool, hidróxido de sódio e ácido propiônico (Lin & Kung Jr., 2000).

O tratamento físico mais bem sucedido tem sido o processamento pelo calor. A ação do calor facilita a caramelização não enzimática ou reação de Maillard entre os grupos aldeído dos açúcares e grupos amina livres das proteínas para formar um complexo amino-açúcar. Este complexo é mais resistente do que os peptídeos normais à hidrólise enzimática e a reversibilidade desta reação é dependente do nível de temperatura e tempo de exposição ao calor (Stern et al., 1994). Esta reação ocorre em duas fases que, segundo Nakamura et al. (1992) são: a fase inicial, que corresponde à condensação dos grupos amina da proteína com o açúcar, e a segunda fase, a polimerização, que torna a proteína indigestível.

De acordo com Van Soest (1994), a desnaturação ou coagulação da proteína acarreta uma diminuição da solubilidade e do acesso das enzimas proteolíticas, necessitando de menor gasto de energia. Já a reação de Maillard trata-se de uma reação menos sensível à temperatura mas sujeita ao processo de polimerização, que acarreta danos e torna a proteína indigestível. A reversibilidade da reação depende, principalmente, da temperatura e do tempo de exposição ao calor. Ainda, de acordo com Van Soest (1994), a maior dificuldade para estabelecer-se um tratamento adequado para a proteção da proteína é a determinação das temperaturas adequadas para os diferentes tipos de alimentos, pois eles comportam-se de maneira diferente mediante o tratamento por calor e qualquer descontrole pode danificar a proteína, diminuindo sua qualidade.

No Brasil, a falta de conhecimento, assim como a reduzida disponibilidade, têm limitado o uso de fontes de proteínas protegidas nas dietas para ruminantes.

### **2.5 Tratamento térmico do grão de soja**

O grão de soja e seus derivados constituem suplementações protéicas das mais importantes na alimentação de ruminantes no Rio Grande do Sul. Todavia, tanto a proteína do grão integral quanto a do respectivo farelo são fermentadas excessivamente no rúmen (Valadares Filho, 1997) levando a um acúmulo de nitrogênio amoniacal e, com isto, a um desperdício de nitrogênio pelo animal, até a uma sobrecarga hepática e perdas energéticas no processo de detoxificação da amônia até uréia para a excreção urinária (Van Soest, 1994). Esse problema se acentua em dietas com volumosos pobres em proteína e deficientes em energia rapidamente fermentável no rúmen, especialmente para vacas em lactação com produção acima de 25 litros/dia e que demandam teores de proteína bruta superiores a 16% na matéria seca (NRC, 2001)

Embora Mir et al. (1984), usando temperatura de 110 °C durante 2 horas em estufa de ar forçado, não tenham verificado efetividade, o tratamento térmico controlado vem se caracterizando como uma maneira eficiente de diminuir-se a degradação excessiva da proteína do grão de soja.

Segundo Lin & Kung Jr (2000), a tostagem e extrusão são os dois métodos de processamento mais usados nos Estados Unidos para tratar o grão e farelo de soja, sendo a tostagem do grão o processo predominante com cerca de 20 milhões de *bushels* tratados para uso com vacas leiteiras em 1993,

naquele país (Satter et al., 1994). Ainda conforme Lin & Kung Jr. (2000), substanciais benefícios podem ser obtidos, em termos de aumento na produção de leite e crescimento, se forem fornecidos grão ou farelo de soja tratados de forma apropriada, como suplemento protéico, para bovinos de leite e corte, em substituição ao grão ou farelo não tratados. Porém chamam a atenção para a necessidade de dar-se ênfase à qualidade dos produtos obtidos, através de um melhor controle da reação de Maillard.

Por outro lado, Santos et al. (1998), revisando 127 comparações de 88 ensaios de lactação, realizados entre 1985 e 1997, não encontraram diferenças na produção de leite, quando o farelo de soja foi substituído por outras fontes protéicas, ricas em PNDR. Eles creditaram a falta de resposta, principalmente a quantidades elevadas de PNDR que poderiam ter causado diminuição na síntese de proteína microbiana pela falta de quantidades adequadas de PDR. Também, a perfis inadequados de aminoácidos essenciais, nas fontes de PNDR.

O tratamento térmico mais popular do grão de soja, a tostagem, usado já rotineiramente nas propriedades leiteiras dos Estados Unidos, compreende a passagem do grão pelo interior de um cilindro previamente aquecido através do calor proporcionado por chama produzida por uma fonte de gás butano. Segundo Lin & Kung Jr. (2000), este processo é popular devido ao seu alto rendimento (3 a 12 toneladas/hora) e pelo fato de o equipamento ser móvel, o que permite o processamento da oleaginosa na própria granja.

Uma falha deste processo é que normalmente o tempo de tostagem é determinado de maneira subjetiva, baseado na cor do grão ao sair do

tostador. Isto resulta em grande variação na quantidade de calor ao qual a soja é submetida quando processada por fornecedores comerciais.

O NRC (2001) alerta para a necessidade de controle sobre as condições de aquecimento para se obter o teor de PNDR desejado. O subaquecimento resulta num aumento muito pequeno de PNDR, ao passo que o calor demasiado (dano à proteína) reduz a digestibilidade intestinal da PNDR em função da formação de produtos indigestíveis da reação de Maillard e de complexos protéicos resistentes à ação enzimática (Van Soest, 1994).

Vários estudos têm sido realizados com a tostagem de grãos de soja e alguns utilizam e/ou indicam temperaturas, ao sair o grão do tostador, ao redor de 146 °C (Faldet et al., 1992; Reddy et al., 1993; Satter et al., 1994; Hsu & Satter, 1995; Lykos & Varga, 1995; Pires et al., 1996; Grummer et al., 1996; Dhiman et al., 1997; Merchen et al., 2000). O tempo sugerido de permanência dos grãos no interior do tostador é de 1,5 a 2 minutos, seguidos de “steeping” que corresponde ao acondicionamento imediato do material aquecido, em algum recipiente fechado que permita a ação do calor por um tempo maior, de forma a equilibrar seu efeito em toda a extensão do grão (Faldet et al., 1992; Hsu & Satter, 1995; Merchen et al., 2000). O tempo mais adequado para permanência do grão tostado no processo de “steeping” seria de 30 minutos (Satter et al., 1994).

Stern et al. (1985) verificaram que a extrusão da soja integral a 149 °C diminuiu a degradação ruminal da proteína e, subseqüentemente, aumentou o fluxo de aminoácidos ao duodeno. A absorção intestinal de

aminoácidos essenciais foi maior para soja extrusada, quando comparada ao farelo de soja e à soja integral crua.

Faldet et al. (1991) testaram o efeito da tostagem rápida do grão de soja em tostador comercial e da manutenção subsequente do material tostado em tonéis cobertos com lona por períodos de 30 minutos até 3 horas. Concluíram, através de testes químicos (disponibilidade de lisina), teste “in vitro” e pela avaliação “in situ” que não havia vantagem em prolongar o período de armazenagem por mais de 30 minutos para uma efetiva redução da taxa de degradação da proteína.

Mosimanyana & Mowat (1992) embora reconheçam que alguns resíduos de aminoácidos das proteínas são modificados durante o aquecimento através da reação com outros compostos ou de ligações cruzadas, verificaram que a armazenagem da soja tostada (flocada ou integral), por mais de uma hora, produziu um efeito benéfico na redução da degradação da proteína, sem qualquer efeito nocivo sobre a sua digestibilidade, medida através do NIDA (Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido) e pepsina.

Visando a avaliação de diferentes tratamentos térmicos, Faldet et al. (1992) submeteram grãos de soja, tostados em tostador comercial, a temperaturas (ar no interior do equipamento) de 430 °C e 490 °C. Os grãos, ao saírem do tostador, apresentavam temperaturas de 141 °C e 146 °C, respectivamente, sendo então submetidos ao processo de “steeping” por 30 minutos. Grão de soja cru e tostado a 490 °C, sem “steeping”, foram os outros dois tratamentos. Usando o procedimento “in vitro” com inibidor, proposto por Broderick (1987), os autores estimaram os teores de PNDR, como % da

proteína total, em 26%, 51%, 65% e 61% , respectivamente, para a soja crua, e tostagem a 146 °C sem “steeping”, 141 °C e 146 °C com “steeping”.

Os autores concluíram que o processo de “steeping” confere ao grão um tratamento térmico mais completo e extensivo do que aquele conferido aos grãos de soja tostados comercialmente. Isto seria porque o tempo de permanência da soja em muitos tostadores comerciais não é mais do que 1 a 2 minutos e isto não concede tempo adequado para transferência do calor para o núcleo do grão. Além disso, a reação de Maillard, que é causada pelo aquecimento é tempo-dependente e períodos mais longos de aquecimento resultam em proteção mais completa contra a degradação da proteína no rúmen. Ainda no mesmo experimento, Faldet et al. (1992), concluíram que exposição a temperaturas de tostagem de 154 °C causam danos à proteína da soja, caracterizado pela menor disponibilidade de lisina, quando comparado com grãos de soja não tratados. Também Hsu & Satter (1995) chegaram à mesma conclusão, tostando grão de soja a 153 °C com “steeping” de 30 minutos). Griffin Jr. et al. (1993), em experimentos onde utilizaram ovinos, novilhos e galos cectomizados para avaliar a disponibilidade de nitrogênio e aminoácidos de produtos de soja processada, verificaram que o efeito de proteção fornecido pelo aquecimento influenciou negativamente a digestibilidade intestinal dos aminoácidos. A digestibilidade média entre essenciais e não essenciais foi de 53%, sugerindo que os efeitos do aquecimento sobre a disponibilidade de aminoácidos foram pouco alterados pela intervenção do rúmen. Como implicação desse resultado os autores apontam que a reduzida disponibilidade intestinal dos aminoácidos da

proteína de soja superaquecida pode limitar as respostas animais ao aumento de proteína escape de soja.

Mosimanyana & Mowat (1994) testaram o efeito da tostagem a 150 °C, de soja quebrada e mantida durante 1 hora em caixas cobertas, fornecida a novilhos cruzados Charolês, que recebiam uma dieta a base de silagem pré-secada de alfafa. A suplementação com a soja tostada aumentou o total de aminoácidos essenciais e de cadeia ramificada no plasma e diminuiu a relação de aminoácidos não essenciais versus essenciais. Os parâmetros plasmáticos de aminoácidos estiveram diretamente relacionados à indegradabilidade ruminal da proteína suplementada. A baixa relação plasmática de aminoácidos não essenciais versus essenciais indicaram uma melhora na nutrição protéica.

Estes resultados demonstraram que a soja tostada forneceu a proteína necessária para o intestino delgado de novilhos de crescimento rápido, que se refletiu em ganhos médios diários significativamente superiores.

Lykos & Varga (1995) avaliaram “in situ” o grão de soja cru e tostado a 144 °C, ambos quebrados e/ou moídos em peneira de 4 mm. Verificaram que a tostagem diminuiu a degradabilidade de todos os aminoácidos com exceção da lisina e que o perfil dos aminoácidos da fração protéica da soja não degradada no rúmen diferiu daquele do alimento original.

Ao comparar grão de soja tostado (149 °C ao deixar o tostador + “steeping” de 30 minutos) com subprodutos de origem animal como fontes de PNDR, Grummer et al. (1996) verificaram, que 52,3% da proteína total permaneceu indegradada, quando analisada conforme proposto por Broderick (1987). Frosi (1998) também submeteu o grão de soja a diferentes tratamentos

térmicos e verificou que o “steeping” por 30 minutos conferiu uma menor degradabilidade ruminal à proteína do grão, medida pela liberação de nitrogênio amoniacal “in vitro”.

Percebe-se uma grande variação nas respostas obtidas com a utilização de grãos tratados termicamente, principalmente quando fazendo parte na composição de dietas de vacas leiteiras. Parte dessa variação pode ser atribuída às diferentes formas e graus de exposição ao calor utilizados.

Em se tratando de nutrição de ruminantes, reveste-se da maior importância, a estimativa de quanto da proteína original da dieta passa pelo rúmen, sem ser degradada. Daí, decorre a necessidade de se empregar procedimentos laboratoriais que sejam simples e efetivos na detecção de alterações produzidas principalmente na fração protéica dos alimentos, quando submetidos a tratamento térmico.

## **2.6 Avaliação dos efeitos do tratamento térmico**

Qualquer discussão a respeito da degradabilidade ruminal da proteína dos alimentos deve ser precedida do entendimento de que os valores fornecidos por procedimentos de análises “in vivo”, “in situ”, ou “in vitro” estão sujeitos a algum grau de erro. Variam os tempos de permanência no rúmen, taxas de proteólise e desaminação e, com eles as taxas de degradação. Além disso, a variedade de processamentos, entre os quais o tratamento térmico, e as modificações na estrutura física que sofrem os alimentos até a sua inclusão nas rações, gera riscos ao se generalizar resultados obtidos em situações específicas.

A medição direta “in vivo” seria a mais adequada forma para determinar as velocidades e intensidade de degradação da proteína das forragens no rúmen (Broderick, 1995). Entretanto os resultados obtidos usando esse método não têm sido muito satisfatórios (Broderick, 1995; Stern et al., 1997). As medições “in vivo” da digestão de nutrientes requerem um considerável investimento de recursos; cada experimento requer o uso de vários animais cirurgicamente preparados com cânulas no rúmen, abomaso ou duodeno. O uso de animais canulados requer marcadores apropriados para calcular a velocidade de fluxo da digesta e a diferenciação entre proteína microbiana e proteína não microbiana que fluem para o intestino delgado (Stern et al., 1997). O principal problema com as estimativas “in vivo” da proteína que escapa à degradação no rúmen tem sido a quantificação do fluxo de proteína microbiana. Esta, habitualmente, tem sido distinguida das proteínas do alimento através do uso de marcadores internos, tais como o ácido diaminopimérico (DAPA) para bactérias e o ácido amino etilfosfônico para protozoários. A proteína escape é então estimada por diferença.

Diferenças entre dietas, tempo de permanência no rúmen e do próprio alimento levam à obtenção de valores variáveis de degradabilidade (Satter, 1986). Técnicas melhores para quantificar a proteína microbiana, tais como o uso de ácidos nucléicos ou marcadores externos ( $N^{15}$  ou  $S^{35}$ ) usadas juntamente com repetições das medições do fluxo de proteína para o abomaso ou intestino delgado, melhorarão a precisão destas determinações. Além do método “in vivo” ser caro, trabalhoso, demorado e sujeito a erros, existe hoje um clamor bastante forte por parte dos movimentos de defesa dos direitos dos

animais que dificulta a justificativa do uso de processos cirúrgicos invasivos para pesquisa em nutrição animal.

Não é o escopo desta revisão discutir com profundidade todos os métodos hoje disponíveis para avaliar a degradação ruminal e digestibilidade intestinal de fontes protéicas. Por isso, limitar-se-á àqueles que estão mais diretamente relacionados aos objetivos do presente trabalho, fazendo rápidas referências aos demais.

### **2.6.1 Métodos “in vitro”**

A simulação da digestão ruminal pode ser realizada através de uma variedade de procedimentos laboratoriais, sendo mais amplamente utilizada a incubação “in vitro” da amostra do alimento em líquido ruminal. Esta técnica foi primeiramente descrita por Tilley & Terry (1963). Várias modificações na técnica têm ocorrido desde então para maximizar o processo de digestão, sendo que esta maximização depende de vários fatores, entre os quais incluem-se a diluição do inóculo ruminal, tipo de tampão utilizado, tamanho da partícula da amostra, tipo de moinho usado para moer a amostra e tipo de dieta fornecida ao animal doador.

#### **2.6.1.1 Solubilidade do nitrogênio e fracionamento da proteína**

Vários trabalhos têm sido conduzidos, objetivando prever a degradabilidade ruminal da proteína, tomando como parâmetro a solubilidade do nitrogênio. A solubilidade (em água, solução tampão, saliva artificial, etanol, líquido ruminal autoclavado) apresentou, em trabalhos mais antigos, alta correlação com a degradabilidade no rúmen (Crawford et al., 1978).

Estudos recentes mostram que as proteínas solúveis podem ser degradadas rapidamente ou lentamente e que proteínas insolúveis são degradadas a várias velocidades. Portanto, solubilidade não é sinônimo de degradabilidade, como anteriormente tinha sido proposto (Stern et al., 1997).

Stern & Satter (1984) registraram que a correlação entre a solubilidade do nitrogênio e a degradação protéica ruminal "in vivo" de 34 dietas que continham várias fontes de nitrogênio foi de 0,26. Porém, relação entre degradação e solubilidade do nitrogênio tem sido observada dentro de alimentos semelhantes Stern et al. (1997).

A solubilidade do nitrogênio parece ser um indicador mais útil da degradação protéica quando aplicado a diferentes amostras dentro de um mesmo alimento do que quando usado para comparar vários alimentos com grandes diferenças em suas propriedades físicas e químicas.

Um sub-modelo do Sistema de Proteína e Carboidrato Líquido de Cornell (CNCPS), para avaliar dietas para bovinos, foi desenvolvido para estimar degradação da proteína da dieta (Sniffen et al., 1992). A proteína bruta foi subdividida em 5 frações (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e C).

A fração A é representada pelo nitrogênio solúvel em TCA (ácido tricloro-acético). A proteína indisponível ou ligada à parede celular (fração C) é derivada do NIDA(nitrogênio insolúvel em detergente ácido) e a proteína verdadeira lentamente degradável (fração B<sub>3</sub>) é dada pelo N insolúvel em detergente neutro (NIDN) menos a fração C. A proteína verdadeira rapidamente degradável (fração B<sub>1</sub>) é dada pela proteína precipitável em TCA menos o nitrogênio não protéico (NNP). A proteína verdadeira com uma

velocidade de degradação intermediária (fração B<sub>2</sub>) é representada pelo nitrogênio remanescente. Ainda de acordo com Sniffen et al. (1992), a degradação da proteína foi calculada com base no tamanho do “pool” e a degradação ruminal de frações da proteína em combinações com a velocidade de passagem. As degradações protéicas estimadas correlacionaram-se ( $r = 0,93$ ) com os valores das tabelas do NRC (1989).

#### **2.6.1.2 Método de enzimas proteolíticas**

A utilização de enzimas proteolíticas provenientes de microorganismos do rúmen ou de fontes não microbianas representam um avanço na utilização de métodos de laboratório para a avaliação da degradabilidade da proteína (Russel et al., 1981).

As técnicas enzimáticas têm a vantagem de serem completamente independentes do animal o que poderia resultar em menor variação, portanto tornando esta técnica relativamente simples de ser padronizada. Por outro lado, a validade biológica dos resultados pode ser limitada como resultado de uma atividade enzimática incompleta comparada com o ambiente ruminal (Stern et al., 1997). Mahadevan et al. (1987) encontraram grandes diferenças quando compararam diferentes fontes de proteína usando protease do *Streptomyces griseus* com um extrato de enzimas microbianas ruminais. Concluíram que o uso de enzimas não ruminais em um sistema “in vitro” para predizer a degradação protéica pode ser de valor limitado ou mesmo enganoso, porque as enzimas não ruminais podem não ter ação semelhante a das enzimas de origem ruminal. Por exemplo, proteases do *S. griseus* e *Bacteroides amylophilus* possuem ampla especificidade por clivagem de

ligações peptídicas; entretanto elas podem apresentar diferentes especificidades por estruturas de proteínas quando comparadas a proteínas de misturas de bactérias ruminais (Stern et al., 1997). Quando técnicas enzimáticas são utilizadas é crucial que a concentração da enzima seja suficiente para saturar o substrato, caso contrário o acúmulo de produtos finais durante a incubação pode levar a progressiva inibição da atividade enzimática. O pH também influencia a proteólise.

As alterações na conformação da proteína dependem do pH ao qual a mesma é exposta: por exemplo, o pH 8 favorecerá a solubilidade da proteína e aumentará o nível de peptídeos de alto peso molecular.

A presença de fatores redutores também podem afetar a atividade da enzima ou degradação da proteína porque certas proteínas podem precipitar em meios não redutores.

Como as enzimas provém diretamente do rúmen, a hora da extração ou a dieta fornecida ao animal poderia influenciar a atividade proteolítica das enzimas extraídas. Por outro lado, a baixa degradabilidade poderia ser resultado da autólise de misturas de enzimas. Com as técnicas enzimáticas a degradação protéica de amostras com alto conteúdo de amido não se correlacionam com resultados "in situ" da mesma forma que se correlacionam amostras com baixo conteúdo de amido. A presença do amido nos cereais pode diminuir o acesso das enzimas à proteína. Por isso, alguns autores sugerem o uso de  $\alpha$  - amilase quando se estuda alimentos que possuem conteúdo de amido de 23% ou mais, pois estudos demonstram não haver um efeito negativo da mesma sobre a atividade proteolítica das proteases e, por

isso, é possível incubar ambas as enzimas juntas. Roe et al. (1991) demonstraram que *S. griseus*, ficina e protease neutra com amilase, proporcionaram curvas de degradação protéica que não se relacionaram consistentemente com as apresentadas pela técnica “in situ”. Além do mais, a protease neutra com amilase foi o único método que classificou (ranking) os alimentos de forma similar ao método “in situ” Para Mahadevan et al. (1987), as proteases provenientes de culturas mistas de microorganismos ruminais apresentam resultados mais confiáveis que enzimas de outras origens que podem conduzir a resultados duvidosos por não apresentarem o mesmo grau de especificidade.

#### **2.6.1.3 A liberação da amônia “in vitro”**

Essa técnica já tem sido usada há algum tempo (Mühlbach, 1976) e consiste da incubação do material por períodos de tempo pré-determinados, numa mistura de líquido de rúmen recém coletado e saliva artificial (solução de McDougall). O grau de degradação será função da quantidade de amônia ( $\text{NH}_3$ ) liberada durante o processo. O método é relativamente simples, necessitando-se de animal com fístula no rúmen, para a obtenção do inóculo, de incubadora ou banho-maria e de metodologia de determinação do nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ). O método apresenta como inconveniente a possibilidade de incorporação concomitante, pelos microorganismos do rúmen, do  $\text{NH}_3$  liberado, já que a proteólise e síntese protéica podem ocorrer simultaneamente (Van Soest, 1994). Por outro lado, as concentrações de amônia são grandemente influenciadas pela quantidade e natureza do glicídio que é paralelamente fermentado. Entretanto, as proteínas de alta degradabilidade, via

de regra, apresentam, no curto prazo, uma produção de  $\text{N-NH}_3$  ruminal que excede a capacidade de incorporação pelas bactérias, o que causa a ineficiência de sua utilização pelo ruminante (Broderick, 1995).

Broderick (1987) propôs um método de determinação da degradabilidade de fontes protéicas “in vitro” usando inibidores do anabolismo bacteriano (cloranfenicol e hidrazina) em concentrações que não prejudiquem a proteólise. Trata-se de um método “in vitro” que requer equipamento analítico automatizado e que, além da liberação da amônia das amostras, em comparação com o tratamento “branco” (sem substrato), possibilita a estimativa das taxas de degradação ( $K_d$ ) das proteínas, a determinação dos aminoácidos totais, bem como a percentagem de escape das fontes protéicas, assumindo uma taxa de passagem ( $K_p$ ) pelo rúmen de 0,06/hora. Os períodos de incubação são de apenas 4 horas, com agitação permanente dos frascos e a proporção de proteína degradada é computada através da soma de nitrogênio amoniacal e dos aminoácidos totais liberados, descontando-se, respectivamente, os valores obtidos das incubações em “branco”, isto é, sem amostra. Contudo, o autor alerta sobre a possibilidade do cloranfenicol e/ou da hidrazina interferirem na degradação protéica, podendo os resultados não serem consistentes, especialmente com proteínas de maior degradabilidade.

Neutze et al. (1993) também empregaram o método “in vitro” proposto por Broderick (1987), porém determinaram a proteína degradada através do nitrogênio não precipitável em ácido tri-cloro-acético. Esses autores concluíram que o curto período de incubação impede o uso do método para alimentos de degradabilidade muito lenta, como a caseína tratada com

formaldeído como agente de proteção contra a degradação. Alertam também para um possível efeito da dieta do animal doador do inoculo sobre os resultados, porém ressaltam a validade do método para detectar diferenças entre a amostras do mesmo tipo de alimento e para verificação de danos por calor sobre a degradabilidade da proteína após o processamento (secagem a 100 °C) de amostras de plantas forrageiras.

Posteriormente, Hristov & Broderick (1994) procuraram aprimorar o método “in vitro” de determinação da degradabilidade das proteínas tentando quantificar a incorporação de nitrogênio pelos microorganismos do rúmen através do uso de  $\text{NH}_3$  marcado com  $\text{N}^{15}$ . As incubações foram de 6 horas, com agitação e, em média, as taxas de degradabilidade (corrigidas para a incorporação de  $\text{NH}_3$ ) da caseína, farelo de soja com extração por solvente, farelo de soja com extração do óleo por prensagem (“expeller”), farelo de glúten de milho e grão tostado de soja foram 28% maiores do que no método “in vitro” de Broderick (1987) sem a correção. Segundo os autores, a estimativa da degradabilidade da proteína através da simples liberação de  $\text{NH}_3$ , mesmo com correção por meio do uso do  $^{15}\text{NH}_3$  também não seria satisfatória face à incorporação, pelos microorganismos, da fração não amoniacal (aminoácidos, peptídeos) que é variável entre proteínas de diferentes degradabilidades.

Recomendam a necessidade de, paralelamente, estimar-se a produção de N microbiano, que se apresenta como função linear da taxa de degradabilidade, o que complica a metodologia.

Por outro lado, Klopfenstein et al. (1995) propõem um método simplificado onde a degradabilidade é estimada pela liberação de amônia (em

% do N total da amostra) comparada a dois farelos de soja considerados como padrões, um de degradabilidade elevada (farelo de soja com 30% de proteína escape) e outro de degradabilidade reduzida (“Soypass”- farelo e soja com lignossulfonato de cálcio, com 78% de proteína escape).

Através desse método “in vitro” de degradabilidade relativa, os autores encontraram alta correlação ( $r= 0,92$ ) com o método “in situ”.

Bianchini et al. (1997) verificaram que após incubação “in vitro” por seis horas foi possível detectar diferenças significativas nos valores absolutos e relativos de liberação de amônia de amostras de farelo de soja submetido a diferentes tratamentos térmicos e/ou a adição de açúcares redutores (pentose, hexoses). Já Frosi & Mühlbach (1998a) constataram que um período de quatro horas de incubação “in vitro” também possibilitou a detecção de diferenças significativas na liberação de amônia de amostras de grão de soja cru ou tostado por 3,4,5 ou 7 minutos em forno elétrico a 350 °C.

#### **2.6.1.4 Análise Eletroforética (SDS-PAGE)**

A taxa e extensão da degradação da proteína no rúmen está relacionada à composição de aminoácidos e tipo de proteína, tal como albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas. A gel eletroforese é usada para separar as diferentes frações da proteína de acordo com a resistência friccional ou carga da partícula de proteína, quando forçada a migrar através de um meio viscoso pela ação de um campo elétrico. (Stern et al., 1997).

O uso do SDS-PAGE (Sódio Dodecil Sulfato-Polyacrilamida Gel Eletroforese) permite o isolamento e quantificação direta das proteínas fornecidas e seus produtos de degradação. Portanto, esta metodologia não

somente pode ser usada para prever a degradação ruminal mas, também, para avaliar o tipo de proteína que escapa do rúmen.

Resultados obtidos com o SDS-PAGE são consistentes com valores obtidos usando procedimentos enzimáticos (Stern et al., 1997) ou culturas bacterianas (Mahadevan et al., 1980)

A análise eletroforética é menos trabalhosa e menos dispendiosa que a determinação da digestibilidade “in vivo” e também permite a medição da fração de proteína solúvel. Entretanto são necessários métodos de extração mais eficientes para que o SDS-PAGE possa ser usado para vários alimentos porque as técnicas correntes não permitem a extração de proteínas de certos alimentos tais como farinha de peixe ou farelo de glúten de milho.

#### **2.6.1.5 NIRS (Near infrared reflectance spectroscopy)**

Mais recentemente, Tremblay et al. (1996) enfatizam a demanda da indústria de rações por um método rápido e confiável para identificar suplementos protéicos submetidos a tratamento térmico, propondo a estimativa pela espectroscopia de reflectância no infravermelho proximal (NIRS). Todavia, recomendam mais pesquisa para a evolução do método.

A espectroscopia de reflectância do infra vermelho proximal (NIRS) tem provado ser um método rápido, barato e bastante preciso para estimar a composição química de vários alimentos.

Esta técnica também tem potencial para estimar a degradação da proteína de alimentos no rúmen (Stern et al., 1997).

Reeves et al. (1991) tentaram prever a digestibilidade de forragens usando amostras úmidas e secas de feno de alfafa e de grama de pomar e registraram valores superiores com as amostras secas.

Halgerson et al. (1996) compararam o procedimento “in situ” com o procedimento da enzima proteolítica ficina para estimar a degradabilidade ruminal da proteína de algumas forrageiras (5 gramíneas perenes de estação fria e alfafa). Juntamente testaram o NIRS para avaliar se o mesmo poderia proporcionar estimativas semelhantes de degradabilidade protéica, comparáveis aos dois métodos. Concluíram que o método enzimático da ficina poderia substituir o método “in situ” e que o NIRS poderia ser utilizado para prever a degradabilidade protéica determinada por qualquer um dos métodos.

#### **2.6.1.6 Fermentadores de cultura contínuos**

Vários sistemas de fermentação de cultura contínuos têm sido desenvolvidos para simular o ambiente ruminal, permitindo o estudo de fatores que afetam a ecologia microbiana e a digestão de nutrientes (Hoover et al., 1976; Czerkawski & Breckenridge, 1977; Teacher & Sauer, 1988). As vantagens destes sistemas comparados com as medições “in vivo” incluem a diminuição dos custos, tempo e variações entre unidades experimentais. Os dois sistemas de fermentadores de cultura contínuos “in vitro” mais comumente usados para medir a digestão de nutrientes pelos microorganismos ruminais são o sistema RUSITEC-Rumen Simulation Technique-(Czerkawski & Breckenridge, 1977) e o fermentador de cultura contínuo de fluxo duplo (Hoover et al., 1976). O sistema Rusitec tem um fluxo simples e o tempo de permanência no rúmen é simulado pela colocação dos alimentos em sacos

de nylon e suspendendo estes sacos dentro do vaso de reação por 48 horas. Como estes sistemas são elaborados, caros e requerem inoculação com digesta ruminal, a técnica não é apropriada para análises de rotina da digestão microbiana para ingredientes individuais de rações (Stern et al., 1997)

### **2.6.2 Teste “in situ” de degradabilidade de fontes protéicas**

O método “in situ” com amostras contidas em sacos de náilon suspensos no rúmen (Orskov & McDonald, 1979), apesar dos seus inconvenientes (eventual restrição do acesso microbiano ao material, contaminação do resíduo da amostra com N microbiano e perdas de amostra não degradada através dos poros dos sacos) ainda é o mais difundido em face da sua simplicidade (Broderick, 1995). Recomenda-se padronizar a metodologia em termos de porosidade dos sacos e quantidade de amostra (15 mg de Matéria Seca de amostra / cm<sup>2</sup> de saco), grau de moagem da amostra e duração dos períodos de incubação, de acordo com o tipo de material, volumoso ou concentrado (Broderick, 1995).

Na revisão de Broderick (1995) sobre o assunto, o autor defende o uso do método em razão de que as duas maiores fontes de erro (subestimação da degradabilidade devida à contaminação bacteriana e superestimação por perda de amostra através dos poros) tendem a se compensar, de modo que os resultados seriam confiáveis ao se empregar a equação apropriada e desenvolvida por Orskov & McDonald (1979).

Segundo Poncet et al. (1995), o método “in situ”, apesar de suas limitações, classifica a degradabilidade dos alimentos de modo similar ao

método “in vivo”. Nos resultados obtidos com o método “in vitro” com inibidor, em comparação com o método “in situ”, Neutze et al. (1993) concluem que o método “in vitro” apresenta maior precisão muito embora as estimativas “in vitro” de parâmetros de degradabilidade sejam, muitas vezes, significativamente diferentes das estimativas “in situ” com as mesmas amostras de alimentos protéicos. Tais resultados vêm de encontro aos de Broderick et al. (1988) os quais constataram que, com proteínas de baixa solubilidade, as taxas de degradação determinadas pelo método “in situ” alcançaram, em média, apenas 36% dos valores obtidos pelo método “in vitro” com inibidor. Todavia, conforme esses mesmos autores, como os resultados com as proteínas testadas (farinha de: peixe, carne e ossos, penas e sangue e farelos de: soja, linhaça e girassol) foram de magnitude similar a outros da literatura, incluindo valores “in vivo”, ambos os métodos, “in vitro” e “in situ”, seriam considerados como satisfatórios. Hsu & Satter (1995) ao avaliarem o efeito de diferentes tratamentos térmicos do grão de soja num teste “in situ” encontraram uma taxa de degradação da proteína de 36% / hora para o grão cru e de 10% / hora e 6% / hora, respectivamente, para o grão tratado a 135 °C por zero minuto e 160 °C por 30 minutos. Eles verificaram que, após 16 horas de incubação, não restou resíduo suficiente para as análises de matéria seca e proteína, a partir da incubação de 5 gramas de matéria seca / saco. Os autores, apesar de tratarem as taxas de degradação protéica pelo método “in situ” com certa cautela, consideram a técnica apropriada para testar o efeito do tratamento térmico do grão de soja.

De outra parte, Likos & Varga (1995), ao estudarem “in situ” os efeitos da tostagem (144 °C) e da quebra ou moagem do grão de soja, em sacos de poliéster, com uma proporção de 15mg de matéria seca de amostra por cm<sup>2</sup> de superfície, constataram, entre outros aspectos, que a diminuição do tamanho de partícula aumentou a degradabilidade da proteína bruta enquanto o tratamento térmico apresentou um efeito inverso.

A técnica “in situ” também aparece como procedimento adequado para avaliar a degradação ruminal de outras fontes protéicas, submetidas a diferentes tratamentos que objetivam aumentar a proporção de PNDR do alimento. Assim, Santos et al. (1997) avaliaram a degradabilidade ruminal e a digestibilidade “in vitro” de grãos de canola, submetidos a tratamento térmico e/ou tanino condensado. Associaram a técnica “in situ” com a técnica descrita por Tilley & Terry (1963), para digestibilidade, e concluíram que o tratamento com tanino condensado protegeu eficazmente a matéria seca e a proteína bruta dos grãos de canola frente a degradabilidade, ao mesmo tempo em que diminuiu a digestibilidade “in vitro” da matéria seca e da proteína.

Também Yu et al. (1999a), avaliaram a degradabilidade ruminal e a digestibilidade enzimática (pepsina) “in vitro” de grãos de tremçoço (*Lupinus albus*), submetidos a diferentes temperaturas, num processo de tostagem a seco. Concluíram que o tratamento térmico (130 a 150 °C , 15 a 45 minutos) do grão de tremçoço (*Lupinus albus*) aumenta a suprimento de proteína não degradada sem prejudicar a sua digestibilidade, o que pode ser benéfico para vacas leiteiras de alta produção. Porém alertam que a extrapolação dos dados

obtidos com uma determinada espécie leguminosa para outras espécies, pode ser um equívoco, uma vez que é grande a variação existente entre elas.

Coblentz et al. (1999), compararam a técnica “in situ” com um procedimento “in vitro” que usou a enzima proteolítica *Streptomyces griseus* para determinar as concentrações de PDR em forrageiras. Concluíram que as concentrações de PDR das forrageiras, estimadas através do método “in situ”, podem ser estimadas diretamente através da incubação, de pelo menos duas horas, com uma concentração de 6,6 unidades ativas/ml de *Streptomyces griseus* protease.

### **2.6.3 A técnica “in vitro” de estimativa da reversão da ação “by pass” e da digestibilidade intestinal**

Nas condições brasileiras, recomenda-se mais pesquisas, entre outras, não só as relativas à determinação da degradação das diferentes fontes protéicas no rúmen, como também em relação à digestibilidade intestinal da fração protéica não degradada (Valadares Filho, 1997), pois na medida em que aumenta a proporção de proteína não degradada no rúmen (PNDR) que chega ao intestino, de maior importância se torna a sua digestibilidade intestinal. A determinação “in vivo” da digestibilidade intestinal é extremamente laboriosa e dependente de animais preparados cirurgicamente.

Alguns métodos “in vitro” como técnicas enzimáticas, testes de disponibilidade da lisina e a técnica do saco de náilon móvel não atendem aos preceitos propostos por Calsamiglia & Stern (1995) e que são: 1) simular de perto as condições fisiológicas do ruminante, incluindo efeitos potenciais de fermentação ruminal; 2) ser rápido, confiável e de baixo custo; 3) ser aplicável

a uma ampla gama de suplementos protéicos e 4) detectar, com precisão, diferenças na digestão protéica.

A partir do método originalmente proposto por Akesson & Stahmann (1964), desenvolvido para avaliar proteínas de um modo geral, Calsamiglia & Stern (1995) acrescentaram uma etapa anterior à digestão com pepsina-pancreatina, através da incubação prévia das amostras em sacos no rúmen, por um período de 16 horas, além de ajustarem o método para novas enzimas oferecidas no mercado (pepsina Sigma P-7012 e pancreatina Sigma P-7545) e otimizarem as condições de pH e de duração dos períodos de digestão. O método aplicado à proteína de soja permitiu detectar danos causados por excesso de calor, durante tratamento térmico, além de ser sensível à eventual presença residual de fatores anti-tripsina. Os autores também puderam verificar a baixa digestibilidade intestinal de amostras de farinha de carne e ossos e de farinha de penas hidrolisada, o que concordou com observações de digestibilidade “in vivo” e de desempenho animal de outros trabalhos com os mesmos suplementos protéicos.

O método de Calsamiglia & Stern (1995), empregado por Frosi & Mühlbach (1998 b), permitiu detectar diferenças significativas na digestibilidade intestinal “in vitro” do resíduo protéico do grão de soja tostado em forno elétrico, a 350 °C, durante 4 e 7 minutos, que resultou em, 86,68 e 82,24% de digestibilidade, respectivamente, contra 83,33% de digestibilidade do grão de soja cru.

Também Yu et al. (1999c), usando o mesmo procedimento laboratorial, porém com 3 diferentes tempos de incubação ruminal, avaliaram a

digestibilidade intestinal de grão de fava (*Vicia faba*) e temoço (*Lupinus albus*), submetidos a diferentes níveis de temperatura e tempo de tostagem. Com a temperatura de 150 °C e tempo de exposição ao calor de 45 minutos encontraram valores de digestibilidade intestinal da proteína bruta que variaram de 27,14 a 61,09 % e de 48,29 a 64,92% para a fava e temoço, respectivamente. Os autores concluíram que aqueles níveis de temperatura e tempo de exposição proporcionaram o melhor tratamento térmico para aquelas leguminosas.

## **2.7 Efeitos do tratamento térmico do grão de soja sobre aspectos produtivos**

### **2.7.1. Animais em crescimento**

A exemplo das vacas de produção de leite elevada, em início de lactação, os animais jovens também necessitam de dietas ricas em energia e proteína para que possam atender as suas exigências nutricionais.

Infelizmente são limitados os dados disponíveis sobre a utilização de grão de soja, tratado termicamente, para a alimentação de bezerros(as) e novilhos(as). Provavelmente porque as exigências de aminoácidos, por parte destas categorias animais, sejam facilmente atendidas pela maioria dos alimentos que constituem suas dietas.

Segundo Reddy et al. (1993), o grão de soja cru contém vários fatores anti-nutricionais , como os inibidores da tripsina, a urease e hemaglutininas, que podem reduzir seu valor nutritivo, especialmente para pré-ruminantes. Usando o grão de soja tostado como alternativa para inclusão na dieta de bezerros da raça Holandês do nascimento até 10 semanas de idade,

os autores constataram um maior consumo e ganho de peso para bezerros que consumiram dietas com 15 e 18% de proteína bruta e onde o grão fora submetido a temperaturas de 143 °C e 127 °C, respectivamente.

Reddy et al. (1993) também tostaram grãos de soja a 132 °C, 146 °C e 163 °C , com “steeping” de 30 minutos e os utilizaram em dietas para bezerros de zero a oito semanas. As dietas com grãos tostados a 132 °C e 146 °C apresentaram um maior consumo, tendo a última resultado em maior ganho de peso total quando comparada às demais dietas. O grão tratado a 163 °C apresentou um maior percentual de proteína indigestível (% da PB) medido pelo conteúdo de nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

Albro et al. (1993) substituíram grão de soja cru por grão extrusado como suplemento para bezerros de corte, desmamados, que consumiam feno de gramínea madura, de baixa qualidade (6,5% PB). Registraram ganhos de peso semelhantes, com melhor conversão alimentar para os animais que consumiram o grão de soja extrusado.

Faldet et al. (1992) revelaram que novilhas leiteiras, com peso médio de 197 kg, consumindo uma dieta que continha grão de soja tostado, ganharam o mesmo peso que novilhas que consumiram grão de soja cru (910 g/dia). Os autores atribuíram a falta de resposta ao grão tostado à elevada concentração protéica das dietas (20% PB) e à baixa participação (14%) dos grãos de soja na proteína bruta total das dietas. Resultados semelhantes foram exibidos por Griffin et al. (1993) que trataram cordeiros com grão de soja tostado e extrusado, em comparação com farelo de soja, e não encontraram diferenças nem no crescimento, nem na conversão alimentar.

McEwen (1999), forneceu dietas contendo mistura comercial, ou soja tostada em flocos ou grão de soja tostado, como fontes de suplemento protéico para novilhos cruzados (Limousine e Charolês), pesando em média 234,58 kg.

Os animais permaneceram, no experimento, por um período médio de 200,22 dias, ao fim dos quais atingiram um peso médio de 558,55 kg. O autor verificou que não houveram diferenças nos pesos médios finais e nas medidas relativas à qualidade de carcaça. Porém, os animais que consumiram o grão de soja tostado consumiram 5,4% menos matéria seca do que o grupo que recebeu a mistura comercial. Redução percentual semelhante foi verificada no consumo de matéria seca por quilograma de peso ganho.

### **2.7.2 Animais em lactação**

A possibilidade de fornecer aminoácidos essenciais para serem absorvidos diretamente no duodeno e a redução da quantidade de amônia liberada no rúmen são os principais benefícios obtidos por animais em lactação, ao consumirem proteína protegida da degradação ruminal. Isto pode refletir-se sobre a produção, reprodução e saúde animal. Conforme o NRC (2001), a necessidade de alimentos com uma quantidade mais elevada de PNDR digestível é maior para vacas em lactação de alta produção, onde a maior parte, se não toda a forragem consumida é proporcionada por gramíneas e leguminosas de alta qualidade. Nestas condições, a dieta base normalmente contém quantidades até mais do que adequadas de PDR mas é deficiente em PNDR. Dessa maneira, a suplementação protéica deveria limitar-se a alimentos com elevado conteúdo de PNDR, para evitar grandes excessos de PDR.

Knapp et al. (1991) forneceram a vacas em lactação níveis crescentes de grão inteiro de soja tostado (149 °C por 2 minutos) e esmagado após a tostagem e oferecido em dietas totalmente misturadas. Constataram um aumento de, em média 33,3 litros/dia para 37,5 litros/dia ( corrigido para 3,5% de gordura) com o nível de 18% de grão de soja (base matéria seca) em substituição ao equivalente protéico em farelo de soja.

Já Scott et al. (1991) não encontraram diferenças na produção de leite de vacas da raça Holandês que receberam soja tostada na ração, em comparação com soja crua finamente moída, soja extrusada, soja esmagada e grãos secos de destilaria. Observaram, outrossim, que a tostagem deprimiu a digestibilidade aparente dos ácidos graxos.

Todavia, Knapp et al. (1991) afirmam que o rendimento da lactação pode ser aumentado através do fornecimento de soja integral tostada durante 2 minutos a 149 °C (GEM ROASTER, WINONA, MN), em concentrações maiores do que as recomendadas normalmente. A produção de leite foi melhorada com a suplementação de 12 a 18% do total de matéria seca da dieta, na forma de soja integral tostada, o que não ocorreu quando a percentagem foi aumentada para 24%. Os dados também indicaram que o óleo da soja tostada não interferiu na fermentação ruminal, quando a mesma foi misturada com forragens e concentrados, mesmo em níveis de até 24% da matéria seca da dieta. Por outro lado, Nakamura et al. (1992), usando farelo de soja tratado com licor de sulfito (contendo 20% de xilose) e aquecido por 2 horas a temperatura constante de 93,5 °C, demonstraram que produção semelhante poderia ser obtida quando o farelo de soja era substituído por metade, se tanto,

de farelo de soja tratado. Esta mesma quantidade de soja tratada supriu uma quantidade idêntica de proteína escape da dieta, em comparação com o farelo não tratado. Tice et al. (1993) compararam soja cru com a soja tostada com diferentes tamanhos de partículas, quanto à digestibilidade e produção de leite.

Concluíram, usando vacas canuladas no rúmen e duodeno, que aquelas que consumiram soja integral tostada mostraram um maior desaparecimento aparente de nitrogênio intestinal do que as que consumiram soja integral cru. Também a produção de leite do grupo recebendo soja tostada foi maior embora não se tivesse verificado diferença quanto à composição. O tamanho da partícula da soja tostada também não influenciou na produção ou composição do leite. Com base nesses dados os autores concluíram que, em situações de baixo fornecimento de grão de soja (< 10% na MS) não há efeito da tostagem na produção de leite. Com níveis maiores, porém não excedentes a 18% na matéria seca, há vantagens na tostagem do grão fornecido, tanto quebrado como inteiro, em termos de resposta em produção leiteira. Hsu & Satter (1995), ao considerarem os efeitos variáveis do tratamento térmico do grão de soja observados em outros trabalhos, ponderaram sobre a necessidade de se monitorar, através de procedimentos simples, a eficiência do tratamento com calor já que, segundo eles, na maioria dos experimentos publicados, o tratamento térmico empregado provavelmente não tivesse sido o mais adequado. Segundo esses autores, baseados em testes químicos, "in vitro", "in situ" e "in vivo" (ganho de peso e produção leiteira), o tratamento ótimo do grão de soja seria a tostagem a 146 °C seguida de armazenagem, com manutenção do calor do grão tostado por mais 30 minutos

(“steeping”). Mais recentemente, Grummer et al. (1996), comparando os efeitos do grão tostado de soja com suplementos protéicos de origem animal, concluem que ambos têm efeito positivo na produção de leite, quando usados em dietas à base de silagem de alfafa, formulada de modo a atender as recomendações de 8% de proteína não degradável do rúmen (PNDR) preconizadas pelo NRC (1989), para produções acima de 40 litros/vaca/dia.

Também Pires et al. (1996) estudaram o efeito de soja tostada, farinha de sangue e sebo, como fontes de gordura e proteína não degradada no rúmen, para vacas em lactação. A dieta (base matéria seca) foi constituída por 32,5% de silagem de milho, 22,7% de silagem de alfafa e 45,8% de concentrado. Os tratamentos (ingrediente na MS, PNDR como % da proteína bruta e gordura na MS) foram: 1) farelo de soja (16, 35 e 3,2%), 2) soja integral tostada (18, 40 e 6,2%), 3) soja tostada moída (18, 40 e 6,2%), 4) farinha de sangue (2,7, 40 e 3,2%) e 5) farinha de sangue + sebo (2,7 e 3, 40 e 6,2%). O consumo de matéria seca das dietas com farinha de sangue e soja integral tostada foi 11% menor do que o da dieta com farelo de soja. Não houve diferença na produção de leite e percentagem de gordura mas as dietas à base de soja tostada produziram menor percentagem de proteína no leite.

Dhiman et al. (1997), comparando o efeito do tamanho da partícula do grão de soja tostado, sobre a produção de leite e excreção fecal da soja fornecida, verificaram que o grão tostado a 146 °C, em tostadores comerciais, e mantidos em “steeping” por 30 minutos, proporcionou quantidades significativamente maiores de leite produzido, quando fornecido quebrado ao

meio ou em quatro partes, em comparação com o grão fornecido cru. Não houve diferença quanto aos teores percentuais de gordura, proteína e lactose.

Santos et al. (1998), em uma revisão de literatura, cobrindo 12 anos (1985-1997), sobre a utilização de suplementação protéica para vacas leiteiras, analisaram 108 trabalhos publicados. Em 88 ensaios de lactação analisados, a substituição do farelo de soja por fontes de PNDR resultou em maiores produções de leite em somente 17% das 127 comparações realizadas. Os autores concluem que, a aumento de PNDR em dietas de vacas leiteiras, que normalmente resulta em diminuição da PDR e alteração do perfil de aminoácidos absorvidos, não melhora, de forma consistente, o desempenho produtivo de vacas em lactação. Cabe ressaltar que os autores relacionam como fontes de PNDR comumente usadas nos EUA e analisadas nos trabalhos revisados as seguintes: farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farinha de penas, farinha de sangue, farelo de glúten de milho, grãos secos de destilaria (com e sem solúveis) e grãos secos e/ou úmidos de cervejaria. O grão de soja tostado diminuiu o consumo de matéria seca e percentagem de proteína no leite em duas comparações de sete realizadas. A produção de leite não foi afetada, significativamente, pela tostagem do grão e teve como médias 39,6 kg para o farelo contra 38,6 kg obtidos pelo grão tostado.

### **2.8 A proteína da dieta e os níveis de uréia no sangue e no leite**

Um adequado balanço nutricional é fator da mais elevada importância em rebanhos leiteiros de produção elevada, principalmente em períodos de maior exigência, como no início da lactação. Nesta fase, a vaca atinge o máximo da sua produção, embora o consumo de alimento esteja

deprimido, devendo mobilizar as suas reservas corporais para atender às exigências metabólicas. Nestas ocasiões, para atender a essas demandas, as dietas utilizadas para alimentar vacas leiteiras costumam apresentar maiores densidades energética e protéica, principalmente como alternativa para compensar o baixo consumo. Conforme apontam alguns trabalhos (McCormick et al., 1999; Volden, 1999 e Kalscheur et al., 1999), nesta fase verifica-se uma resposta positiva a concentrações mais elevadas de PNDR na dieta, desde que as exigências microbianas de PDR também sejam contempladas.

De acordo com Wittwer (2000), no bovino 60 a 80% da proteína degradável da dieta é transformada em amônia no rúmen, que é utilizada pelos microorganismos ruminais para a síntese de suas proteínas estruturais e o restante absorvido através da parede ruminal para a circulação geral. Via sangüínea, a amônia absorvida chega ao fígado, onde é transformada em uréia que se excreta, parte por via renal; parte volta ao rúmen via saliva ou por difusão através da parede ruminal, reintegrando-se ao ciclo. O processo de excreção do nitrogênio representa um gasto de energia para o animal e, dessa forma, o aumento na produção de amônia e uréia além de reduzir o apetite também afeta, negativamente, a eficiência produtiva de uma vaca em lactação.

Ainda segundo Wittwer (2000), a uréia sangüínea, em função do seu baixo peso molecular, atravessa o alvéolo da glândula mamária, difundindo-se no leite, existindo uma alta correlação ( $r=0,904$ ;  $p<0,01$ ) entre as concentrações de uréia no sangue e no leite. Dessa forma, a concentração de uréia no sangue, que de acordo com Contreras (2000) apresenta valor de referência de 2,6 a 7,0 mmol/L e no leite, 2,5 a 7,0 mmol/L (Wittwer, 2000),

pode ser utilizada como indicador do “status” ou metabolismo protéico do ruminante. Seguindo esse critério, Roseler et al. (1993), avaliaram os efeitos de diferentes teores de proteína na dieta e também como as diferentes degradabilidades protéicas afetavam a produção de leite e as concentrações de nitrogênio uréico do plasma sangüíneo (PUN) e do leite (MUN). Verificaram que dietas com deficiência ou excesso de proteína ou que fugissem aos ajustes sugeridos pelo NRC (1989), em termos de proporção de PDR/PNDR (60-65/35-40%) são desvantajosas. Concluíram que concentrações de MUN muito abaixo de 10 mg/dL (média do rebanho) podem indicar uma deficiência de proteína na dieta e níveis muito acima de 15 mg/dL estariam relacionados a excesso de proteína degradável.

Além da sua utilidade como parâmetros úteis para avaliar possíveis desequilíbrios no conteúdo de proteína da dieta para vacas em lactação, os valores de PUN E MUN adquirem crescente importância na avaliação e diagnóstico de problemas reprodutivos. Elevado consumo de proteína na dieta, que resulte em valores de PUN e MUN maiores que 19 a 20 mg/dL podem estar associados a alterações do ambiente uterino (Butler, 1998), fisiologia folicular (Sinclair et al., 2000b) e redução nas taxas de prenhez de vacas em lactação (Butler et al., 1996).

Percebe-se, pelo que consta na literatura revisada, que o processo de seleção intensiva aplicado sobre os bovinos leiteiros tem gerado animais altamente produtivos que, para expressar seu potencial, necessitam, cada vez mais, receber alimentação adequada ao seu elevado nível de exigências nutricionais. Proteína degradável no rúmen, que atenda às necessidades de

crescimento dos microorganismos ruminais, pode não ser suficiente para atender às necessidades totais do animal. Daí, a importância que assume a proteína não degradável no rúmen (PNDR).

Entre os alimentos de alto valor protéico e energético, com potencial para servir como fonte de PNDR, o grão de soja assume uma posição de destaque, principalmente levando-se em consideração a sua disponibilidade atual, tanto no estado do Rio Grande do Sul, como no resto do País.

Não se dispõe de informações locais sobre o efeito do grão de soja, tratado termicamente, no desempenho produtivo de vacas em lactação.

Para que se possa obter essas informações, será necessário criar condições para tostar o grão e, complementarmente, lançar mão de métodos laboratoriais expeditos que possibilitem, de certa forma, uma avaliação dos resultados obtidos com o processamento térmico.

Na seqüência, torna-se imprescindível a condução de um ensaio com animais em produção, que possibilite a comprovação e validação dos resultados obtidos em laboratório,

Visando esses objetivos, foi desenvolvido o presente estudo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Experimento 1**

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes tempos, temperaturas e procedimentos de tostagem de grãos de soja, em comparação com grãos não tratados termicamente, sobre a degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal “in vitro”.

##### **3.1.1 Tratamento dos grãos de soja**

###### **3.1.1.1 Matéria prima, local de tostagem e equipamento**

Os grãos de soja utilizados foram colhidos em maio de 2000 e obtidos junto à propriedade rural do Sr. Geraldo Strobel, no município de Panambi (RS), onde encontravam-se armazenados em depósitos apropriados, após passarem pelos processos de limpeza e classificação.

A análise bromatológica apontou valores de 93,14% de matéria seca total, 4,77% de matéria mineral e 95,23% de matéria orgânica. O teor de proteína bruta na matéria seca foi de 32,35%.

O material foi tostado durante o período de 17 a 18/05/2000 nas dependências da Metalúrgica Industrial Helio Weiler, no município de Ijuí (RS).

O equipamento utilizado foi um protótipo de tostador fabricado pela metalúrgica acima referida, a partir de um projeto técnico desenvolvido pelo

Colégio Evangélico Panambi (Panambi-RS) que contou com financiamento parcial através de recursos repassados pelo SEBRAE.

O equipamento funciona através de um sistema de cilindro giratório, pelo qual circula ar quente, proporcionado por uma fornalha aquecida a gás ou lenha, que irá tostar o grão de soja (Apêndice 1).

A velocidade de rotação do cilindro, nesse protótipo, é controlada eletronicamente através de um equipamento denominado inversor de frequência, externo ao aparelho, que permite o estabelecimento da velocidade desejada.

Na superfície externa do cilindro giratório estão fixados dois termômetros com capacidade para medir a temperatura interna do ar circulante no equipamento, até um nível de 500 °C.

#### **3.1.1.2 Tostagem dos grãos de soja**

O processo de tostagem constou da colocação de 10 kg de grãos de soja cru através do alimentador do protótipo, que já se encontrava previamente aquecido, sendo que este procedimento foi repetido oito vezes para cada tratamento, num total de 24 recargas do alimentador e processou-se um total de 240 kg de grãos.

A velocidade de rotação do cilindro foi ajustada para atender às características de cada tratamento, como descrito no tópico a seguir.

#### **3.1.2 Tratamentos**

Os materiais utilizados nos experimentos foram o grão de soja cru e o grão de soja submetido a tratamento térmico.

Os tratamentos são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 Caracterização dos tratamentos a que foram submetidos os grãos de soja utilizados no Experimento 1

Tratamentos	Tempo de tostagem (minutos)	Temperatura do ar no interior do cilindro (°C)	“steeping”	Observações
T1	0	-	não	Grão cru
T2	2	380	sim	
T3	3	380	não	
T4	2	490	sim	

O “steeping” caracterizou-se como o acondicionamento dos grãos recém saídos do tostador em caixas metálicas de parede dupla (em número de três), cujo espaço inter-parietal foi preenchido com cinza que funcionou como isolante térmico (Apêndice 2).

Estas caixas foram hermeticamente fechadas por um período de 30 (trinta) minutos, para que o calor atuasse por maior tempo e mais profundamente sobre o grão. Após esse período o material tostado foi esparramado sobre uma superfície coberta por lona plástica para esfriamento à temperatura ambiente.

Através de orifícios existentes nas paredes das caixas, foram introduzidos termômetros que permitiram monitorar as temperaturas no interior da massa de grãos.

O grão tostado para o tratamento T3 saiu diretamente do tostador para o esfriamento à temperatura ambiente sobre a superfície coberta por lona plástica.

### 3.1.3 Local

A etapa laboratorial do Experimento 1 foi desenvolvida no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria e constou de: incubação dos substratos “in vitro” e “in situ” e análises químicas e bromatológicas dos materiais estudados.

### 3.1.4 Degradabilidade “in situ” da proteína do grão de soja cru e tostado

#### 3.1.4.1 Animal utilizado

Para incubação dos materiais testados (grão de soja cru e tostado), foi utilizado um bovino macho castrado, da raça Holandês malhado de preto, pesando 600 kg de peso vivo, fistulado no rúmen. Durante 7 dias antes da incubação ruminal foram fornecidos, diariamente, 11 kg de feno de alfafa de boa qualidade e 2 kg de concentrado ( 14,5% de proteína bruta), divididos em duas refeições ( 7h30 min e 18h ).

#### 3.1.4.2 Procedimentos experimentais

Foram utilizados sacos de poliéster com dimensões de 10 x 9 cm e poros de 50 microns (ANKOM Technology, Fairport, New York, U.S.A). Foram colhidas amostras de cada tipo de material (grão de soja cru e tostado) que em

seguida foram processadas em moinho equipado com peneira de 2 mm (Nocek, 1988). Foram pesadas, em duplicatas, 8 amostras de 4,5 g cada de cada tipo de grão de soja tostado e 16 amostras, também de 4,5 g cada, do grão de soja cru e acondicionadas nos respectivos sacos. Esse peso proporcionou uma relação de 25 mg/cm<sup>2</sup> e foi estabelecido em função da alta degradabilidade do grão de soja cru, uma vez que a proporção normalmente recomendada de 20 mg/cm<sup>2</sup> proporcionaria uma baixa recuperação de resíduo, insuficiente para as análises de matéria seca e nitrogênio.

Para incubação os sacos de poliéster foram distribuídos, ao acaso, dentro de quatro sacos maiores, de material poroso, com capacidade para acomodar até 20 amostras. Estes sacos maiores foram, então, amarrados à extremidade de um fio duplo de nylon de 50 cm de comprimento ao qual foram fixados pesos de chumbo para garantir sua imersão. O conjunto todo foi introduzido manualmente, até uma profundidade intermediária dentro do conteúdo do rúmen e a extremidade livre do fio de náilon presa à tampa da fístula ruminal, onde foram incubados durante 16 (dezesesseis) horas.

Terminada a incubação, os saquinhos contendo o material remanescente foram retirados de dentro dos sacos maiores e lavados manualmente em um tanque com água corrente. Foram mexidos com movimentos suaves dos dedos, sem espremer e a água sendo renovada constantemente até que permanecesse totalmente límpida. A seguir, o material foi seco em estufa a 60 °C por 48 horas. Foram, então, pesados e os desaparecimentos da matéria seca e nitrogênio dos materiais testados (grão de soja cru e tostado) foram calculados como a perda de MS e N do conteúdo dos sacos (gramas perdidas/gramas inicialmente incubadas). A determinação do nitrogênio foi feita pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980).

### **3.1.5 Digestibilidade intestinal “in vitro”**

#### **3.1.5.1 Local**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria na fase de incubação “in vitro” e durante as análises químicas e bromatológicas. A etapa de centrifugação foi executada em laboratório do Departamento de Bioquímica da mesma universidade.

#### **3.1.5.2 Procedimentos experimentais**

Para este experimento foram utilizados os resíduos remanescentes do experimento “in situ”, descrito no item 3.1.4. O procedimento adotado foi o proposto por Calsamiglia & Stern (1995).

Após a secagem em estufa a 60 °C por 48 horas, análise da matéria seca remanescentes e determinação do nitrogênio, as amostras foram reunidas por tratamento.

Para a digestão enzimática propriamente dita, doze amostras por tratamento, com aproximadamente 15 mg de nitrogênio por amostra foram pesadas e colocadas em tubos de 50 ml, especiais para centrífuga (Sigma Style 3117, T.4668). Foram adicionadas, a cada tubo, 10 ml de solução 0,1N de HCl, de pH 1,9, contendo 1 g/litro de pepsina (Sigma P-7012, Sigma).

Após agitação manual inicial, os tubos foram então incubados por uma hora em banho-maria com agitação tipo Dubnoff (Modelo TE-053, TECNAL), a temperatura de 38 °C. Depois da incubação, foram acrescentados

ainda 0,5 ml de uma solução 1 N de NaOH e 13,5 ml de solução 0,5M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (tampão, padronizada para pH 7,8) contendo 3 g por litro de pancreatina (Sigma P-7545, Sigma).

Novamente agitados manualmente, os tubos foram incubados por mais 24 horas a 38 °C, com agitação permanente e agitação manual a cada 8 horas. Uma vez terminada a incubação, 3 ml de uma solução 100 % (vol/vol) de ácido tricloroacético (TCA) foram acrescentados a cada tubo para cessar a atividade enzimática e precipitar as proteínas indigeridas.

Os tubos foram, então, mais uma vez agitados manualmente e deixados em repouso por 15 minutos, posteriormente sendo centrifugados a 10.000 x g durante 15 minutos (Centrífuga HITACHI®, himac, CR 21E) e congelados para posterior análise. Após descongelamento, foram então colhidos 5 ml do sobrenadante de cada amostra e analisadas para nitrogênio solúvel, pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980), sendo calculada a digestibilidade da proteína, da fração não degradada no rúmen, dos grãos de soja cru e tostados.

A digestão da proteína em pepsina-pancreatina foi calculada como o nitrogênio solúvel em TCA, dividido pela quantidade de nitrogênio da amostra (resíduo dos sacos).

### **3.1.6 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e os dados submetidos à análise de variância com comparação entre as médias pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram executadas pelo Statistics Analysis Systems (SAS for Windows, release 6.11, TS level 0040, 1989-1996)

O modelo matemático usado foi o seguinte:

$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$ , onde:

$Y_{ij}$  = valor observado relativo à unidade  $j$  que recebeu o tratamento  $i$

$m$  = média geral

$t_i$  = efeito do tratamento  $i$

$e_{ij}$  = contribuição do acaso (erro) verificada na unidade  $j$  que recebeu o tratamento  $i$

## **3.2 Experimento 2**

Este experimento teve como objetivo avaliar a produção de leite de vacas da raça Holandês, arraçoadas com suplemento protéico em cuja composição foi incluído grão de soja cru ou tostado, de acordo com parâmetros estabelecidos no Experimento 1.

### **3.2.1 Local do experimento**

O experimento foi realizado na granja São Francisco de propriedade do Sr. Celso Sperotto & Filhos, localizada no município de Santo Augusto, RS.

O município está localizado na mesorregião noroeste (001) do Rio Grande do Sul, microrregião (008) de Ijuí (IBGE, 1994).

### **3.2.2 Instalações**

As seguintes instalações da propriedade foram utilizadas durante a condução dos trabalhos:

#### **3.2.2.1 Estábulo**

Constituído por construção tipo “free-stall”, com capacidade para manejar 60 (sessenta) animais, onde foram fixadas, em área independente e isolada, 12 contenções tubulares metálicas (canzil), com cochos específicos,

para manejo exclusivo do experimento. Nesta área encontravam-se 5 camas com base de terra e cobertas por maravalha, destinadas ao repouso dos animais experimentais. Ainda, sobre a cobertura, havia um cocho com mistura mineral à disposição. Também dispunha de um tronco de contenção, utilizado para exames, inseminações e coletas de material. Sob a área coberta, anexo ao local de manejo dos animais do experimento, foi reservada uma área para preparo das dietas.

#### **3.2.2.2 Área anexa**

Constituída por um espaço contínuo e com acesso permanente ao local reservado para o experimento, piso revestido de concreto, cerca constituída por postes e pranchas de madeira. Nesse local, em área semi coberta, foram alocadas mais sete camas, com base de terra e recobertas por maravalha. Um tanque bebedouro automático foi instalado nesse local.

#### **3.2.2.3 Piquetes**

Dois piquetes, anexos ao estábulo, usados como área de pousio, submetidos a intenso pisoteio, sem condições de pastejo, com acesso permanente a bebedouros localizados no “free-stall”.

#### **3.2.2.4 Silo**

Um silo tipo trincheira, sem revestimento interno, com capacidade para 50 toneladas, distante cerca de 20 metros do local de arraçoamento, forneceu o volumoso utilizado (silagem pré-secada de azevém) no experimento.

#### **3.2.2.5 Sala de ordenha**

A sala de ordenha, conjugada com as instalações do “free-stall”, era dotada de ordenhadeira mecânica, marca Alfa Laval , tipo espinha de peixe, 2 X 6, bomba automática, com um balão medidor de 50 litros e 5 medidores tipo Milk Meter.

#### **3.2.2.6 Depósito**

Um barracão, antigo secador, classificador e armazém de grãos, foi usado para depósito do concentrado e grãos de soja (cru e tostado) utilizados no presente trabalho. Dotado de energia elétrica, também abrigou refrigerador e freezer onde ficavam armazenadas as amostras de leite e sobras coletadas.

#### **3.2.2.7 Laboratórios**

Os seguintes laboratórios foram utilizados, como apoio, durante a realização do experimento: Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos, do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA), Universidade de Passo Fundo (RS), onde foram realizadas as análises bromatológicas de todos os alimentos utilizados na confecção das dietas experimentais; Laboratório de Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE), do mesmo Centro e Universidade, onde realizaram-se as análises qualitativas do leite; Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde foram feitas as análises de uréia no sangue e leite e Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria que executou as determinações realizadas nas sobras coletadas.

### **3.2.3 Animais experimentais**

Os animais utilizados foram escolhidos no rebanho da própria granja São Francisco, constituindo-se de 12 vacas da raça Holandês, variedade malhada de preto, todas num estágio após o pico de lactação, com idade variando entre 3,5 e 9 anos, peso médio de 608 kg e produção diária média de leite, ao iniciar o experimento, de 27 kg (Apêndice 3). Todos os animais encontravam-se em bom estado nutricional e de saúde, manejados conforme o cronograma sanitário e reprodutivo adotado pela fazenda. À época do início do experimento, todas as vacas escolhidas já encontravam-se inseminadas.

### **3.2.4 Manejo experimental**

Após seleção, os animais, devidamente identificados por brincos numerados nas orelhas, foram distribuídos ao acaso, em diferentes grupos, conforme o delineamento experimental adotado, e encaminhados à área do experimento, onde permaneceram desde a fase de adaptação que durou 21 dias até o final do período de tomada de dados que se estendeu por 56 dias.

O período de adaptação serviu para acostumar os animais ao manejo com canzís, de tal forma que, ao início da fase experimental, cada um deles ocupava automaticamente o seu respectivo lugar, diante dos cochos, cada um identificado por número equivalente ao do animal ocupante.

Durante a fase de adaptação ao manejo, os animais experimentais consumiram os mesmos alimentos que eram fornecidos ao restante do rebanho em lactação e seguiram a seguinte rotina: às 5h30min eram recolhidos do piquete de pousio e aguardavam, na área experimental (estábulo e área anexa), a sua vez de serem ordenhados, o que ocorria por volta das 6h30min. Nesse ínterim, mantendo os canzís fechados, era feita a limpeza dos cochos, com retirada das sobras do dia anterior e colocação da dieta correspondente ao primeiro arraçoamento do dia.

A partir do momento em que iniciava a ordenha do grupo experimental, era feita a limpeza das instalações destinadas ao experimento, com remoção do esterco e lavagem, utilizando-se mangueira de aspersão e rodos específicos para essa finalidade.

Finda a ordenha, por volta das 7h30min, os animais eram reconduzidos à área do experimento, aberto o acesso aos canzís e cada um ocupava o seu cocho correspondente, onde ficavam comendo, devidamente contidos, até por volta das 9h30min. Eram então abertas as contenções para que os animais fossem tomar água ou descansar e ruminar, geralmente usando as camas que encontravam-se à disposição. Os canzís eram então fechados e, à medida que os animais retornavam, novamente seu acesso aos cochos era franqueado. Às 11h30min, todos os animais eram liberados dos canzís que eram fechados e permaneciam na área experimental descansando.

Às 13h30min era feita nova limpeza das instalações e servida a segunda refeição do dia. Novamente os animais eram conduzidos aos seus respectivos cochos e repetia-se rotina semelhante àquela desenvolvida no período da manhã. Às 17h todos eram liberados das contenções e conduzidos à área anexa, onde permaneciam até a hora da segunda ordenha, que iniciava por volta das 18h.

Nessa oportunidade, era feita nova limpeza das instalações e servida a terceira e última refeição do dia. Após o retorno da ordenha, por volta das 19h, novamente era franqueado o acesso aos cochos, onde os animais

permaneciam até às 21h30min. A seguir, eram liberados das contenções e dirigiam-se, espontaneamente, ao piquete de pousio, onde permaneciam até serem novamente recolhidos na manhã seguinte.

Durante o período experimental propriamente dito, manteve-se a mesma rotina de manejo, excetuando-se o fato de que os animais passaram a consumir as dietas correspondentes aos respectivos tratamentos e os restos, coletados diariamente, passaram a ser registrados, para garantir uma sobra correspondente a, pelos menos, 10% do total oferecido.

As dietas experimentais eram preparadas duas vezes ao dia, sendo que a refeição da manhã era confeccionada (por volta das 18h) junto com a última do dia anterior e a refeição das 13h30min era elaborada entre 10h e 11h.

Sempre considerando o consumo do dia anterior, retirava-se do silo uma fatia de silagem pré-secada suficiente para elaboração da refeição a ser preparada. Imediatamente o silo era fechado com lona plástica, para evitar exposição do material ensilado. Num carrinho transportador, o volumoso era carregado até a área reservada para a preparação das refeições. Lá, quantidade correspondente a cada animal era pesada em balança digital, com capacidade para pesar 50 kg e precisão de 5 gramas, sendo a seguir acondicionada em sacos devidamente identificados, para posterior distribuição.

Na mesma oportunidade, procedimento semelhante era adotado com respeito ao concentrado, que era pesado e acondicionado em sacos separados. No momento de oferecer a refeição, ambos (volumoso e concentrado) eram manual e cuidadosamente misturados dentro dos próprios cochos.

### **3.2.5 Tratamentos e delineamento experimental**

O experimento constou de quatro tratamentos, assim constituídos:

**T1-** dieta onde um concentrado comercial correspondia a 57,9 % da fração protéica do concentrado;

**T2-** dieta onde o farelo de soja correspondia a 53,8 % da fração protéica do concentrado;

**T3-** dieta onde o grão cru de soja correspondia a 33,9 % da fração protéica do concentrado; e

**T4-** dieta onde o grão de soja tratado correspondia a 37,4.% da fração protéica do concentrado.

Antes de serem adicionados aos concentrados dos tratamentos T3 e T4, os grãos de soja crus e tostados, respectivamente, foram triturados em moinho industrial regulado de tal forma que o produto da moagem fosse constituído, predominantemente, por partículas equivalentes a 1/2 e 1/4 de grão.

As dietas eram isonitrogenadas, com um teor de 17,4 % de proteína bruta na matéria seca, sendo que nos tratamentos T3 e T4, os grãos de soja crus e tostados, respectivamente, representavam 16,77% da matéria seca da dieta total. O balanceamento das dietas foi preparado de acordo com o Software SPARTAN DAIRY RATION EVALUATOR/BALANCER, CP-012, Version 2.01 (VandeHaar et al., 1994).

O grão de soja usado neste experimento foi obtido na mesma fonte citada no Experimento 1 e tratado termicamente no mesmo protótipo. O processo de tostagem realizado no período de 09 a 10/08/2000 constou da

alimentação contínua do tostador, com grão de soja cru, que permaneceu no interior do cilindro pelo tempo de 2 minutos, a uma temperatura de 380 °C. O grão tostado foi colhido e mantido em “steeping” durante 30 minutos, nas mesmas caixas utilizadas no Experimento 1. Após, foi esparramado e deixado esfriar, em temperatura ambiente, sobre superfície coberta com lona plástica.

Optou-se por esse procedimento de tostagem (380 °C, durante 2 minutos) em função da resistência do material de construção do protótipo, que não suportou temperatura em nível de 490 °C, que fora testada no Experimento 1 e que é recomendada na literatura consultada (Knapp et al., 1991, Scott et al., 1991, Grummer et al., 1993, Satter et al., 1994

O delineamento experimental utilizado foi o de um experimento rotativo em quadrado latino (Lucas, 1974), onde foram estabelecidos 3 quadrados, cada um com 4 animais, submetidos a 4 tratamentos em 4 períodos. Os tratamentos foram distribuídos, dentro dos quadrados, de forma balanceada (Sampaio, 1998), a fim de eliminar o efeito residual do tratamento anterior, já que os períodos, de 14 dias cada um, foram aplicados em seqüência, sem observar períodos de intervalo entre a aplicação dos diferentes tratamentos para um mesmo animal. Os sete primeiros dias de cada período serviram para adaptação às dietas e nos sete dias subseqüentes foram feitas as coletas de dados.

Os dados foram submetidos à análise de variância com comparação entre as médias pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram executadas pelo Statistics Analysis Systems (SAS for Windows, release 6.11, TS level 0040, 1989-1996).

Na segunda semana do período experimental ocorreu a morte de um dos animais do quadrado 1 e, na última semana, outro animal do mesmo quadrado foi acometido de mastite aguda que causou uma queda acentuada (superior a 80%) na produção. Em função desses episódios, o quadrado número 1 foi eliminado do experimento e a análise estatística aplicada aos oito animais remanescentes dos quadrados 2 e 3.

### **3.2.6 Duração do experimento**

O experimento foi realizado entre 09-11-2000 a 24-01-2001, tendo sido o período compreendido entre 09-11 a 29-11-2000 destinado à adaptação dos animais ao manejo experimental.

### **3.2.7 Coleta de dados**

#### **3.2.7.1 Alimentos e sobras**

Diariamente, entre o sétimo e décimo terceiro dias foi feita a pesagem e registro individual do volumoso e concentrado fornecidos, sendo que durante o período compreendido entre o oitavo e décimo quarto dias, após a limpeza dos cochos e antes do arraçoamento da manhã, as sobras individuais foram acondicionadas em sacos devidamente identificados e pesadas. A seguir, foi coletada uma amostra de 500 gramas das sobras de cada animal e conservadas em geladeira até o fim do respectivo período. Findo o período, foram reunidas as sete amostras, cuidadosamente misturadas e, a partir dessa mistura obteve-se uma amostra composta de cada animal. Essas novas amostras foram então mantidas congeladas até serem analisadas quanto ao teor de matéria seca, determinado a 105 °C por 24 horas (AOAC, 1984) e nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980). Essas análises

foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

### **3.2.7.2 Produção de leite**

Do oitavo ao décimo quarto dia de cada período experimental, a cada ordenha completa, registrou-se a produção individual de leite, expressa em kg, medida na escala dos próprios medidores automáticos da ordenhadeira mecânica. Para fins de análise, considerou-se a produção total diária ou seja, o somatório das duas ordenhas.

### **3.2.7.3 Composição do leite**

No último dia de coleta de dados de cada período, após registrada a produção individual de cada animal, em cada ordenha, foram obtidas, diretamente do medidor automático, duas amostras de leite, com aproximadamente 50 e 100 ml que, após devidamente identificadas foram mantidas conservadas em freezer (- 18 °C), até serem enviadas para análise.

O Laboratório de Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros-SARLE-do Centro de Pesquisa em Alimentação –CEPA-, da Universidade de Passo Fundo, para o qual foram remetidas as amostras de 50 ml, efetuou as seguintes análises:

- percentagem de gordura
- percentagem de proteína
- percentagem de lactose
- percentagem de sólidos totais

Foi utilizado um analisador eletrônico BENTLEY 2000, que analisa na faixa do infravermelho (método 972.16), regulamentado pela AOAC (1972).

O Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, utilizando-se de um kit LABTEST DIAGNÓSTICA, realizou a análise de uréia no leite, seguindo o Método de Berthelot, modificado (Bergmeyer, 1985), usando as amostras de 100 ml.

### **3.2.7.4 Parâmetro sanguíneo**

Também no último dia de coleta de dados, de cada período, imediatamente antes do arraçoamento das 13:30 horas, foi coletado sangue da veia coccígea de cada animal. Em tubos de coleta com heparina sódica, devidamente identificados, o sangue foi imediatamente centrifugado para separação do plasma. Este foi mantido congelado e enviado ao Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde foi procedida a análise do teor de uréia plasmática, segundo o Método de Berthelot modificado (Bergmeyer, 1985), com o uso de um kit LABTEST DIAGNÓSTICA.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Experimento 1

4.1.1. Degradação ruminal da proteína do grão de soja cru e tostado, avaliada pelo teste “in situ”, com incubação de 16 horas

**As médias dos valores de proteína bruta não degradada, expressos como percentagem da proteína bruta total incubada, obtidas pelos grãos de soja cru e tostados a diferentes temperaturas e tempos de tostagem, são exibidos na Tabela 2.**

TABELA 2- Degradação ruminal da proteína do grão de soja submetido a diferentes tratamentos térmicos, expressa em termos de % de PB não degradada, avaliada através do teste “in situ”.

Tratamento	Tempo de Tostagem (min)	Temperatura ( ° )	“steeping” (sim ou não)	Proteína Bruta não degradada ( % )	Obs.
T1	0	-	-	15,45 <sup>a</sup>	grão cru
T2	2	380	sim	33,07 <sup>bcd</sup>	
T3	3	380	não	34,43 <sup>cd</sup>	
T4	2	490	sim	40,72 <sup>d</sup>	

<sup>a,b,c,d</sup> médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

**Os resultados mostram que houve diferença significativa entre os efeitos causados por diferentes tratamentos térmicos, aos quais o grão de soja**

foi submetido, nas concentrações de proteína bruta não degradada remanescente, após um período de 16 horas de incubação ruminal.

Todos os três tratamentos, representados por diferentes níveis de temperatura e tempos de tostagem, independentemente de terem sido mantidos ou não em “steeping”, diferiram, estatisticamente do grão de soja cru e não foram diferentes entre si. O quadro da análise de variância da variável proteína bruta não degradada no rúmen é exibido no Apêndice 4.

Os valores de PNDR obtidos, individualmente, para cada uma das repetições utilizadas para análise, encontram-se no Apêndice 5.

Observando-se os dados da Tabela 2, percebe-se que a tostagem do grão de soja a 380 °C, durante 2 minutos, com “steeping” de 30 minutos, já aumentou, significativamente, os teores de proteína bruta não degradada no rúmen. À medida em que foram aplicados períodos mais prolongados ou

temperaturas mais elevadas de tostagem, o efeito sobre os teores de proteína bruta não degradada foram crescentes.

Roe et al. (1991), comparando técnicas “in vitro” com a técnica “in situ”, testaram 4 subprodutos de soja e dois tipos de grãos de destilaria, para verificar a percentagem de proteína bruta que escapa à degradação, após períodos de incubação que variaram de 0,5 a 48 horas, usando sacos Ankon (como os aqui usados) com poros de  $53 \pm 10\mu\text{m}$ .

Num período de 24 horas de incubação os autores obtiveram quantidades de PNDR de 7,5% e 0,7% para os grãos de soja tostado e cru, respectivamente. Esses valores estão de acordo com os aqui obtidos e, embora os tempos de incubação tenham sido diferentes, os resultados são análogos. O trabalho não informa sobre os níveis de temperaturas e tempos usados para tostar o grão mas, em função dos valores exibidos, os níveis de temperatura devem ter sido mais baixos. Os autores não encontraram correlação entre os resultados obtidos “in vitro” com os encontrados “in situ”.

Faldet et al. (1991) visando determinar o tempo adequado de “steeping” pós-tostagem, usando tostador tipo comercial, tostaram farelo de soja (205 °C) e grão de soja (420 °) que foram submetidos a “steeping” de até 3 horas. Como método para testar a efetividade do tratamento térmico, usaram o método “in vitro” (liberação de amônia, com inibidor), a técnica “in situ”, digestão intestinal através de sacos móveis e, ainda, a disponibilidade de lisina.

Os períodos de incubação “in situ” com sacos de Dacron (poros de 52  $\mu\text{m}$ ) foram de 1, 4, 8, 16, 24 e 36 horas. Os autores obtiveram valores de PNDR de 24,8%, 48,7% e 54,7% para o grão de soja cru, tostado (não submetido a “steeping”) e tostado + “steeping” de 30 minutos, respectivamente. As análises demonstraram efeitos significativos, na diminuição das velocidades de degradação protéica, causados pela tostagem e tostagem + “steeping”. A degradação diminuiu com os períodos mais longos de “steeping”. Tanto o método “in vitro” como a técnica “in situ” indicaram diminuição na degradação ruminal de proteínas, o que está em concordância com os presentes resultados. Também concluíram que não há nenhum benefício adicional ao estender o período de “steeping” além de 30 minutos.

Huntington & Givens (1995), entre outros, discutindo sobre os fatores que influenciam nos resultados obtidos através da técnica “in situ” chamam a atenção para o efeito animal, ressaltando que sexo e estado fisiológico são fontes de variação potenciais entre animais. Da mesma forma, a dieta basal fornecida pode influenciar sobre o balanço de espécies microbianas que fazem parte da flora total do rúmen.

Com relação às fontes de variação envolvidas na técnica “in situ”, Huntington & Givens (1995) dão ênfase ao local da colocação dos sacos dentro do rúmen. Estes devem ser colocados de tal forma que tenham livre movimentação dentro do líquido ruminal, possibilitando que os sacos sejam espremidos durante a contração da musculatura ruminal, possibilitando as trocas entre o ambiente interno do saco e o rúmen.

**Movimentos restritos dos sacos dentro do rúmen podem levar a uma subestimativa da degradação.**

**No presente experimento, foram incubados, simultaneamente, 80 saquinhos, com 4,5 gramas de amostra cada e isso pode ter influenciado nas variações dos valores de PNDR obtidos dentro de cada tratamento, como pode ser visto no Apêndice 5 e produzido os coeficientes de variação exibidos no Apêndice 4.**

**Stern & Satter (1984), usaram sacos com tamanho médio de poro de  $52 \pm 16 \mu\text{m}$  para comparar estimativas de degradação protéica ruminal “in vivo”, usando dietas mistas com várias fontes protéicas, com o desaparecimento de N de sacos de Dacron, com tempos de incubação variados (1, 4, 8, 12, 17 e 24 horas). Os valores de degradação ruminal do N (incubação de 17 horas), para as dietas que continham soja ou derivados em sua composição foram: 77,1%, 48,5% e 46,9% para o grão cru, grão de soja extrusado a 132 °C e grão de soja extrusado a 149 °C (cada uma dessas fontes participou com 50% do N total da dieta). Embora os autores tenham verificado que o período de incubação de 24 horas apresentou uma maior correlação (68%) com as medições “in vivo”, está se comparando o período de 17 horas (55% de correlação) porque fica mais próximo daquele aqui utilizado (16 horas). Os valores encontrados por Stern & Satter (1984) indicam que os valores de PNDR correspondentes seriam de 22,9%, 51,5% e 53,1% para as dietas com grão de soja cru, extrusado a 132 °C e extrusado a 149 °C, respectivamente. Embora tenham utilizado fontes diferentes das presentes (grão de soja**

extrusado x grão de soja tostado); tipo de animal diferente ( vacas Holandesas em lactação x macho castrado Holandês) e dietas basais diferentes, os resultados obtidos são análogos pois, como no presente, o trabalho de Stern & Satter (1984) mostrou que a proteína do grão cru de soja foi mais sensível à degradação ruminal do que a proteína do grão submetido a tratamento térmico. E, entre os tratamentos térmicos, a soja extrusada a 149 °C proporcionou mais PNDR que a extrusada a 132 °C. Os autores concluem que a técnica “in situ” proporcionou estimativas mais confiáveis da degradação protéica ruminal.

Opinião divergente à de Stern & Satter (1984) foi emitida por Klopfenstein et al. (1995) ao avaliarem os valores de proteína digestível e metabolizável proporcionados por alguns subprodutos de origem animal (farinha de sangue, farinha de carne e ossos e farinha de penas hidrolizada), reconhecidamente possuidores de elevados teores de proteína não degradável no rúmen. Nesse trabalho, como no presente, os procedimentos de análise escolhidos para avaliar a PNDR ( incubação de 12 horas “in situ” e o método de liberação de amônia “in vitro”) classificaram as diferentes fontes protéicas de forma semelhante, porém os autores consideraram que a liberação de amônia proporcionou estimativas mais precisas.

Mais recentemente, Yu et al. (1999a), também utilizando a técnica “in situ”, com incubações de 2, 4, 8, 12 e 24 horas, avaliaram os efeitos do tratamento térmico sobre grãos de tremçoço (*Lupinus albus*). Usaram vacas da raça Holandês em lactação para incubar o material que

foi tostado a temperaturas que variaram de 110 °C a 150 °C e tempos de 15 a 45 minutos. Eles obtiveram valores de PNDR equivalentes a 0,8% para o grão cru e 38,4% para o grão tostado a 150 °C, durante 45 minutos. Estes resultados estão em concordância com os presentes, embora os autores alertem para o fato de que a susceptibilidade ao tratamento térmico da proteína varia grandemente entre as sementes de leguminosas e que ao generalizar a extrapolação de dados obtidos com uma determinada espécie, pode levar a equívocos.

Nocek (1988), numa revisão sobre a técnica da incubação “in situ”, chama a atenção para os fatores que podem influenciar na interpretação dos resultados, tais como porosidade do saco, tamanho da partícula do material incubado, relação tamanho da amostra x área de superfície do saco, efeitos da dieta e contaminação microbiana. Todavia, England et al. (1997), mesmo levando estas observações em consideração, encontraram valores de PNDR obtidos através da técnica “in situ” muito próximos aos valores já anteriormente registrados para algumas fontes protéicas (farinha de sangue, farinha de carne e ossos, farinha de penas hidrolizada e farelo de soja). Com isso, os autores confirmam a confiabilidade do método que classificou a degradação protéica dessas fontes de forma similar a outros métodos (inibidor “in vitro” e inibidor “in vitro” associado à cinética de saturação de Michaelis-Menten).

Uma avaliação dos procedimentos adotados no presente trabalho mostra que apenas o período de incubação (16 horas) difere da

rotina habitual da técnica “in situ” onde, normalmente, o material incubado é avaliado a diversos intervalos de tempo, normalmente variando de zero até 72 horas, em alguns casos. Porém, como não estava sendo avaliada a cinética da degradação protéica ruminal mas, tão somente o efeito do tratamento térmico sobre a fração protéica do grão de soja, supõe-se que esse período de incubação tenha sido suficiente e adequado para esse propósito. Calsamiglia & Stern (1995) demonstraram que esse tempo simulava de forma adequada as condições “in vivo”, num ensaio onde avaliaram a degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal de diversas fontes protéicas.

Como considerado até agora, é sabido que o tratamento térmico da proteína pode aumentar a quantidade desta que escapa à degradação ruminal.

Calor insuficiente, entretanto, pode resultar em menor proteção da proteína. Ao contrário, calor excessivo pode levar à formação de produtos indigestíveis da reação de Maillard, que não podem ser absorvidos no intestino e esta proteína, danificada pelo calor, passa por toda a extensão do intestino, perdendo-se junto com as fezes. Por isso, torna-se imperioso que se aplique uma quantidade adequada de calor para obter-se uma proteína com alta qualidade “by-pass”.

Ao observar-se as médias obtidas pelos diferentes tratamentos (Tabela 2), pode-se especular a hipótese de que o T4 (490 °C, durante 2 minutos, com 30 minutos de “steeping”), tenha proporcionado um superaquecimento ao grão de soja e, desta maneira, gerado produtos

indigestíveis a nível de intestino delgado, haja visto que o seu teor de proteína não degradada no rúmen, após o tratamento térmico (40,72%), corresponde a 2,64 vezes o valor de PNDR constante no grão cru.

O tratamento 3 (T3), que proporcionou uma quantidade de PNDR equivalente a 34,43 % da proteína bruta total, correspondendo a 2,23 vezes o conteúdo de PNDR do grão cru, embora não tenha diferido estatisticamente de T2 e T4, tem contra si o fato de ter utilizado 50% a mais de tempo de tostagem (3 minutos) o que implica em aumento do custo energético de processamento do grão o que não interessa à indústria de processamento de alimentos (Satter et al., 1994).

4.1.2. Digestibilidade intestinal enzimática “in vitro” da PNDR do grão de soja submetido a tratamento térmico

Os valores das médias de digestão enzimática intestinal “in vitro” da PNDR do grão de soja, submetido a diferentes intensidades de processamento térmico, são exibidos na Tabela 3.

No Apêndice 6 são apresentados os dados relativos à análise de variância e os valores obtidos para cada repetição são exibidos no Apêndice 7.

A proteína não degradável no rúmen (PNDR) do grão cru de soja (T1), submetido à incubação ruminal de 16 horas, apresentou uma digestibilidade intestinal enzimática “in vitro” de 86,30 %, não diferindo estatisticamente (  $P > 0,05$ ) do grão tostado a 380 °C e mantido em “steeping” de 30 minutos (T2), com digestibilidade de 88,80% e tampouco do grão tostado a 380 °C, sem “steeping” (T3), que exibiu uma

digestibilidade de 82,47%. Por outro lado, pode-se observar que o tratamento térmico de 490 °C, durante 2 minutos, seguido de “steeping” de 30 minutos (T4), diminuiu significativamente ( $P < 0,05$ ) a digestibilidade do grão de soja, quando comparado aos demais tratamentos.

TABELA 3- Valores da digestibilidade intestinal “in vitro”, expressos em termos percentuais, da proteína não degradável no rúmen (PNDR), do grão de soja submetido a diferentes graus de tratamento térmico

Tratamento	Tempo de Tostagem (min)	Temperatura (°)	“steeping” (sim ou não)	Digestibilidade (%)	Obs.
T1	0	-	-	86,30 <sup>a</sup>	grão cru
T2	2	380	sim	88,80 <sup>a</sup>	
T3	3	380	não	82,47 <sup>a</sup>	
T4	2	490	sim	65,03 <sup>b</sup>	

<sup>a, b</sup>, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a 5% de

probabilidade pelo teste de Tukey

Não existem muitos trabalhos que avaliem, individualmente, a digestibilidade intestinal do grão de soja, cru ou submetido a processamento térmico. É mais comum se encontrar referências onde o grão de soja cru ou processado é avaliado como componente de dietas.

Cabral et al. (2001), avaliando individualmente diversos alimentos, através da metodologia desenvolvida por Calsamiglia & Stern (1995), encontraram um teor de 18,83 % de PNDR para o grão de soja cru, muito próximo do obtido no presente trabalho (15,45%). Porém, o valor

encontrado por aqueles pesquisadores para a digestibilidade intestinal da proteína remanescente no resíduo obtido após as 16 horas de incubação ruminal (25,07%) foi muito baixo, se comparado ao obtido no presente experimento, que foi de 86,30%. Embora sem fazer referência específica ao grão de soja cru, aqueles autores atribuem os valores bastante inferiores que encontraram para a digestibilidade intestinal de outras fontes como o fubá de milho, farelo de algodão, caroço de algodão e farelo de trigo, à elevada degradação ruminal dessas fontes, o que traria como consequência uma disponibilidade para a digestão intestinal da fração de mais difícil digestão.

Todavia, verifica-se que os resultados aqui obtidos estão mais de acordo com os encontrados por Frosi (1998) que, embora tenha utilizado equipamentos e processos de tostagem diferentes dos utilizados no presente experimento, submeteu o seu material experimental ao procedimento de três estádios, sugerido por Calsamiglia & Stern (1995), para determinação da digestibilidade intestinal de fontes protéicas. Assim, obteve valores de digestibilidade intestinal “in vitro” de 83,43% , 86,86% e 82,58% para o grão cru e tostado durante 4 e 7 minutos, respectivamente. A temperatura de tostagem foi constante (350 °C). No trabalho de Frosi (1998), como neste, a tostagem mais branda não afetou a digestibilidade intestinal do grão de soja, que todavia foi diminuída pela tostagem mais enérgica, no caso representada pelo tempo mais prolongado de exposição ao calor (7 minutos). No presente trabalho, a tostagem mais enérgica foi proporcionada pelo nível de temperatura mais

elevado (490 °C), confirmado pelo maior conteúdo de PNDR obtido após a incubação ruminal de 16 horas. Este tratamento (T4), como no de Frosi (1998), também afetou negativamente a digestibilidade intestinal do grão de soja.

Embora com valor numericamente superior, o grão de soja tostado a 380 °C, durante 2 minutos e submetido a “steeping”, não foi significativamente diferente do grão cru. Esse valor de menor digestibilidade apresentado pelo grão cru pode ser atribuído à maior atividade do fator inibidor da tripsina presente no grão e que é desativado pelo tratamento térmico. Mielke & Schingoethe (1981), determinaram concentrações de 2,7 e 24,0 unidades/mg de inibidor da tripsina, para o grão de soja extrusado e cru, respectivamente.

Stern et al. (1985) trabalhando com vacas em lactação e Aldrich et al. (1995) usando novilhos de corte, forneceram grãos crus e extrusados ( 132 °C e 149 °C) e crus e tostados de soja ( 141 °C, 149 °C e 157 °C), respectivamente, em dietas onde essas fontes protéicas participavam com 50% da proteína total da dieta. Obtiveram valores de digestibilidade intestinal superiores para as dietas que continham os grãos de soja tratados termicamente, em comparação àquelas que receberam o grão cru. Ambos os autores creditaram a maior digestibilidade obtida pelas dietas contendo os grãos tratados pelo calor à inativação dos inibidores de proteases. Os resultados obtidos no presente experimento, com os tratamentos mais brandos, não mostraram níveis de diferença significativa, como os obtidos por Stern et al. (1985),

provavelmente porque as temperaturas do grão de soja ao sair do tostador, aqui, devem ter sido inferiores às obtidas por aqueles autores que submeteram o seu material ao processo de extrusão, onde a temperatura de saída do grão, normalmente atinge a faixa dos 132 °C a 149 °C (Satter et al., 1994). Portanto, são processos diferentes, com diferentes fontes de calor ( a alta temperatura atingida pela extrusão é obtida pela fricção do grão forçado através de um pequeno orifício, sob alta pressão).

Outros autores (Bernard, 1990; Knapp et al., 1991; Tice et al., 1993; Mosymanyana & Mowat, 1994; Dhiman et al., 1997) também utilizaram grãos de soja crus e tostados como fontes protéicas nas dietas de seus experimentos e não observaram prejuízo na digestibilidade intestinal do nitrogênio quando o grão tinha sido submetido a tratamento térmico. Pelo contrário, em alguns trabalhos ( Tice et al.,1993 e Mosimanyana & Mowat, 1994) a digestibilidade intestinal da proteína do grão tratado foi superior à do grão cru. A explicação encontrada pelos pesquisadores é a mesma dada por Stern et al. (1985) e Aldrich et al. (1995).

No presente trabalho, a temperatura de 490 °C com “steeping” de 30 minutos proporcionou a mais baixa percentagem de digestibilidade intestinal da PNDR (65,03%), fazendo crer que este tratamento pode ter causado um superaquecimento do grão. Conseqüentemente, fazendo-se uma analogia aos resultados encontrados por Cabral et al. (2001), pode-se especular que a desnaturação protéica e os produtos indigestíveis da

reação de Maillard, causados pela exposição do grão à temperatura mais severa, proporcionaram uma PNDR de digestão mais difícil. Goelema et al. (1998) concordam com essa possibilidade porém acreditam que, em função dos baixos valores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) encontrados em seus materiais submetidos a tratamento pelo calor, a desnaturação protéica, mais do que a polimerização de Maillard, seria responsável pela diminuição da degradabilidade da proteína após tostagem.

Da mesma maneira, conjecturou-se que poderia ter ocorrido superaquecimento da proteína no tratamento por tostagem, no trabalho de Scott et al. (1991), que trataram vacas em lactação com grãos de soja crus, tostados ou extrusados e com tamanhos de partículas variados. A digestibilidade aparente da proteína do tratamento que usou grãos tostados foi diminuída, em relação aos demais (soja cru, extrusado e grãos de destilaria).

Goelema et al. (1999), avaliando outras fontes protéicas quanto à degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína e do amido, verificaram que a tostagem (132 °C, durante 3 minutos), diminuiu levemente a digestibilidade intestinal e total da PNDR de grãos de fava (*Vicia faba*) e tremoço (*Lupinus angustifolius*), quando comparados aos grãos não tratados. Os autores atribuíram essa diferença (4%) ao grau de moagem mais grosseiro apresentado pelas amostras tostadas ao serem incubadas ruminalmente.

A conclusões diferentes chegaram Yu et al. (1999c), que também trataram termicamente grãos de fava (*Vicia faba*) e tremoço (*Lupinus albus*). As temperaturas de tostagem foram 110 °C, 130 °C e 150 °C, todas aplicadas durante 15, 30 e 45 minutos. Posteriormente foram incubadas ruminalmente por 8, 12 ou 24 horas e a estimativa de digestibilidade intestinal obtida através do método de três estádios, proposto por Calsamiglia & Stern (1995).

Como no presente trabalho, o tratamento térmico aplicado a essas diferentes fontes protéicas aumentou, embora não de maneira significativa, a digestibilidade intestinal da proteína. Todavia, esse resultado contribuiu para que a digestibilidade da proteína no trato total fosse significativamente maior nos grãos tratados termicamente, quando comparados aos grãos crus. Os autores chamam a atenção para a influência do tempo de incubação ruminal e método de tratamento térmico que podem ter diferentes efeitos sobre a digestibilidade intestinal, ainda que sobre o mesmo alimento. Concluem que o processo de tostagem transfere o sítio de digestão das proteínas de baixa degradabilidade ruminal para o intestino delgado.

Prestlokken (1999), avaliou a degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal de vários alimentos, entre os quais aveia, cevada, farelo de soja, farelo de colza e misturas destas fontes, em proporções variadas. Os materiais foram tratados pelo calor em intensidade leve (130 °C), média (150 °) e severa (170 °C). A degradação

ruminal e digestibilidade intestinal foram medidas através do método “in situ”, usando sacos de náilon.

A digestibilidade intestinal do farelo de soja, submetido a incubação ruminal de 24 horas (o tempo de incubação mais próximo das 16 horas, aqui utilizadas) aumentou significativamente nos tratamentos com temperaturas de intensidade leve e média e diminuiu no tratamento com temperatura severa, ao ponto de não diferir estatisticamente, embora numericamente superior, do farelo cru. Estes resultados concordam com os encontrados no presente trabalho. O autor conclui que a digestibilidade intestinal da PNDR aumenta com a incubação ruminal, embora os mecanismos que geram essa condição sejam desconhecidos. Todavia, acha que uma explicação plausível seria a degradação, via microorganismos ruminais, de componentes que inibam a digestão enzimática da proteína no intestino delgado. Assim, recomenda que a digestibilidade intestinal da PNDR deveria sempre ser determinada a partir de resíduos previamente incubados ruminalmente e que o tempo de incubação deveria ser de 16 horas. Estas conclusões e recomendações estão em concordância com a metodologia utilizada no presente trabalho, bem como com os resultados aqui obtidos.

As dúvidas sobre o efeito causado pelo tratamento térmico sobre a digestibilidade intestinal da proteína não degradável no rúmen (PNDR), não ficam bem esclarecidas nos resultados obtidos pelos experimentos disponíveis.

Todavia, fatores relacionados ao tipo de processamento a que os alimentos são submetidos, como níveis de temperatura e tempo de exposição ao calor, bem como fatores relativos aos métodos utilizados para avaliar os efeitos dos tratamentos térmicos, podem ser apontados como responsáveis pelos resultados divergentes entre os experimentos.

#### 4.2. Experimento 2

##### 4.2.1. Consumo de matéria seca, proteína bruta e produção de leite.

A composição de nutrientes das dietas utilizadas no presente experimento são exibidas na Tabela 4.

A tabela mostra as diferentes percentagens com que participam os diversos alimentos, cuja proporção objetivou criar dietas que fossem isonitrogenadas e, com uma concentração energética o mais semelhante possível, já que o experimento utilizou animais de particulares e não seria conveniente elaborar dietas desbalanceadas em energia, sob risco de comprometer a condição corporal dos animais experimentais.. Os tratamentos que efetivamente estão sendo comparados são T3 e T4 (que são isonitrogenados e isoenergéticos) sendo que T1 e T2 completam o experimento na condição de dietas que contém em sua composição os concentrados protéicos disponíveis para uso dos produtores de leite da região onde foi desenvolvido o experimento.

**TABELA 4 – Composição e densidade de nutrientes das dietas fornecidas às**

**vacas durante o período experimental (base matéria seca)**

<b>Alimento</b>	<b>T1<sup>1</sup></b>	<b>T2<sup>1</sup></b>	<b>T3<sup>1</sup></b>	<b>T4<sup>1</sup></b>
	------( % )-----			
<b>Pré secado de azevém</b>	<b>68,17</b>	<b>62,47</b>	<b>59,95</b>	<b>58,72</b>
<b>Farelo de glúten de milho</b>	<b>2,57</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Farinha de glúten de milho</b>	<b>10,21</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Farinha de peixe</b>	<b>2,42</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Farelo de soja</b>	<b>8,12</b>	<b>18,67</b>	<b>5,56</b>	<b>5,23</b>
<b>Grão de soja cru</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>16,77</b>	<b>-</b>
<b>Grão de soja tostado</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>16,77</b>
<b>Milho moído</b>	<b>1,47</b>	<b>15,44</b>	<b>4,13</b>	<b>3,61</b>
<b>Trigo moído</b>	<b>3,80</b>	<b>-</b>	<b>9,79</b>	<b>11,40</b>
<b>Açúcar mascavo</b>	<b>0,86</b>	<b>0,95</b>	<b>1,05</b>	<b>1,24</b>
<b>Vitaminas</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>
<b>Minerais</b>	<b>2,33</b>	<b>2,42</b>	<b>2,70</b>	<b>2,98</b>
<b>Densidade de nutrientes</b>				
<b>M.S.</b>	<b>39,3</b>	<b>41,1</b>	<b>42,1</b>	<b>42,2</b>
<b>P.B.</b>	<b>17,4</b>	<b>17,4</b>	<b>17,4</b>	<b>17,4</b>
<b>PNDR (% P.B.)<sup>2</sup></b>	<b>38,6</b>	<b>36,5</b>	<b>30,9</b>	<b>42,9</b>
<b>ELI (Mcal/kg)</b>	<b>1,51</b>	<b>1,57</b>	<b>1,59</b>	<b>1,59</b>
<b>FDA</b>	<b>29,48</b>	<b>27,29</b>	<b>26,77</b>	<b>26,34</b>
<b>FDN</b>	<b>47,60</b>	<b>44,52</b>	<b>43,04</b>	<b>42,09</b>

<sup>1</sup> T1, T2, T3 e T4 = concentrado comercial, farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja

tostado, respectivamente, como principal fonte protéica do concentrado.

<sup>2</sup> estimado a partir do NRC (1989), através do SPARTAN (Vandehaar et al., 1994).

O concentrado protéico usado no tratamento 2 é de uso mais corrente como componente das dietas de vacas leiteiras de produção média e utiliza o milho e farelo de soja como ingredientes importantes em sua formulação. Já o concentrado protéico utilizado no tratamento 1 inclui ingredientes de uso mais restrito, como farelo e farinha de glúten de milho, farinha de peixe e trigo moído, e destina-se a um público mais seletivo, que explora vacas de produção mais elevada. Portanto, T1 serviria como uma espécie de controle positivo e T2 seria o controle negativo do experimento. A única fonte de volumoso incluída nas dietas foi silagem pré-secada de azevém, o que não é o mais comum na exploração leiteira, porém era a única fonte disponível à época da condução do experimento.

Após a tostagem, os grãos de soja utilizados no tratamento 4 permaneceram armazenados por um período de 3 meses até iniciar-se o experimento. Não foram observados quaisquer sinais de rancificação ou deterioração durante este período. Igualmente, Ruegsegger & Schultz (1985) também necessitaram armazenar grão de soja tostado durante um período de 9 meses e não encontraram nenhuma alteração no produto.

Na Tabela 5, são exibidas as médias dos consumos diários de matéria seca e proteína bruta, das produções de leite total e corrigido para 4% de gordura, por quilograma de matéria seca e por quilograma de proteína bruta consumidas.

No Apêndice 8 constam os valores obtidos nas observações individuais e nos Apêndices 9, 10, 11, 12, 13 e 14 os quadros das análises das variâncias para as variáveis CMS, CPB, PLT, PLT 4%, LKMS e LKPB, respectivamente.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas ( $p>0,05$ ) no consumo de matéria seca e de proteína bruta, embora em valores numéricos os tratamentos que usaram o concentrado comercial e o grão de soja tostado como principais fontes protéicas foram inferiores aos tratamentos 2 e 3 que usaram o farelo de soja e grão de soja cru, respectivamente.

**TABELA 5 – Médias dos consumos diários de matéria seca (CMS) e proteína bruta (CPB); das produções diárias de leite total (PLT) e corrigido para 4% de gordura (PLT-4%); por kg de matéria seca (LKMS) e por kg de proteína bruta (LKPB) consumidos, dos**

animais recebendo quatro diferentes fontes protéicas na dieta.

Parâmetros	T r a t a m e n t o s				P > F	C.V. (%)
	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	T3 <sup>1</sup>	T4 <sup>1</sup>		
CMS (kg)	17,73	18,67	19,07	17,92	0,0747	5,79
CPB (kg)	3,19	3,39	3,45	3,21	0,0760	6,63
PLT (kg)	25,80 <sup>b</sup>	27,16 <sup>a</sup>	26,41 <sup>ab</sup>	26,70 <sup>ab</sup>	0,0253	2,99
PLT-4% (kg)	22,38	23,88	23,86	23,88	0,1311	6,08
LKMS (kg)	1,459 <sup>ab</sup>	1,468 <sup>ab</sup>	1,393 <sup>b</sup>	1,492 <sup>a</sup>	0,0375	4,31
LKPB (kg)	8,099 <sup>ab</sup>	8,090 <sup>ab</sup>	7,680 <sup>b</sup>	8,328 <sup>a</sup>	0,0423	5,07

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por letras distintas, nas linhas, diferem entre si pelo

teste de Tukey ao nível de 5% de significância

<sup>1</sup> T1, T2, T3 e T4 = concentrado comercial, farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja

tostado, respectivamente, como principal fonte protéica do concentrado.

Todas as quatro médias foram, entretanto, inferiores ao consumo diário médio projetado de 21,05 kg de matéria seca e de 3,7 kg de proteína bruta. Provavelmente este consumo aquém do previsto deve-se aos teores elevados de fibra em detergente neutro (FDN), que constam da Tabela 4 os quais, por estarem em concentrações superiores ao

estimado pelo NRC (1989) que preconiza valores de 30% e 16% da matéria seca para FDN e FDA, respectivamente, podem ter deprimido o consumo voluntário dos animais. Estes teores elevados de fibra nas dietas, deve-se ao fato de que, em média, aproximadamente 62% da matéria seca total das dietas foi fornecida pelo volumoso (silagem pré-secada de azevém) que possuía teores de 62,6 % e 38,3% de FDN e FDA, respectivamente, na matéria seca. Segundo Mühlbach et al. (2000) um volumoso de boa qualidade é aquele que possui um teor de FDN inferior a 55%. Se o volumoso é de baixa qualidade (teor de FDN acima de 60%), sua fermentação no rúmen é muito lenta e seu consumo é baixo, o que limita também o consumo total de matéria seca (Ospina et al., 2000). Esta situação fica especialmente evidente no tratamento T1, onde o volumoso contribuiu com 68,2% da matéria seca da dieta. Ruegsegger & Schultz (1985), obtiveram consumos de 22,7 kg e 22,4 kg de matéria seca, para vacas tratadas com dietas cujas principais fontes protéicas eram farelo de soja e grão de soja tostado. As vacas utilizadas nesse experimento estavam em fase inicial de lactação e o período experimental se estendeu por 15 semanas. Eram animais mais pesados (média de 640 kg) e com produções médias mais altas (39,0 kg) que os utilizados no presente trabalho e, conseqüentemente, seria esperado que apresentassem consumos mais elevados. As quantidades de matéria seca consumida não foram diferentes entre os tratamentos e os autores não oferecem uma explicação clara para os resultados obtidos. Já Schingoethe et al. (1988), avaliando a resposta de vacas em lactação a tratamentos com farelo de

soja, farelo de soja tratado termicamente e soja extrusada, com metionina protegida contra a degradação ruminal, observaram maiores consumos ( $p < 0,01$ ) de matéria seca para as dietas que continham metionina protegida na sua constituição, independente da fonte protéica. Os autores citam que pesquisas anteriores já registravam que o consumo de matéria seca não era afetado por adição de gordura à dieta ou pelo tratamento térmico da proteína.

Também não discutem sobre as possíveis causas das diferenças observadas.

Ao contrário do que foi verificado no presente experimento, Mohamed et al. (1988), usando vacas de 693 kg, entre o período inicial e médio de lactação, às quais foram fornecidas dietas cujas principais fontes protéicas foram o farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado e uma dieta contendo óleo de soja na forma livre, obtiveram redução no consumo ( $p < 0,05$ ) com as dietas que continham óleo livre, e grão de soja cru ou tostado. O que poderia explicar esse resultado seria o fato de que a digestibilidade das dietas contendo óleo livre e grão de soja cru foi menor ( $p < 0,01$ ) do que a da dieta controle (farelo de soja). A dieta que continha grão de soja tostado, apresentou um consumo exatamente igual ao da dieta com grão de soja cru e sua digestibilidade não foi diferente daquela das demais dietas. Bernard (1990), usando vacas com aproximadamente 64 dias de lactação, às quais foram fornecidas dietas isonitrogenadas (17,0 % PB) e isocalóricas (1,8 Mcal/kg de ELI) em cuja composição apareciam como principais fontes protéicas o farelo de soja

e o grão de soja cru e tostado, obteve consumos de matéria seca de 21,4 kg, 21,7 kg e 22,2 kg , respectivamente, que não foram diferentes, estatisticamente, entre si.

A digestibilidade da matéria seca dos três tratamentos não foi diferente e o maior consumo verificado, em relação ao presente trabalho, pode ter sido em função dos valores mais baixos de FDN, que foram de 36,1%, 36,6% e 38,8% para as dietas com farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado, respectivamente. O autor não discute sobre os resultados encontrados no consumo de matéria seca. Diversos trabalhos, conduzidos para avaliar o uso de fontes protéicas mais ricas em PNDR que as fontes convencionais (farelo de soja, principalmente), também não encontraram diferenças significativas quanto ao consumo de matéria seca. Esses autores (Faldet & Satter, 1991; Tice et al., 1993; Grummer et al., 1993; Grummer et al., 1994; Pires et al., 1996; Grummer et al., 1996, Dhiman et al., 1997) também não aprofundam as discussões sobre os resultados encontrados. Por outro lado, Knapp et al. (1991), trabalhando com níveis crescentes de grãos de soja tostados em rações para vacas leiteiras, não encontraram diferença significativa no consumo de matéria seca das dietas que continham, como fonte protéica o farelo de soja (8,1% da MS) ou grão de soja tostado ( 12%, 18% ou 24% da MS). Os autores creditaram a ausência de depressão no consumo de matéria seca, à medida em que a participação do grão de soja tostado aumentava na composição da dieta, a uma evidência indireta de que o aumento dos níveis de óleo fornecido, na forma de grão de soja tostado, não deprime a

digestão da fibra. Por conseguinte, não afetando o consumo de matéria seca.

Santos et al. (1998), em uma revisão que cobriu 12 anos de literatura publicada a respeito dos efeitos da proteína não degradável no rúmen sobre o desempenho de vacas leiteiras, salientam que não houveram diferenças estatísticas significativas no consumo de matéria seca quando o farelo de soja foi substituído por fontes ricas em PNDR, em nenhuma das comparações.

Ainda com relação aos baixos consumos de matéria seca e proteína bruta, observados no presente experimento, pode-se levar em conta vários fatores que afetam o consumo voluntário. Algumas teorias baseadas no enchimento físico do retículo-rúmen (Allen, 1996), fatores de retroalimentação metabólica (Illius & Jessop, 1996) e ou de consumo de oxigênio (Ketelaars & Tolkamp, 1996), foram propostas para determinar o consumo de matéria seca voluntário. De acordo com Forbes (1996), cada teoria pode ser aplicável sob determinadas condições porém o mais provável é que o efeito aditivo de vários estímulos regule o consumo de matéria seca.

Alimentos de baixa digestibilidade deprimiriam o consumo de matéria seca por causa de sua lenta liberação do rúmen e lenta velocidade de passagem através do trato digestivo. De acordo com Allen (1996) o retículo rúmen e talvez o abomaso possuem receptores sensíveis ao toque e à distensão que influenciam negativamente o consumo de matéria seca à medida em que o peso e volume da digesta se acumulam.

A fração de fibra em detergente neutro (FDN), bastante alta nas dietas deste experimento, por causa de sua geralmente baixa taxa de digestão, é considerada como o principal constituinte da dieta associado com o efeito de enchimento (rumen fill). Por sua vez, a teoria da retroalimentação considera que o animal possui uma capacidade produtiva máxima e uma taxa máxima à qual os nutrientes podem ser usados para atingir suas exigências produtivas. Quando a absorção de nutrientes, principalmente proteína e energia, excede as exigências ou quando a proporção de nutrientes absorvida é incorreta, uma retroalimentação negativa influencia o consumo de matéria seca. No presente trabalho, tanto a concentração de proteína como a de energia das quatro dietas, excedia levemente as quantidades prescritas pelo NRC (1989), que serviu de base para o cálculo das respectivas dietas. Conseqüentemente, esse fator, juntamente com os elevados teores de FDN, poderia ter contribuído para o consumo verificado e que ficou abaixo do previsto.

Finalmente, vale ressaltar que, de acordo com o NRC (2001), o consumo de matéria seca das vacas em lactação é afetado pelas condições ambientais que estejam fora da zona de termoneutralidade ( 5 °C a 20 °C).

Holter et al. (1997) e Eastridge et al. (1998) demonstraram que o consumo de matéria seca diminui quando as temperaturas ambientes excedem os 20 °C, e que o consumo efetivo seria melhor representado por : Consumo de Matéria Seca X  $(1 - ((\text{°C} - 20) \times 0,005922))$ . Esse tipo de

influência certamente esteve presente durante o período experimental, que transcorreu durante os meses de novembro, dezembro e janeiro, justamente a época mais quente do ano. Em determinados dias, o termômetro instalado no interior do “free-stall” chegou a marcar temperatura ambiente de 37 °C (08 dez.), 33 °C (09 dez.), 35 °C (4, 5 e 6 jan.), 28 °C (7 jan.) com queda de consumo visível. Nos demais dias, a temperatura, durante o dia, sempre esteve acima dos 20 °C. Portanto, pode-se considerar um somatório de fatores, como sendo a provável causa do consumo aquém do esperado.

Com relação ao consumo de proteína bruta, que também não diferiu estatisticamente, entre as quatro dietas, pode-se considerar que segue os mesmos princípios que regem o consumo de matéria seca, da qual é um dos constituintes, embora não se deva perder de vista o hábito seletivo, característico dos ruminantes. Por outro lado, como as dietas eram isonitrogenadas e como não houve diferença entre seus consumos de matéria seca, seria de se esperar um comportamento semelhante para a proteína bruta. Em concordância com o verificado no presente trabalho, também não foram observadas diferenças significativas no consumo de proteína bruta nos experimentos conduzidos por Bernard (1990), Faldet & Satter (1991), Grummer et al. (1993), Grummer et al. (1994), Grummer et al. (1996) e Dhiman et al. (1997). Da mesma forma, na revisão realizada por Santos et al. (1998) o consumo de nitrogênio geralmente não foi afetado pela fonte protéica. Fontes ricas em PNDR apresentaram aumento numérico, mas não diferente estatisticamente, no consumo de nitrogênio

em 12 comparações e uma diminuição, também numérica, em 13 comparações.

Os dados de produção de leite total (PLT), apresentaram como médias os valores de 25,80 kg (T1), 27,16 kg (T2), 26,41 kg (T3) e 26,70 kg (T4). O tratamento T2, que tinha como principal fonte protéica o farelo de soja, foi superior ( $p < 0,05$ ) ao tratamento T1 (concentrado comercial) mas não foi diferente dos tratamentos T3 (grão de soja cru) e T4 (grão de soja tostado) os quais, além de serem iguais entre si, também não diferiram estatisticamente do tratamento T1. Considerando os valores de concentração de nutrientes das diferentes dietas (Tabela 4), que foram isoprotéicas e quase idênticas em termos de energia e comparando os dados de consumo de matéria seca e proteína bruta, seria de se esperar que o tratamento T1, efetivamente, apresentasse uma quantidade de leite total produzida inferior aos demais tratamentos. Todavia, usando o mesmo raciocínio e sem considerar possíveis efeitos dos diferentes componentes das dietas sobre a dinâmica ruminal e sobre processo digestivo como um todo, esperar-se-ia que o tratamento T3 fosse aquele que maior produção de leite proporcionaria. Porém, tal não ocorreu. Por outro lado, observando-se os valores obtidos com os tratamentos T2, T3 e T4, que não diferiram entre si, nota-se que estão em concordância com as conclusões a que chegaram Santos et al. (1998), cuja revisão de 12 anos (1985-1997) abrangendo 108 estudos publicados, verificaram que a substituição do farelo de soja por diversas fontes ricas em PNDR não apresentaram diferenças significativas quanto à produção de leite. Porém,

observa-se que, entre as fontes ricas em PNDR relacionadas por aqueles autores, não encontra-se o grão de soja submetido a tratamento térmico.

Já Dhiman et al.(1997), trataram vacas em lactação com diferentes dietas onde o grão de soja cru ou tostado representavam 18% da matéria seca das dietas que foram formuladas para serem isocalóricas ( 1,68 e 1,69 Mcal de ELI/kg de MS, para dieta com grão de soja cru e tostado, respectivamente) e isoprotéicas (17,6% PB). Obtiveram produção de leite significativamente maior ( $p < 0,05$ ) para os animais que receberam a dieta onde o grão de soja tostado tinha sido processado para resultar em partículas maiores (dois ou quatro pedaços), quando comparado à dieta que continha o grão cru. Estes resultados contrastam com os encontrados no presente experimento que também utilizou o grão de soja tostado e processado em partículas maiores (com predomínio de metades e quartas partes). Todavia, Dhiman et al. (1997), utilizaram silagem de alfafa (predominando) e silagem de milho como fontes de volumosos e os animais por eles usados eram de nível de produção mais elevado (37,4 kg. leite/dia). Faldet & Satter (1991), sugerem que produções mais elevadas de leite podem ser obtidas com a inclusão do grão de soja tostado na dieta de vacas em lactação, quando a fonte de volumoso for a silagem pré-secada de alfafa. Segundo Bernard (1990) isto poderia ser atribuído ao fato de a alfafa possuir um teor mais elevado de proteínas rapidamente solúveis em sua composição e, conseqüentemente, o grão de soja tostado garantiria um maior aporte de PNDR para absorção no intestino delgado.

Outro fator que deve ser levado em consideração e que pode ter contribuído para que respostas mais significativas não tenham sido obtidas, quando se analisa a produção de leite total, é a duração do experimento e o estágio de lactação dos animais utilizados. Tice et. al. (1993), que também não observaram diferenças significativas entre produções de leite obtidas a partir de dietas que continham grão de soja tostado ou cru, como principais fontes protéicas, alegam que os períodos por eles utilizados (14 dias), podem não ter proporcionado a adaptação suficiente aos animais para a obter-se respostas em termos de produção de leite. Também o estágio de lactação em que se encontravam os animais (médio para tardio) pode ter contribuído negativamente, pois nessas condições, menores respostas são esperadas.

Essas duas condições também estavam presentes neste experimento e, da mesma forma, podem ter contribuído para que as diferenças não tenham sido mais expressivas.

A produção de leite total, corrigida para 4% de gordura, apresentou como média valores de 22,38, 23,88, 23,86 e 23,88 kg para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente, que não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre si.

Todavia, no presente experimento, ao serem comparadas as produções de leite às quantidades de matéria seca e/ou proteína bruta consumidas, verifica-se que houve uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) favorável ao tratamento que teve o grão de soja tostado incluído em sua

composição (1,492 LKMS e 8,328 LKPB) em relação ao tratamento que usou o grão de soja cru (1,393 LKMS e 7,680 LKPB).

Esse resultado pode ser explicado, considerando-se que, conforme exibido na própria Tabela 5, os animais do tratamento T4 consumiram quantidades iguais ( $p > 0,05$ ) mas numericamente inferiores de matéria seca e proteína bruta ( $p < 0,10$ ) e, em contrapartida, produziram uma quantidade de leite total que foi numericamente superior (300 gramas/dia) ao produzido pelos animais do tratamento T3. Evidentemente, quando se analisou cada parâmetro individualmente, (consumo de matéria seca, consumo de proteína bruta e produção de leite total), os resultados não foram diferentes ao nível de significância estabelecido (5%), todavia, como pode ser observado na Tabela 5, as probabilidades de  $P > F$  para CMS E CPB foram de 0,074 e 0,076, respectivamente, o que as colocou bem próximo do nível mínimo estabelecido. Ao se fazer o cruzamento dos diferentes parâmetros, as diferenças se tornaram evidentes, ou seja: cada quilo de matéria seca consumido do tratamento T4 (grão de soja tostado) produziu 99 gramas a mais de leite do que a quantidade equivalente de matéria seca proveniente do tratamento T3 (grão de soja cru). Por outro lado, cada quilograma de proteína bruta obtido a partir do tratamento T4 produziu 648 gramas de leite a mais do que a quantidade de proteína bruta correspondente, obtida a partir do tratamento T3. Isto significa que, para cada unidade de proteína bruta obtida a partir da dieta contendo o grão de

soja tostado obteve-se um aumento de 8,4 % na produção de leite, em comparação com a dieta que usou o grão de soja cru na sua composição.

Estes resultados, embora contrastem com os obtidos por outros autores (Scott et al., 1991; Tice et al., 1993 e Grummer et al., 1994) que também não observaram diferenças nas produções de leite obtidas a partir de dietas que usaram grãos de soja crus ou tostados em sua composição, encontram concordância com outros trabalhos publicados. Faldet & Satter (1991), registraram produção de leite superior em 4,4 kg/dia e 4,7 kg/dia para tratamento que usou o grão de soja tostado, em comparação com tratamentos que utilizaram farelo de soja e grão de soja cru, respectivamente, como fontes protéicas em dietas para vacas em lactação. Também Knapp et al. (1991), registraram produções de leite superiores para vacas que consumiram dietas que continham 18% e 24% da matéria seca na forma de grão de soja tostado, quando comparadas a dietas que usaram 12% ou 0% de grão de soja tostado.

Os trabalhos de Satter et al. (1994) e Dhiman et al. (1997), também registraram produções de leite superiores para dietas que continham o grão de soja tostado em comparação a dietas que usaram farelo de soja ou grão de soja cru, como fontes protéicas.

Tanto Faldet & Satter (1991) como Satter et al. (1994) ressaltam a importância da forma e intensidade do tratamento térmico aplicado ao grão de soja que tem sido utilizado nos diversos experimentos. Segundo esses autores, grande parte do grão de soja obtido de fontes comerciais apresentam problemas, principalmente de sub-aquecimento, que não

proporcionaria a proteção adequada e esperada para a proteína e, conseqüentemente a quantidade de PNDR contida nesses produtos estaria sendo superestimada.

Daí, que grande parte dos trabalhos que não registraram efeitos positivos do uso do grão termicamente tratado, podem ter usado grãos sub-aquecidos. Em seus experimentos, os autores submeteram os grãos tostados ao processo de “steeping”, nos mesmos moldes a que foi submetido o grão de soja utilizado no presente experimento.

Resultados mais expressivos, em termos de produção de leite, têm sido obtidos quando o grão de soja tostado é fornecido em rações para vacas de elevada produção e, principalmente, na fase inicial de lactação. São animais que, sabidamente, nessa fase, encontram-se em déficit energético e com a capacidade de consumo voluntário de matéria seca deprimido. Um raciocínio lógico permite acreditar que esses resultados devem ser atribuídos, portanto, não apenas ao aumento na concentração de PNDR do grão tostado mas, também, a um maior aporte energético, que seria fornecido pelo óleo contido no grão e que também seria liberado de forma mais lenta no rúmen (Mohamed et al., 1988, Bernard, 1990), não prejudicando a degradabilidade da fibra e mantendo níveis adequados e proporcionais de ácidos graxos voláteis (AGV) bem como da chegada de óleo protegido para absorção direta no intestino delgado.

No presente experimento, as dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas; portanto, quando o conteúdo de PNDR (T4) foi

aumentado (Tabela 4), o conteúdo de proteína degradável no rúmen (PDR) foi diminuído.

Nesse caso, torna-se discutível se a resposta obtida, em termos de leite produzido por quilograma de proteína bruta consumida, foi devido ao fornecimento de aminoácidos adicionais para absorção no intestino delgado e posterior utilização ou se é devido a uma redução nas exigências de energia para eliminação da amônia (NH<sub>3</sub>) produzida no rúmen.

Stern et al. (1985), tratando vacas em lactação com dietas que continham ou farelo de soja ou grão de soja cru, ou grão de soja extrusado como fontes protéicas, verificaram que a soja tratada termicamente por extrusão a 149 °C diminuiu a degradação protéica no rúmen e aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o aporte e absorção de aminoácidos (essenciais e não essenciais) a nível de intestino delgado. Como verificado no presente trabalho, Stern et al. (1985) também mostraram que o tratamento térmico do grão de soja não diminuiu a digestão da proteína no intestino delgado mas, na verdade, até aumentou-a o que foi atribuído a uma mais intensiva desnaturação do inibidor da tripsina.

A conclusões semelhantes também chegaram Aldrich et al. (1995), testando os efeitos da temperatura de tostagem aplicada a grãos de soja.

Como no presente trabalho, esses pesquisadores usaram o grão de soja tostado e posteriormente mantido em “steeping” por um

período de 30 minutos. Fornecidos a novilhos (Angus X Simental), os grãos tostados a uma temperatura de saída do tostador de 141 °C aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) a quantidade de aminoácidos totais chegando e sendo absorvidos no intestino delgado, bem como o aporte ao intestino de aminoácidos de origem não bacteriana (portanto da PNDR). Embora não tenha sido objeto de medição, é provável que o mesmo tenha ocorrido no presente experimento, o que explicaria as diferenças encontradas na produção de leite.

Uma possível explicação teórica para o efeito dos aminoácidos absorvidos sobre um aumento na quantidade de leite produzida, estaria associada ao papel da lactose na lactogênese.

Conforme Bachman (1992), a quantidade de lactose sintetizada por uma célula (no caso célula do tecido secretor da glândula mamária) determina a quantidade de água secretada por aquela célula a qual, por sua vez, determina a quantidade de leite produzido pela célula, por que a água é, quantitativamente, o principal constituinte do leite. O papel da lactose na determinação do volume do leite é devido à sua solubilização na água. À medida em que a lactose é sintetizada pelas células mamárias, ela cria um desequilíbrio osmótico dentro das células que é corrigido com o incremento da entrada de água para o interior da célula.

A lactose, que é um dissacarídeo, é formado pela ligação de uma molécula de glicose com uma molécula de galactose. Portanto, quanto maior for a produção de lactose, maior quantidade de glicose é necessária para a sua síntese. Como já largamente conhecido, a absorção

de glicose, a nível de intestino delgado nos ruminantes é insignificante e a maior parte da glicose circulante, e consumida por estes animais, é obtida através do processo de gliconeogênese, a partir do propionato e de aminoácidos.

No presente experimento, a quantidade de volumoso, em todas as dietas, desfavorecia a concentração molar do ácido propiônico que, portanto, não deve ter sido muito abundante para servir como substrato para a síntese de glicose. Por sua vez, a quantidade elevada de PNDR poderia estar disponibilizando uma maior quantidade de aminoácidos circulantes, para esse fim. Além disso, segundo Holmes & Wilson (1990), a reação marca passo da síntese de lactose, ou seja, aquela reação que pode limitar a produção e que ocorre à luz do aparelho de Golgi, é catalizada pelas enzimas galactosil transferase e  $\alpha$ -lactoalbumina que, na qualidade de enzimas são proteínas.

Na ausência desta última, a galactosil transferase, por arranjos químicos, pode intermediar a síntese de lactose, porém necessita de uma concentração muito elevada de glicose. Dessa maneira, o ritmo de síntese de  $\alpha$ -lactoalbumina regula a síntese de lactose. Assim, se ocorrer uma redução na disponibilidade de aminoácidos diminui a síntese de  $\alpha$ -lactoalbumina que, por sua vez também irá reduzir a síntese de lactose. Então pode-se admitir que a maior quantidade de PNDR disponibilizada pelo grão de soja tostado, que entrou na composição da dieta do tratamento T4, pode ter disponibilizado uma maior quantidade de aminoácidos que, além de favorecerem a gliconeogênese, servindo como

substrato para tal, também podem ter exercido papel chave no fornecimento de enzimas que catalizam a síntese de lactose.

#### 4.2.2. Produção de gordura, proteína, lactose e sólidos totais

Na Tabela 6 são exibidas as médias dos teores (%) e produção (quilogramas) de gordura, proteína bruta, proteína verdadeira, lactose e sólidos totais obtidos do leite das vacas submetidas aos diferentes tratamentos, durante o período experimental.

**TABELA 6 –Médias dos teores (%) e de produção (kg) de gordura (GORD),**

**proteína bruta (PROT), proteína verdadeira (PROT VER), lactose**

**(LACT) e sólidos totais (SLS TOT) no leite produzido por vacas**

**recebendo quatro diferentes fontes protéicas na dieta.**

Parâmetros	T r a t a m e n t o s				P > F	C.V. %
	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	T3 <sup>1</sup>	T4 <sup>1</sup>		
GORD (%)	3,14	3,21	3,33	3,30	0,5440	8,83
GORD (kg)	0,789	0,861	0,886	0,883	0,1608	10,66
PROT (%)	3,15	3,14	3,09	3,06	0,1465	2,68
PROT VER (%) <sup>2</sup>	2,92	2,88	2,82	2,82	0,1156	3,14

<b>PROT (kg)</b>	<b>0,789</b>	<b>0,845</b>	<b>0,811</b>	<b>0,818</b>	<b>0,2227</b>	<b>6,27</b>
<b>PROT VER (g)<sup>2</sup></b>	<b>729,9</b>	<b>774,8</b>	<b>742,8</b>	<b>750,7</b>	<b>0,3343</b>	<b>6,42</b>
<b>LACT (%)</b>	<b>4,37</b>	<b>4,44</b>	<b>4,44</b>	<b>4,47</b>	<b>0,6211</b>	<b>3,17</b>
<b>LACT (kg)</b>	<b>1,115</b>	<b>1,200</b>	<b>1,175</b>	<b>1,204</b>	<b>0,1379</b>	<b>6,75</b>
<b>SLS TOT (%)</b>	<b>11,45</b>	<b>11,60</b>	<b>11,65</b>	<b>11,63</b>	<b>0,5548</b>	<b>2,58</b>
<b>SLS TOT (kg)</b>	<b>2,897</b>	<b>3,126</b>	<b>3,084</b>	<b>3,116</b>	<b>0,1135</b>	<b>6,58</b>

<sup>1</sup> T1, T2, T3 e T4 = concentrado comercial, farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja

tostado, respectivamente, como principal fonte protéica do concentrado.

<sup>2</sup> proteína verdadeira calculada com base em DePeters et al. (1992), considerando que aproximadamente 7% da proteína bruta é constituída por nitrogênio não protéico (NNP) e que o nitrogênio uréico corresponde a 50% do NNP.

Os valores encontrados, para cada repetição, constam dos Apêndices 15 e 16 e os quadros das respectivas análises de variância encontram-se nos Apêndices 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, e 26.

Os dados constantes na Tabela 6 mostram que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), entre os tratamentos, para nenhum dos constituintes do leite. As dietas fornecidas aos animais experimentais, embora parcialmente diferentes em sua composição, foram calculadas para obter desempenhos semelhantes no que se refere à produção e composição do leite. Naturalmente, o que se esperava é que algumas particularidades inerentes às características físicas de alguns dos componentes (por exemplo a tostagem do grão de soja) pudesse exercer alguma influência sobre o padrão de consumo e desempenho produtivo geral.

Como se observou no segmento anterior, não foram registradas diferenças significativas nos consumos de matéria seca e proteína bruta dos diferentes tratamentos e o único tratamento (T1) que proporcionou menor produção de leite foi justamente aquele que apresentou o menor consumo (quer de matéria seca, quer de proteína bruta).

Portanto, seria de se esperar que os constituintes do leite também não apresentassem diferenças significativas, principalmente em termos de teores (%). Os resultados encontrados neste experimento encontram concordância com inúmeros outros trabalhos que, avaliando diferentes fontes de proteína não degradável no rúmen, como componentes das dietas de vacas em lactação, também não registraram diferenças significativas na composição do leite.

Stern et al. (1985), usando farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja extrusado a 132 °C e 149 °C, obtiveram valores de 3,17%, 3,24%, 3,20% e 3,26% para o teor de gordura e 3,32%, 3,23%, 3,28% e 3,22% para o teor de proteína, respectivamente, que são bastante parecidos com os obtidos no presente trabalho e também não foram afetados pela fonte protéica. Também Mohamed et al. (1988), alimentaram vacas em lactação com grão de soja cru e grão de soja tostado, e obtiveram produções de leite semelhantes no que se refere aos teores de gordura, proteína e caseína. Os autores associam os resultados obtidos, quanto aos teores de gordura, ao fornecimento de gordura (óleo) na dieta. A adição de óleos poli-insaturados ou parcialmente hidrogenados, na forma livre, tenderiam a diminuir a percentagem de gordura no leite, ao passo que a

suplementação com sementes de oleaginosas inteiras manteria ou aumentaria a percentagem de gordura no leite. Algumas teorias têm surgido para explicar a depressão induzida da gordura do leite, causada pelo óleo da dieta. Entre elas, a inibição causada por ácidos graxos de cadeia longa sobre a atividade da acetil-CoA carboxilase mamária; a redução da digestibilidade da fibra, causando uma diminuição da proporção acetato : propionato ruminal e, finalmente, a da acumulação de ácidos na forma trans no rúmen, durante a hidrogenação de ácidos graxos insaturados de cadeia longa.

No presente experimento, os tratamentos T3 e T4, continham grãos de oleaginosa (soja), em sua composição. Portanto, seria de se esperar, à luz das teorias acima referidas, que estes tratamentos, principalmente o T3, poderiam gerar menores teores de gordura no leite. Todavia foi este tratamento o que apresentou o valor numérico mais elevado para a produção de gordura, embora não tenha sido diferente, estatisticamente dos demais. Provavelmente, possa se atribuir esse fato às quantidades de grão que foram fornecidas nas dietas, que corresponderam a 16,77% da MS total e que geraram uma quantidade de aproximadamente 660 gramas de óleo, para um consumo diário de 21,05 kg de matéria seca total. Essa quantidade de óleo, encapsulada no grão, seria insuficiente para afetar negativamente a digestibilidade da fibra, sem considerar que grande parte, em função do tamanho da partícula e do adicional tratamento térmico no T4, passaria intacto para o abomaso. Essa mesma hipótese é aventada por Knapp et al. (1991), que obtiveram

teores mais elevados de gordura no leite de vacas que consumiram dietas com 18% de grão de soja tostado (base MS), quando comparados com vacas que consumiram dietas com 0% e 12% de grão de soja tostado. Também os trabalhos de Grummer et al. (1994) e Dhiman et al. (1997), comparando o grão de soja tostado com o grão de soja cru e seus efeitos sobre a composição do leite, verificaram que os teores de gordura, proteína e lactose não foram afetados pelas fontes protéicas. Também Pires et al. (1996), forneceram grão de soja tostado e cru, como fontes protéicas, para vacas leiteiras e não observaram diferenças significativas quanto aos teores de gordura e proteína no leite obtido a partir destes dois tratamentos mas, tanto o grão de soja cru como o tostado produziram teores mais baixos ( $p < 0,05$ ) de proteína, quando comparados a uma dieta controle que usou o farelo de soja, como fonte protéica. Embora no presente trabalho, os tratamentos tenham produzido teores de proteína no leite que não são significativamente ( $p > 0,05$ ) diferentes entre si, os valores numéricos obtidos mantém uma certa correspondência com os resultados obtidos por Schingoethe et al. (1988), Grummer et al. (1996), além de Pires et al (1996), que registraram valores percentuais mais baixos de proteína na composição de leite produzido a partir de dietas que continham grão de soja tostado, em comparação com dietas que usaram o farelo de soja como principal fonte protéica. Esses autores comentam que, normalmente, quando se fornece grão de soja tostado na dieta de vacas em lactação, ocorre uma depressão nos teores de proteína do leite produzido. Embora não apontem uma razão concreta para esse

fato, especulam sobre a possibilidade da ausência de algum aminoácido limitante que estaria faltando na digesta duodenal das vacas que receberam fontes mais ricas em PNDR. Dunlap et al. (2000), também atribuem a diminuição da quantidade de proteína produzida no leite à quantidades inadequadas de PNDR.

Ainda com relação aos teores de proteína, observa-se na Tabela 6 que, embora o valor de 3,09% obtido pelo tratamento T3 fosse numericamente superior ao valor de 3,06% exibido pelo T4, após o expurgo do nitrogênio não protéico estes valores se equivaleram (2,82%). Provavelmente, a maior proteção fornecida pela tostagem do grão usado na dieta do T4, tenha possibilitado um aporte de proteína com um perfil de aminoácidos mais adequado para a síntese protéica, além de ter diminuído a produção de amônia no rúmen, o que contribui para um menor aporte de nitrogênio uréico no leite e, conseqüentemente, um teor mais elevado de proteína verdadeira.

Roseler et al. (1993), usando uma metodologia similar à do presente para estimar os teores de proteína verdadeira, testaram os efeitos de diferentes proporções de PDR e PNDR frente às recomendações do NRC (1989), em relação às concentrações de nitrogênio uréico no sangue (NUS) e nitrogênio uréico no leite (NUL). Como no presente, não observaram efeito das dietas sobre os teores percentuais de proteína verdadeira, todavia, em virtude das diferenças detectadas na produção de leite total, registraram quantidades menores de proteína verdadeira produzida com as dietas que usaram

simultaneamente quantidades menores de PDR E PNDR ou quantidades maiores de PDR com quantidades menores de PNDR, em relação as recomendações do NRC (1989)

No presente trabalho, não se verificou esse efeito, talvez porque, em todos os tratamentos, as quantidades de PNDR eram superiores ao recomendado pelo NRC (1989).

A lactose é o constituinte menos sensível a manejos da dieta que visem alterar a composição do leite. Neste experimento, seus teores não foram influenciados por nenhum dos tratamentos, da mesma forma como não o foram nos trabalhos conduzidos por Bernard (1990) e Dhiman et al. (1997).

Bernard et al. (1990) obtiveram teores de 4,87%, 4,84% e 4,91% para a lactose obtida no leite produzido a partir de dietas que usaram o farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja tostado, respectivamente, como fontes protéicas. São valores não diferentes entre si ( $p > 0,05$ ) mas em valores absolutos superiores ao registrados no presente trabalho. Valores absolutos superiores aos encontrados no presente, mas também não diferentes entre si ( $p > 0,05$ ) foram observados por Dhiman et al. (1997) que alimentaram vacas em lactação com grãos de soja cru e tostados, com diferentes tamanhos de partículas. A dieta que continha grãos crus inteiros, produziu um leite com teor de lactose correspondente a 4,72%; já as dietas que incluíram grão de soja tostado inteiro e quebrado ao meio; quebrado ao meio e em quatro partes; quebrado em quatro partes e partículas menores e, moído grosseiramente, produziram

leite com teores de lactose de 4,69%, 4,71%, 4,71% e 4,66%, respectivamente.

Os sólidos totais, apresentados na Tabela 6, também não foram influenciados pelas diferentes fontes protéicas o que seria de esperar, já que representam um somatório do comportamento dos demais constituintes do leite.

4.2.3. Teores de nitrogênio uréico no plasma sanguíneo (NUS) e no leite (NUL)

Na Tabela 7 são exibidas as médias dos teores de nitrogênio uréico no plasma sanguíneo e no leite, das vacas que receberam quatro diferentes tratamentos, que utilizaram diferentes fontes protéicas na sua composição.

Nos Apêndices 27 e 28 são mostrados os valores obtidos pelas diferentes unidades experimentais e, nos Apêndices 29 e 30, são exibidas as tabelas de análise da variância.

**TABELA 7 –Médias dos teores de nitrogênio uréico no plasma sanguíneo**

**(NUS) e leite (NUL), de vacas recebendo quatro diferentes fontes**

**protéicas na dieta, em mg/dL**

Parâmetros	T r a t a m e n t o s				P > F	C.V. (%)
	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	T3 <sup>1</sup>	T4 <sup>1</sup>		

---

NUS	20,13	21,02	20,90	18,24	0,0834	11,03
NUL	17,53 <sup>b</sup>	20,17 <sup>a</sup>	20,38 <sup>a</sup>	18,85 <sup>ab</sup>	0,0145	8,79

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por letras distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância

<sup>1</sup> T1, T2, T3 e T4 = concentrado comercial, farelo de soja, grão de soja cru e grão de soja

tostado, respectivamente, como principal fonte protéica do concentrado.

Os valores de nitrogênio uréico no plasma sangüíneo não foram influenciados ( $p > 0,05$ ) pelas fontes protéicas utilizadas, contrariando o que poderia ser esperado, principalmente nas dietas com menor PNDR e, em especial, no tratamento 3, onde o grão de soja cru fazia parte da composição da dieta.

Embora não tenham sido diferentes entre si ( $p > 0,05$ ), os valores de NUS registrados para os tratamentos, exceto o tratamento T4, foram superiores aos valores considerados como referência 2,6 mmol/L a 7,0 mmol/L de uréia no sangue (Contreras, 2000), que correspondem a 7,28 mg/dL a 19,59 mg/dL de nitrogênio uréico (considerando-se que 1 mg/dL = 10 mg/L = 0,167 mmol/L e que o valor da uréia é 2,14 vezes maior que o valor do N uréico).

Normalmente, valores altos de NUS são associados a dietas com valores elevados de PDR, com concomitante falta de quantidades

adequadas de matéria orgânica fermentável no rúmen, que impossibilita uma melhor utilização do nitrogênio como fonte de crescimento microbiano. O conseqüente aumento na produção de amônia no rúmen, levaria a um aumento na concentração deste metabólito no sangue com o subseqüente aumento na concentração de uréia sangüínea.

Todavia, convém ressaltar, que quantidades mais elevadas de PNDR também geram a mesma condição, pois excessos de nitrogênio tanto de origem ruminal como pós-ruminal são eliminados do organismo através do mesmo processo de síntese hepática de uréia. Portanto, excesso de proteína, quer na forma de PDR, quer na forma de PNDR aumentarão o NUS (Roseler et al., 1993). No presente trabalho, conforme pode ser visto na Tabela 4, os valores de PNDR estimados, como percentagem da PB, estavam acima do recomendado pelo NRC (1989), em todos os tratamentos, que eram isonitrogenados. Os valores de PB também estiveram em torno de 10% acima dos valores recomendados pelo NRC (1989).

Provavelmente, estas condições devem ter contribuído para os valores mais elevados de NUS, em todos os tratamentos. Todavia, o que se percebe é que, embora com diferenças não significativas, estatisticamente, o tratamento T4 apresentou um valor numérico inferior ( $p < 0,10$ ) aos demais tratamentos. Isto poderia ser creditado ao efeito do tratamento térmico efetuado sobre o grão de soja, na medida em que deve ter ocorrido uma menor produção de amônia ruminal neste tratamento e,

possivelmente, um melhor aproveitamento no nitrogênio absorvido a nível de intestino delgado.

Rodriguez et al. (1997) observaram valores mais elevados de NUS (16,1 mg/dL) para vacas que receberam dieta mais rica em PNDR (41%), quando comparadas a animais que consumiram dietas que possuíam 29% de PNDR na sua composição. Os autores atribuem esse resultado a um provável maior consumo de aminoácidos endógenos e fornecidos pela dieta, como substrato para gliconeogênese, em virtude de uma disponibilidade limitada de propionato e uma subsequente perda de nitrogênio como uréia.

Como no presente trabalho, também Sinclair et al (2000a) não encontraram variação nos níveis de uréia plasmática quando submeteram vacas em lactação a dietas que variavam quanto às velocidades de liberação de energia e nitrogênio no rúmen. Nesse trabalho, os autores obtiveram um valor médio de 7 mmol/L de uréia plasmática (19,99 mg/dL de nitrogênio uréico), com dietas cujo teor de proteína bruta variou de 14,5% a 15,2 % .

Juntamente com o acompanhamento da produção e da observação da condição corporal, Hammond (1997) recomenda o monitoramento das concentrações de nitrogênio uréico no sangue (NUS) e nitrogênio uréico no leite (NUL), de fêmeas lactantes, como ferramentas úteis para avaliar o “status” protéico e energético dos animais, bem como suas respostas às mudanças na alimentação.

Ao contrário dos valores observados para o NUS, as concentrações de NUL foram significativamente ( $p < 0,05$ ) influenciadas pelas dietas. O tratamento T1, que tinha como principal fonte protéica um concentrado comercial, apresentou a menor concentração de nitrogênio uréico no leite produzido (17,53 mg/dL). Não foi diferente do T4 (18,85 mg/dL), que usou grão de soja tostado, mas foi diferente dos demais, que tinham farelo de soja (T2, 20,17 mg/dL) e grão de soja cru (T3, 20,38 mg/dL), como fontes protéicas em seus concentrados.

Por sua vez, o tratamento T4 (grão de soja tostado) não foi diferente de T2 (farelo de soja) e de T3 (grão de soja cru).

Os resultados, à luz das discussões anteriores, que levaram em consideração as diferentes proporções de PNDR e PDR nas dietas, se comportaram dentro do esperado, pois os tratamentos com maiores proporções de PNDR na sua formulação foram os que originaram as menores concentrações de nitrogênio uréico no leite.

As razões para esse comportamento, seriam aquelas já discutidas nos parágrafos anteriores, válidas para os resultados obtidos com as concentrações plasmáticas de nitrogênio uréico (NUS). Vale aqui ressaltar o fato de que o concentrado comercial, que proporcionou a principal fonte protéica para o T1, possuía em sua composição alguns alimentos como o farelo de glúten de milho e a farinha de peixe, que contém elevados teores de PNDR, o que conferiu uma concentração de PNDR estimada (NRC, 1989) de 38,6% para a dieta total, que só ficava

aquém do valor de PNDR estimada para o tratamento T4, cuja principal fonte protéica era o grão de soja tostado.

Porém, o que chama atenção nos resultados obtidos é o fato de que a ordem estabelecida para os valores obtidos para o NUL não foi a mesma obtida pelo NUS.

Segundo Hammond (1997), a concentração de nitrogênio uréico no sangue (NUS) é altamente correlacionada com a concentração de amônia ruminal e a concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL) é altamente correlacionada com a concentração de nitrogênio uréico no sangue (NUS).

Roseler et al. (1993) encontraram uma elevada correlação ( $r=0,88$ ) entre o nitrogênio uréico no plasma (NUS) e nitrogênio uréico no leite (NUL) e, o que se esperaria era que esta correlação fosse mantida no presente experimento, o que não ocorreu. Uma possível explicação para esse fato, estaria relacionada aos horários de coleta das amostras de leite e de sangue que, em função do manejo ao qual eram submetidos os animais experimentais não garantiam a obtenção de amostras nos mesmos moldes em que são obtidas as amostras em ensaios de perfil metabólico. Como os animais do presente experimento tinham livre acesso aos cochos com o alimento durante todo o dia, era comum observar-se os mesmos em diversas e diferentes situações alimentares. Ao passo que alguns comiam mais rapidamente e logo abandonavam o comedouro para procurar água e, posteriormente dedicar-se à ruminação e ao descanso, outros consumiam o seu alimento mais devagar, iam aos

bebedouros e voltavam novamente os cochos. Alguns, por volta das 16 horas, por exemplo, já haviam consumido toda a sua dieta da tarde, ao passo que outros eram conduzidos para a ordenha vespertina sem terem ainda consumido todo o seu alimento. Portanto, nos momentos de coleta de sangue, é de se crer que diversas e diferentes situações metabólicas estivessem em andamento, o que poderia gerar resultados um pouco diferentes, nas concentrações de NUS e NUL.

Segundo DePeters & Cant (1992), o nitrogênio uréico, que compreende a maior parte do nitrogênio não protéico (NNP) do leite, por ser de fácil difusão através da glândula mamária, logo está em equilíbrio com o plasma. Gustafsson & Palmquist (1993), verificaram que ocorre um equilíbrio relativamente rápido entre a uréia do soro e a uréia do leite e, se a uréia for utilizada como um indicador do “status” nutricional, as variações diurnas da uréia sangüínea e do leite devem ser levadas em consideração. Ainda segundo esses autores, a hora da coleta versus a hora da refeição é crucial.

Portanto, considerando-se esses fatores, é possível entender-se porque os resultados obtidos com os valores de NUS não necessariamente deveriam ser correspondentes aos valores de NUL.

Já Roseler et al. (1993), ao contrário do presente trabalho, encontraram correspondência entre os valores de NUL e NUS quando submeteram vacas em lactação a dietas com diferentes proporções de PDR e PNDR, sendo que as dietas que usaram simultaneamente quantidades menores de PDR E PNDR originaram a produção de leite com

os menores teores de NUL ao passo que as dietas que ultrapassaram em 20% as recomendações do NRC (1989) para os teores de PDR e PNDR, produziram resultados de NUL maiores. Essas duas situações refletem condições de déficit e superávit energético-protéico, respectivamente.

Jonker et al. (1999), avaliando um modelo matemático para a predição de nitrogênio uréico no leite, concluem que são inúmeras as variáveis a serem consideradas no uso deste indicador. Variação na composição das forrageiras, danos proporcionados na proteína por superaquecimento, rações completas misturadas inadequadamente, etc. Todavia, acreditam que o valor do NUL pode ser utilizado para detectar e avaliar problemas nutricionais bem como pode ser útil para aplicações ambientais, neste caso, visando diminuir problemas de poluição com nitrogênio, principalmente dos recursos hídricos das fazendas leiteiras.

Particularmente, pode-se acrescentar que uma das grandes vantagens do monitoramento dos teores de NUL, além de avaliar a eficiência do uso das fontes energéticas e protéicas das dietas, seria a possibilidade de controlar os teores de NNP no leite, o que poderia resultar em produções leiteiras com maiores teores de caseína e menores de uréia. Isso viria de encontro aos interesses da indústria de laticínios, na busca de obter o máximo rendimento do leite na fabricação dos seus derivados, principalmente o queijo.

Conseqüentemente, favoreceria o produtor, que poderia produzir um leite mais valorizado, considerando-se os programas de

**incentivo instituídos por algumas indústrias, que costumam conceder bônus para leite de melhor qualidade.**

## 5. CONCLUSÕES

- A tostagem a 380 ou a 490 °C, durante 2 minutos com posterior “steeping” de 30 minutos, ou a 380 °C, por 3 minutos sem “steeping” aumenta a proporção de proteína não degradada no rúmen, do grão de soja.

- A incubação ruminal “in situ”, por 16 horas, é efetiva na determinação dos efeitos do tratamento térmico sobre o grão de soja submetido a tostagem durante 2 ou 3 minutos a 380 °C ou 490 °C, seguido de “steeping” de 30 minutos.

- A tostagem do grão de soja a 380 °C durante 2 minutos, seguido de “steeping” de 30 minutos ou a 380 °C durante 3 minutos , sem “steeping”, não diminui a sua digestibilidade intestinal enzimática “in vitro”.

- Dietas formuladas para vacas em lactação, com a inclusão de grão de soja tostado a 380 °C, durante 2 minutos, com posterior “steeping” de 30 minutos, na proporção de 16,77 % da matéria seca total, proporcionam maior quantidade de leite por quilograma de matéria seca e de proteína bruta consumidos, em comparação com igual proporção de grão de soja cru.

- A inclusão do grão de soja cru ou tostado a 380 °C, por 2 minutos, com “steeping” de 30 minutos, na razão de 16,77% da matéria seca total da dieta, não influi na composição do leite nem nos teores de nitrogênio uréico no sangue (NUS) e nitrogênio uréico no leite (NUL).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- É possível que se consiga níveis de tratamento térmico mais adequados do grão de soja, na medida em que se possa produzir equipamentos de tostagem com material mais resistente a altas temperaturas.

- Nos ensaios com vacas em lactação, a literatura aponta resultados mais efetivos na utilização de fontes protéicas ricas em PNDR, com animais no início da lactação e níveis de produtividade mais elevados. Todavia, na falta dessas condições, parece que também é possível se conseguir resultados favoráveis, embora menos expressivos, com animais de produção menor e em estágio de lactação mais avançado.

- Considerando os preços de janeiro de 2001, quando foi concluída a fase experimental de campo do presente trabalho, estimou-se que o custo por quilograma de leite produzido foi de R\$ 0,17 (dezessete centavos de real) para os tratamentos T1 e T3; de R\$ 0,18 (dezoito centavos de real) para o tratamento T2 e de R\$ 0,16 (dezesesseis centavos de real) para o tratamento T4.

- Tomando-se o T2 como padrão, para uma produção diária de 1.000 (mil) quilogramas de leite, os tratamentos T1 e T3 resultariam numa economia de R\$ 3.650,00 (Três mil, seiscentos e cinqüenta reais) e o T4 de R\$ 7.300,00 (Sete mil e trezentos reais) ao ano.

- Com base nesses dados, seria economicamente vantajoso o uso do grão de soja tostado no arraçamento de vacas em lactação, principalmente em épocas de baixo preço de comercialização do produto.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKESON, W.R.; STAHMANN, M.A. A pepsin-pancreatin digest index of protein quality evaluation. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.83, p.257-261, 1964.
- ALBRO, J.D.; WEBER, D.W.; DELCURTO, T. Comparison of Whole Raw Soybeans, Extruded Soybeans, or Soybean Meal and Barley on Digestive Characteristics and Performance of Weaned Beef Steers Consuming Mature Grass Hay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.1, p.26-32, 1993.
- ALDRICH, C.G. et al. The Effects of Roasting Temperature Applied to Whole Soybeans on Site of Digestion by Steers: II. Protein and Amino Acid Digestion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.2131-2140, 1995.
- ALLEN, M.S. Physical Constraints on Voluntary Intake of Forages by Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.12, p.3063-3075, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16th ed. Gaithersburg: AOAC, 1972. 1997p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTL. **Official Methods of Analysis**. 14th ed. Arlington: AOAC, 1980. 1018p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 14th ed. Washington: AOAC, 1984. 1094p.

BACHMAN, K.C. Managing Milk Composition. In: VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. (Coords.) **Large Dairy Herd Management**. Gainesville : [ s.n.], 1992. p.336-346.

BERGMEYER, H.U. **Methods of Enzymatic Analysis**. Florida: VHC, 1985. 453p.

BERNARD, J.K. Effect of Raw or Roasted Whole Soybeans on Digestibility of Dietary Nutrients and Milk Production of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n. 11, p.3231-3236, 1990.

BERTRAND, J.P.; LAURENT, C.; LECLERCQ, V. **O Mundo da Soja**. São Paulo: Hucitec, 1987. 139p.

BIANCHINI, R.F.; MÜHLBACH, P.R.F; OKADA, M. Liberação de amônia. "in vitro" do farelo de soja tratado com açúcares redutores e submetidos a tratamento térmico. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.121-123.

- BITENCOURT, D. et al. A Situação Atual da Pecuária Leiteira no Rio Grande do Sul e Tendências Futuras. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul, 2.,2000, Panambi. **Anais ...** Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.11-23.
- BONETTI, L.P. Distribuição da soja no mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.) **A Soja no Brasil**. São Paulo: [ s.n.], 1981. p.1-16.
- BRODERICK, G.A. Determination of protein degradation rates using a rumen in vitro system containing inhibitors of microbial nitrogen metabolism. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.58, n.3, p.463-475, 1987.
- BRODERICK, G..A . Methodology for the determining ruminal degradability of feed proteins. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES,1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 1995. p. 137-176.
- BRODERICK, G. A . et al. Comparison of estimates of ruminal protein degradation by in vitro and in situ methods. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.66, n.7, p.1739-1745, 1988.
- BUTLER, W.R. Review: Effect of Protein Nutrition on Ovarian and Uterine Physiology in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.9, p.2533-2539, 1998.
- BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and Milk Urea Nitrogen in Relation to Pregnancy Rate in Lactating Dairy Cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.4, p.858-865, 1996.
- BUTTERY, P.J.; FOULS, A.N. Amino Acid Requirements of Ruminants, In: RECENT Advances in Animal Nutrition. Nottingham: Butterworths, 1985. p.257-271.
- CABRAL, L.S. et al. Estimação da Digestibilidade Intestinal da Proteína de Alimentos por Intermédio da Técnica de Três Estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n2, p.546-552, 2001.
- CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. A Three-Step In Vitro Procedure For Estimating Intestinal Digestion Of Protein In Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.5, p.1459-1465, 1995.
- CASPER, D.P, et al.. Synchronization of Carbohydrate and Protein Sources on Fermentation and Passage Rates in Dairy Cows. **Journal of Dairy Sciences**, Champaign, v.82, n 8, p.1779-1790, 1999.

- CASTRO, L.A.B. de,. Utilização e aspectos tecnológicos. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.) **A Soja no Brasil**. São Paulo: [ s.n.], 1981. p.813-915.
- COBLENTZ, W.K.; ABDELGADIR, I.E.O; COCHRAN, R.C. Degradability of Forage Proteins by In Situ and In Vitro Enzymatic Methods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.2, p.343-345 , 1999.
- CONTRERAS, P.A. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: Gonzáles, F.H.D. (Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p23-30.
- CRAWFORD JR, R.J, et al. Degradation Of Feedstuffs Nitrogen In The Rumen Vs Nitrogen Solubility In Three Solvents. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.46, n.6, p.1768-1775, 1978.
- CZERKAWSKI, J.W.; BRECKENRIDGE, G. Design And Development Of A Long - Term Rumen Simulation Technique (RUSITEC). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.38, n.3, p.371-384,1977.
- DePETERS, E.J.; CANT, J.P. Dairy Foods- Nutritional Factors Influencing the Nitrogen Composition of Bovine Milk: a Review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.8, p.2043-2070, 1992.
- DePETERS, E.J.; FERGUSON, J.D.; BAKER, L.D. Nonprotein Nitrogen and Protein Distribution in the Milk of Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.11, p.3192-3209, 1992.
- DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. Particle Size of Roasted Soybeans and the Effect on Milk Production of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1722-1727, 1997.
- DUNLAP, T.F.; KOHN, R.A.; DOUGLASS, L.W. et al. Diets Deficient in Rumen Undegraded Protein did not Depress Milk Production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.8, p.1806-1812, 2000.
- EASTRIDGE, M.L.; BUCHOLTZ, H.F.; SLATER, A.L. et al. Nutrient Requirements for Dairy Cattle of The National Research Council Versus Some Commonly Used Software. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.11, p.3049-3062, 1998.
- ENGLAND, M.L, et al. Comparison of In Situ and In Vitro Techniques for Measuring Ruminant Degradation of Animal By-Product Proteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p.2925-2931, 1997.

- FALDET, M.A.; SATTER, L.D. Feeding Heat-Treated Full Fat Soybeans to Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.9, p.3047-3054, 1991
- FALDET, M.A.; SON, Y.S.; SATTER, L.D. Chemical, In Vitro, and In Vivo Evaluation of Soybeans Heat-Treated by Various Processing Methods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.3, p.789-795, 1992.
- FALDET, M.A, et al. Chemical, In Vitro, And In Situ Evaluation Of Heat-Treated Soybean Proteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.8, p.2548-2554, 1991.
- FORBES, J.M. Integration of Regulatory Signals Controlling Forage Intake in Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n.12, p.3029-3035, 1996.
- FROSI, R.A.M. **Efeitos de diferentes tratamentos térmicos em grãos de soja (*Glycyne max*, L.) na liberação de amônia “in vitro” e digestibilidade intestinal “in vitro” da fração da proteína não degradada no rúmen.** 1998. 78f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- FROSI, R.A M.; MÜHLBACH, P.R.F. Tratamento térmico do grão de soja para ruminantes. 1. Efeitos na liberação de amônia *in vitro*. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35.,1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998a. p.248-250.
- FROSI, R.A M.; MÜHLBACH, P.R.F. Tratamento térmico do grão de soja para ruminantes. 2. Efeitos na digestibilidade intestinal *in situ* da proteína. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998b. p.251-253.
- GANDOLFI, V.H. et al. Morfologia, anatomia e desenvolvimento. In: **SOJA:** Planta, Clima, Pragas, Moléstias e Invasoras. Campinas: [s.n.], 1983. p.17-89.
- GODDEN, S.M. et al. Milk Urea Testing as a Tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, n. 6, p.1397-1406, 2001.
- GOELEMA, J.O. et al. Effect of pressure toasting on the rumen degradability and intestinal digestibility of whole and broken peas, lupins and faba beans and a mixture of these feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.76, n. 1-2, p.35-50, 1998.
- GOELEMA, J.O. et al.. Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on in vitro and in situ parameters of protein and starch in a mixture

- of broken peas, lupins and faba beans. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.78, n.1-2, p.109-126, 1999.
- GRIFFIN JR, C.D. et al. Assessment of Protein Quality in Heat-Treated Soybeans Products Using the Growth Responses of Lambs and Calves and a Nylon Bag-Rooster Assay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.7, p.1924- 1931, 1993.
- GRUMMER, R.R.; LUCK, M.L.; BARMORE, J.A. Rumen Fermentation and Lactation Performance of Cows Fed Roasted Soybeans and Tallow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.9, p.2674-2681, 1993.
- GRUMMER, R.R.; LUCK, M.L.; BARMORE, J.A. Lactational Performance of Dairy Cows Fed Raw Soybeans, with or Without Animal By-Product Proteins, or Roasted Soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.5, p.1354-1359, 1994.
- GRUMMER, R.R.; SLARK, K.; BERTICS, S.J. et al. Soybeans Versus Animal Sources of Rumen-Undegradable Protein and Fat for Early Lactation Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.10, p.1809-1816, 1996.
- GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal Variation of Rumen Ammonia, Serum Urea, and Milk Urea in Dairy Cows at High and Low Yields. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.2, p.475-484, 1993.
- HALGERSON, J.L.; SHEAFFER, C.C.; HESTERMAN, O . B. et al. Prediction Of Ruminant Protein Degradability Of Forages Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n.6, p.1227-1231, 1996.
- HAMMOND, A.C. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 8., 1997, Gainesville. **Proceedings...**Gainesville: [s.n.], 1997. p.9-45.
- HAGEN, D. Soybeans are hot in dairy country. **Soybean Digest**, Hudson, v.57, n.2, p.12-16, 1997.
- HOLMES, C.W.; WILSON, G.F. **Milk Production From Pasture**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1990. 708 p. Cap. 16: Lactação: estrutura da glândula mamária e secreção do leite.
- HOLTER, J.B.; WEST, J.W.; MCGILLARD, M.L. Predicting Ad Libitum Dry Matter Intake and Yield of Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p.2188-2199, 1997.

- HOOVER, W.H.; CROOKER, B.A.; SNIFFEN, C.J. Effects of Differential Solid-Liquid Removal Rates on Protozoa Numbers in Continuous Cultures of Rumen Contents. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.43, n.2, p.528-534, 1976.
- HRISTOV, A .; BRODERICK, G. A . In Vitro Determination Of Ruminant Protein Degradability Using N<sup>15</sup> -Ammonia To Correct For Microbial Nitrogen Uptake. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.5, p.1344-1353, 1994.
- HSU, J.T.; SATTER, L.D. Procedures for Measuring the Quality of Heat-Treated Soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.6, p.1353-1361, 1995.
- HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.I. The *in situ* Technique for Studying the Rumen Degradation of Feeds: a Review of the Procedure. **Nutrition Abstracts And Reviews (Series B)**, London, v.65, n.2, p.63-93, 1995.
- HVELPLUND, T. et al. Prediction of the energy and protein value of forages for ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris. **Proceedings: Recent Developments in the Nutrition of Herbivores**. Paris: INRA , 1995. p.205-227.
- IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**, Rio de Janeiro, v.58, 1998. 774p.
- IBGE. **Atlas Geográfico Brasileiro**, Rio de Janeiro: Lucci & Labrada, 1994, 1 CD-ROM.
- IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Fev/Março 2001, Disponível em < <http://www1.ibge.gov.br/ibge/default.php>>. Acesso em: 22 maio 2001.
- ILLIUS, A.W.; JESSOP, N.S. Metabolic Constraints on Voluntary Intake in Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 12 , p.3052-3062, 1996.
- 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 of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- KALSCHEUR, K.F. et al. Effects of Dietary Crude Protein Concentration and Degradability on Milk Production Responses of Early, Mid, and Late Lactation Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.3, p.545-554, 1999.
- KEERY, C.M.; AMOS, H.E.; FROETSCHER, M.A. Effects of Supplemental Protein Source on Intraruminal Fermentation, Protein Degradation, and

Amino Acid Absorption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.2, p.514-524, 1993.

KETELAARS, J.J.M.H.; TOLKAMP, B.J. Oxygen Efficiency and The Control of Energy Flow in Animals and Humans. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n. 12 , p.3036-3051, 1996.

KLOPFENSTEIN, T.J.; KLEMESRUD, M.J.; HEROLD, D.W. Digestible and metabolizable protein values of renderers products. In: CORNELL NUTRITION, CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 20., 1995, Rochester. **Proceedings...Rochester** : [s.n.], 1995. p.25-33.

KNAPP, D.M.; GRUMMER, R.R.; DENTINE, M.R. The Response Of Lactating Dairy Cows To Increasing Levels Of Whole Roasted Soybeans **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.8, p.2563-2572, 1991.

LIN, C; KUNG JR., L. Heat-Treated Soybeans and Soybean Meal in Ruminant Nutrition. Disponível em: < <http://www.bluehen.ags.udel.edu/anfs/staff/kung/> >. Acesso em : 17 out. 2000.

LUCAS JR., H.L. **Design and Analysis of Feeding Experiments With Milking Dairy Cattle**. Raleigh: Institute of Statistics [of the], North Carolina State University, 1974. 477p. (Mimeo Series # 18) [Mimeografado].

LYKOS, T.; VARGA, G.A. Effects of Processing Method on Degradation Characteristics of Protein and Carbohydrates Sources In Situ. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.8, p.1789-1801, 1995.

MAHADEVAN, S.; ERFLE, J.D.; SAUER, F.D. Degradation Of Soluble And Insoluble Proteins By Bacteroides Amylophilus Protease And By Rumen Microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.50, n.4, p.723-728, 1980.

MAHADEVAN, S.; SAUER, F.D.; ERFLE, J.D. Preparation Of Protease From Mixed Rumen Microorganisms And Its Use For The In Vitro Determination Of The Degradability Of True Protein In Feedstuffs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.67, n.1, p.55-64, 1987.

MCCORMICK, M.E.; FRENCH, D.D.; BROWN, T.F. et al. Crude Protein and Rumen Undegradable Protein Effects on Reproduction and Lactation Performance of Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.12, p.2697-2708, 1999

MCEWEN, P.L. The effect of feeding roasted soybeans as a protein source to feedlot cattle. Disponível em: < [http://131.104.112.18/beefupdate/Articl.../a-effect ...](http://131.104.112.18/beefupdate/Articl.../a-effect...) >. Acesso em: 5 jul. 1999.

- MELENDEZ, P.; DONOVAN, A.; HERNANDEZ, J. Milk Urea Nitrogen and Infertility in Florida Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.3, p.459-463, 2000.
- MERCHEN, N.R.; ALDRICH, C.G.; DRACKLEY, J.K. Effects of Roasting Temperature of Whole Soybeans on Digestion of Protein and Fat by Steers. Disponível em < <http://dairynet.outreach.uiuc.edu/fulltext.>>. Acesso em: 12 ago. 2000.
- MIELKE, C.D.; SCHINGOETHE, D.J. Heat Treated Soybeans for Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.62 (Supl.1), pg.74 (Abstr.), 1981.
- MIR, Z. et al. Methods For Protecting Soybean And Canola Proteins From Degradation In The Rumen. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.64, n.4, p.853-865, 1984.
- MOHAMED, O.E. et al. Influence of Dietary Cottonseed and Soybean on Milk Production and Composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.10, p.2677-2688, 1988.
- MOSIMANYANA, B.M.; MOWAT, D.N. Rumen Protection Of Heat-Treated Soybeans Proteins. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.72, n.1, p.71-81, 1992.
- MOSIMANYANA, B.M.; MOWAT, D.N. Roasted, steeped soybeans for growing steers fed alfafa-grass silage. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.74, n.1, p.115-122, 1994.
- MÜHLBACH, P.R.F. **Avaliação in vitro do formaldeído e taninos como agentes de proteção da proteína do farelo de soja**. 1976. 96f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1976.
- MÜHLBACH, P.R.F. et al. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul, 2., 2000, Panambi. **Anais ...** Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.73-102.
- MÜLLER, L. Taxionomia e morfologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.) **A Soja no Brasil**. São Paulo: [ s.n.], 1981. p.65-108.
- NAKAMURA, T. et al. Nonenzymatically Brownd Soybean Meal for Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.12, p.3519-3523, 1992 .

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 6<sup>th</sup> rev. ed. Washington D.C.: National Academy , 1989. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 7<sup>th</sup> rev. ed. Washington D.C.: National Academy , 2001. 381p.
- NEUTZE, S.A.; SMITH, R.L.; FORBES, W.A.. Application Of An Inhibitor In Vitro Method For Estimating Rumen Degradation Of Feed Protein. **Animal Feed Science and Technology.** Amsterdan, v.40, n.2-3, p.251-265, 1993
- NOCEK, J.E. In Situ and Other Methods to Estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility: a Review. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.71, n.8, p.2051-2069, 1988.
- OLTGEN, R.R. Effects of feeding ruminants non-protein nitrogen as the only nitrogen source. **Journal of Animal Science,** Champaign, v.28, n.5, p.673-682, 1969.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The Estimation Of Protein Degradability In The Rumen From Incubation Measurements Weighted According To Rate Of Passage. **Journal of Agricultural Science,** Cambridge, v.92, n.2, p. 499-503, 1979.
- ORSKOV, E.R.; HUGHES-JONES, M.; McDONALD, I. Degradability of protein supplements and utilization of undegraded protein by high-producing dairy cows. In: RECENT Advances in Animal Nutrition. London: Butterworth, 1980. p.85 –102.
- OSPINA, H.P. et al. Por que e como otimizar o consumo de vacas em lactação. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul, 2.,2000, Panambi. **Anais ...** Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.37-72.
- PIRES, A.V.; EASTRIDGE, M.L.; FIRKINS, J.L. Roasted Soybeans, Blood Meal, and Tallow as Sources of Fat and Ruminally Undegradable Protein in the Diets of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.79, n.9, p.1603-1610, 1996.
- PONCET, C. et al.. Dietary compounds escaping rumen digestion. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris. **Proceedings:** Recent Developments in the Nutrition of Herbivores. Paris: INRA , 1995. p.167-204.
- PRESTLOKKEN, E. In situ ruminal degradation and intestinal digestibility of dry matter and protein in expanded feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdan, v.77, n.1-2, p.1-23, 1999.

- RAJALA-SCHULTZ, P.J. et al. Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, n.2, p.482-489, 2001.
- REDDY, P.V.; MORRILL, J.A. ; BATES, L.S. Effect of Roasting Temperatures on Soybeans Utilization by Young Dairy Calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.5, p.1387-1393, 1993.
- REEVES, J.B. et al. Near Infrared Spectroscopic Analysis Of Forage Samples Digested In Situ (Nylon Bag). **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.8, p.2664-2673, 1991.
- RODRIGUEZ, L.A. et al. Effect of Degradability of Dietary Protein and Fat on Ruminal, Blood, and Milk Components of Jersey and Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.2, p.353-363, 1997.
- RODRIGUEZ, N.M. Exigências em Aminoácidos para Vacas de Alta Produção. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL E SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 1996. p.102-137.
- ROE, M.B.; CHASE, L.E.; SNIFFEN, C.J. Comparison of In Vitro Techniques to the In Situ Technique for Estimation of Ruminal Degradation of Protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.5, p.1632-1640, 1991.
- ROSELER, D.K. et al. Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.2, p.525-534, 1993.
- ROTZ, C.A. et al. Economic and environmental implications of soybean production and use on Pennsylvania dairy farms. **Agronomy Journal**, Madison, v.93, n.2, p.418-428, 2001.
- RUEGSEGGER, G.J.; SCHULTZ, L.H. Response of High Producing Dairy Cows in Early Lactation to the Feeding of Heat-Treated Whole Soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.12, p.3272-3279, 1985.
- RUSSEL, J.B.; BOTTJE, W.G.; COTTA, M. A . Degradation Of Protein By Mixed Cultures Of Rumen Bacteria: Identification Of Streptococcus Bovis Or An Actively Proteolytic Rumen Bacterium. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.53, n.1, p.242-252, 1981.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221p.

- SANTOS, F.A.P. et al. Effects of Rumen-Undegradable Protein on Dairy Cow Performance: A 12-Year Literature Review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81.n.12, p.3182-3213, 1998.
- SANTOS, G.T. et al. Degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* de grãos de canola tratados com calor e/ou tanino condensado. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.37-39.
- SAS Institute. **System for Information**: Versão 6.11. [São Paulo] : USP, 1996. 1 CD-ROM.
- SATTER, L.D. Symposium: protein and fiber digestion, passage and utilization in lactating dairy cows. Protein supply from undegraded dietary protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.69, n.10, p.2734-2749, 1986.
- SATTER, L.D.; DHIMAN, T.R.; HSU, J.T. Use of Heat Processed Soybeans in Dairy Rations. In: CORNELL NUTRITION, CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 19., 1994, Rochester. **Proceedings...**Rochester : [s.n.], 1994. p.19-28.
- SCHINGOETHE, D.J. et al. Lactational Response to Soybean Meal, Heated Soybean Meal, and Extruded Soybeans with Ruminally Protected Methionine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.1, p.173-180, 1988.
- SCOTT, T.A.; COMBS, D.K.; GRUMMER, R.R. Effects of Roasting, Extrusion, and Particle Size on the Feeding Value of Soybeans for Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n. 8, p.2555-2562, 1991.
- SINCLAIR, K.D.; SINCLAIR, L.A.; ROBINSON, J.J. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.10, p.2659-2669, 2000a.
- SINCLAIR, K.D. et al. Nitrogen metabolism and fertility in cattle. II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.10, p.2670-2680, 2000b.
- SNIFFEN, C.J. et al. A Net Carbohydrate And Protein System For Evaluating Cattle Diets: II. Carbohydrate And Protein Availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- STERN, M.D.; BACH, A .; CALSAMIGLIA, S. Alternative Techniques for Measuring Nutrient Digestion in Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, n.8, p.2256-2276, 1997.

STERN, M.D.; SANTOS, K.A.; SATTER, L.D. Protein Degradation in Rumen and Amino Acid Absorption in Small Intestine of Lactating Dairy Cattle Feed Heat-Treated Whole Soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.1, p.45-56, 1985.

STERN, M.D.; SATTER, L.D. Evaluation Of Nitrogen Solubility And The Dracon Bag Technique As Methods For Estimating Protein Degradation In The Rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.3, p.714-724, 1984.

STERN, M.D. et al. Evaluation of Chemical and Physical Properties of Feeds that Affect Protein Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.9, p.2762-2786, 1994.

TEACHER, R.M.; SAUER, F.D. A Naturally Compartmented Rumen Simulation System For The Continuous Culture Of Rumen Bacteria And Protozoa. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.3, p.666-673, 1988.

TICE, E.M.; EASTRIDGE, M.L.; FIRKINS, J.L. Raw Soybeans and Roasted Soybeans of Different Particle Sizes.1. Digestibility and Utilization by Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76.n.1, p.224-235, 1993.

TILLEY, J.M.A. ; TERRY, R.A., A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, Oxford, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

TREMBLAY, G.F.; BRODERICK, G.A. ; ABRAMS, S.M. Estimating Ruminal Protein Degradability Of Roasted Soybeans Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.2, p.276-282, 1996.

VALADARES FILHO, S.de C. Digestão Pós-Ruminal de Proteínas e Exigências de Aminoácidos para Ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: FAEP, 1997. 327p.

VANDEHAAR, M. et al. **Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer User's Manual**. East Lansing : [s.n], [1994?]. paginação irregular.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2<sup>nd</sup> ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VERNETTI, F.J. Origem da espécie, introdução e disseminação no Brasil. In: **SOJA: Planta, Clima, Pragas, Moléstias e Invasoras**. Campinas: [s.n.], 1983. p.3-13.

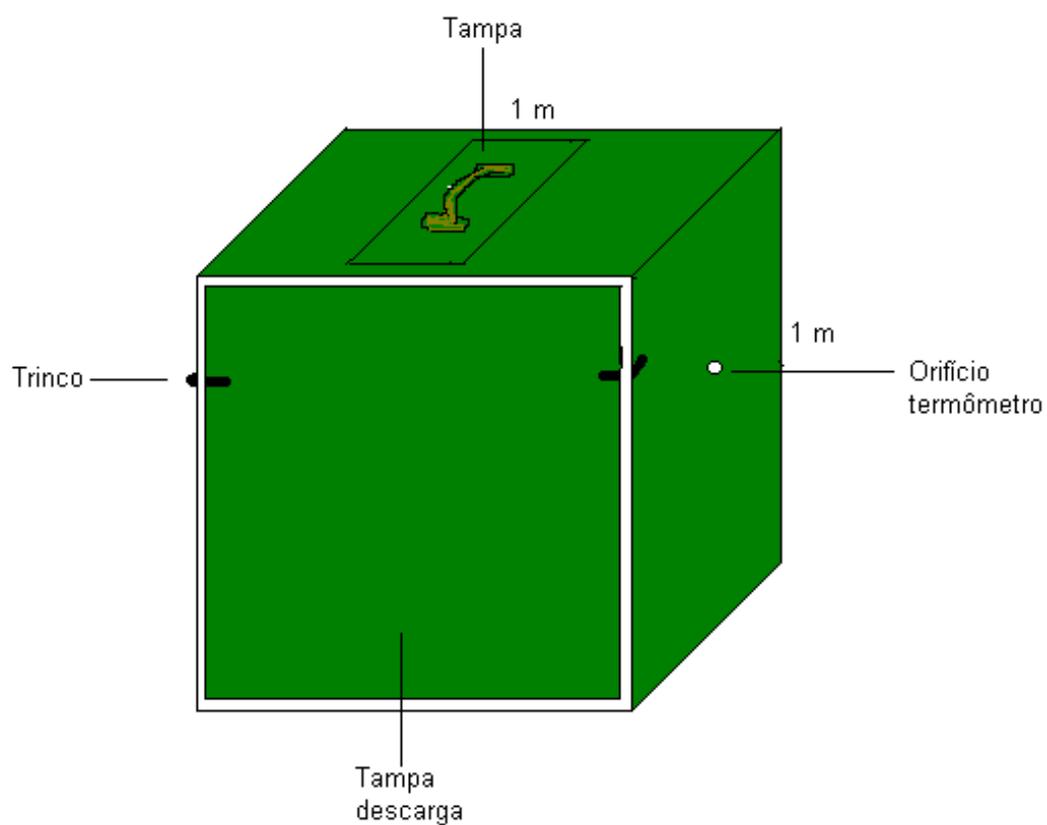
- VOLDEN, H. Effects of Level of Feeding and Ruminally Undegraded Protein on Ruminal Bacterial Protein Synthesis, Escape of Dietary Protein, Intestinal Amino Acid Profile, and Performance of Dairy Cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, n.7, p.1905-1918, 1999
- WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZALES, F.H.D. (Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.9-22.
- WOODGATE, S.L. Benefícios das Proteínas Ultimate para Todas as Espécies. In: RONDA LATINOAMERICANA E DO CARIBE DA ALTECH: em direção ao ano 2000, 7., [1997 ?]. **Anais...**[s.l. : s.n.], [1997?]. 142p.
- YU, P.; EGAN, A.R.; LEURY, B.J. *In Sacco* Evaluation of Rumen Protein Degradation Characteristics and *in vitro* Enzyme Digestibility of Dry Roasted Whole Lupin Seeds (*Lupinus albus*). **Asian-Australian Journal of Animal Science**, Suweon, v.12, n.3, p.358-365, 1999a
- YU, P.; EGAN, A.R.; LEURY, B.J. Protein Evaluation of Dry Roasted Whole Faba Bean (*Vicia faba*) and Lupin Seeds (*Lupinus albus*) by the New Dutch Protein Avaluation System: the DVE/OEB System. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, Suweon, v.12, n.6, p.871-880, 1999b.
- YU, P.; EGAN, A.R.; LEURY, B.J. Influence of Dry Roasting of Whole Faba Beans (*Vicia faba*) and Whole Lupin Seeds (*Lupinus albus*) on Rumen Disappearance and Estimated Intestinal Digestion of CP Using the Optimal Three-Step *In Vitro* Technique in Dairy Cows. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, Suweon, v.12, n.7, p.1054-1062, 1999c.
- ZARDO FILHO, H. Produção de Leite Integrada com a Lavoura de Soja no Planalto do Rio Grande do Sul. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul, 2.,2000, Panambi. **Anais ...** Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.131-137.

## 8. APÉNDICES

APÊNDICE 1—Protótipo de tostador de grão de soja, desenvolvido pela Metalúrgica Industrial Helio Weiler (Ijuí-RS), a partir de projeto técnico elaborado pelo Colégio Evangélico de Panambi (RS), parcialmente financiado pelo SEBRAE



APÊNDICE 2 – Caixa de chapa de ferro, com paredes duplas, usada para submeter o grão de soja tostado ao processo de “steeping”



### APÊNDICE 3- Relação dos animais utilizados no experimento 2

Número	Data de nascimento	Idade Anos / meses <sup>1</sup>	Dias em lact. <sup>1</sup>	Ordem de lactação	Produção de leite (Kg)			Peso (Kg)
					9/9/00	4/10/00	7/11/00	
248 <sup>2</sup>	03/08/96	4a2m	50	3	33,4	30,8	26,4	658
253 <sup>2</sup>	01/11/96	3a11m	46	2	21,0	27,4	26,6	580
237 <sup>2</sup>	22/02/96	4a8m	98	2	31,0	29,0	27,4	623

241 <sup>2</sup>	12/05/96	5a1m	30	2	-	33,4	30,4	600
152	19/12/91	8a10m	75	5	33,8	33,4	28,8	605
259	26/04/97	3a6m	68	2	33,2	31,8	27,4	542
260	30/04/97	3a6m	72	2	28,0	31,0	28,0	525
238	18/03/96	4a7m	145	3	30,0	27,0	25,4	610
78	05/10/91	9a	72	3	30,0	28,0	30,0	670
230	09/09/95	5a1m	94	4	30,2	30,0	30,2	694
261	11/06/97	3a4m	100	2	32,0	27,4	24,8	585
262	24/06/97	6a	65	2	27,2	27,8	27,0	605

---

<sup>1</sup> Data base para idade e dias em lactação: 06/10/2000

<sup>2</sup> Animais do quadrado 1, cujos dados não foram usados na análise estatística.

APÊNDICE 4 – Análise da variância da variável proteína bruta não degradada no rúmen, após incubação ruminal “in situ” de 16 horas.

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	739,389	21,71	0,001
Resíduo	23	34,059		
Total	26			

---

Média Geral: 30,919

Coeficiente de Variação (%): 18,88

---

APÊNDICE 5 – Valores percentuais da proteína bruta do grão de soja não degradada, após incubação ruminal de 16 horas.

Tratam.	Peso APS Pré-incub(g)	% PB Pré-incub	PB total Pré- Incub (g)	Peso APS Pós-incub(g)	% PB Pós-incub	PB total Pós-incub(g)	PNDR (%)
T1-1	18,0	30,13	5,423	3,399	26,44	0,899	16,57
T1-2	18,0	30,13	5,423	4,747	27,28	1,295	23,88
T1-3	18,0	30,13	5,423	3,392	25,94	0,880	16,22
T1-4	18,0	30,13	5,423	2,642	25,91	0,685	12,62
T1-5	18,0	30,13	5,423	3,214	24,60	0,791	14,58
T1-6	18,0	30,13	5,423	2,081	23,04	0,479	8,84
T2-1	9,0	30,10	2,709	2,218	34,72	0,770	28,43
T2-2	9,0	30,10	2,709	2,686	34,44	0,925	34,15
T2-3	9,0	30,10	2,709	2,164	33,85	0,733	27,04
T2-4	9,0	30,10	2,709	3,275	35,44	1,161	42,84
T2-5	9,0	30,10	2,709	2,633	34,91	0,919	33,93
T2-6	9,0	30,10	2,709	2,937	35,53	1,044	38,52
T2-7	9,0	30,10	2,709	2,124	33,91	0,720	26,59
T3-1	9,0	29,88	2,689	2,394	37,25	0,892	33,16
T3-2	9,0	29,88	2,689	2,896	33,16	0,960	35,71
T3-3	9,0	29,88	2,689	2,690	37,72	1,015	37,73
T3-4	9,0	29,88	2,689	2,252	36,60	0,824	30,65
T3-5	9,0	29,88	2,689	3,081	35,13	1,082	40,25
T3-6	9,0	29,88	2,689	1,958	35,19	0,689	25,62
T3-7	9,0	29,88	2,689	2,824	36,06	1,018	37,87
T4-1	9,0	30,00	2,700	3,264	38,54	1,258	46,59
T4-2	9,0	30,00	2,700	2,689	37,63	1,012	37,48
T4-3	9,0	30,00	2,700	2,762	37,07	1,024	37,92
T4-4	9,0	30,00	2,700	3,344	37,38	1,250	46,30
T4-5	9,0	30,00	2,700	2,479	38,75	0,961	35,58
T4-6	9,0	30,00	2,700	2,284	37,13	0,848	31,41
T4-7	9,0	30,00	2,700	3,648	36,85	1,344	49,79

**T1=** Grão de soja cru; **T2=** Grão de soja tostado a 380 °C, durante 2 minutos, com “steeping”

APÊNDICE 6 – Análise da variância da variável digestão enzimática intestinal  
“in vitro” , da proteína do grão de soja .

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	1.382,184	32,97	0,001
Resíduo	44	41,922		
Total	47			

---

Média Geral: 80,650  
Coeficiente de Variação (%): 8,03

---

APÊNDICE 7- Valores da digestibilidade intestinal do nitrogênio do grão de soja cru e tratado termicamente, após incubação de 24 horas com pepsina pancreática

Amostra	Nitrogênio na amost. (mg)	Alíquota da amostra (ml)	H2SO4 0,1 N gasto (ml)	Teor N pós incubação (%)	Teor N pós incubação (mg)	N titulado - N branco (mg)	Digestib. do nitrog. (%)
T1-1	2,77	5,00	2,85	0,066	3,280	2,730	98,57
T1-2	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T1-3	2,77	5,00	2,50	0,057	2,834	2,284	82,47
T1-4	2,77	5,00	2,50	0,057	2,834	2,284	82,47
T1-5	2,77	5,00	2,50	0,057	2,834	2,284	82,47
T1-6	2,77	5,00	2,55	0,058	2,898	2,348	84,77
T1-7	2,77	5,00	2,55	0,058	2,898	2,348	84,77
T1-8	2,77	5,00	2,55	0,058	2,898	2,348	84,77
T1-9	2,77	5,00	2,55	0,058	2,898	2,348	84,77
T1-10	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T1-11	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T1-12	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-1	2,77	5,00	2,75	0,063	3,153	2,603	93,97
T2-2	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-3	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-4	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T2-5	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T2-6	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-7	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T2-8	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-9	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-10	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07
T2-11	2,77	5,00	2,65	0,061	3,026	2,476	89,37
T2-12	2,77	5,00	2,60	0,059	2,962	2,412	87,07

**T1=** Grão de soja cru; **T2=** Grão de soja tostado a 380 °C, durante 2 minutos, com “steeping”;  
**T3=** Grão de soja tostado a 380 °C, durante 3 minutos, sem “steeping”; **T4=** Grão de soja tostado a 490 °C, durante 2 minutos com “steeping”.

## APÊNDICE 7 (continuação...)

Amostra	Nitrogênio na amost. (mg)	Alíquota da amostra (ml)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1 N gasto (ml)	Teor N pós incubação (%)	Teor N pós incubação (mg)	N titulado - N branco (mg)	Digestib. do nitrog. (%)
T3-1	2,77	5,00	2,40	0,055	2,739	2,189	79,02
T3-2	2,77	5,00	2,40	0,055	2,739	2,189	79,02
T3-3	2,77	5,00	2,45	0,056	2,803	2,253	81,32
T3-4	2,77	5,00	2,45	0,056	2,803	2,253	81,32
T3-5	2,77	5,00	2,50	0,057	2,866	2,316	83,62
T3-6	2,77	5,00	2,40	0,055	2,739	2,189	79,02
T3-7	2,77	5,00	2,30	0,052	2,611	2,061	74,42
T3-8	2,77	5,00	2,20	0,050	2,484	1,934	69,82
T3-9	2,77	5,00	2,85	0,066	3,312	2,762	99,72
T3-10	2,77	5,00	2,70	0,062	3,121	2,571	92,82
T3-11	2,77	5,00	2,40	0,055	2,739	2,189	79,02
T3-12	2,77	5,00	2,65	0,061	3,057	2,507	90,52
T4-1	2,77	5,00	1,85	0,041	2,038	1,488	53,73
T4-2	2,77	5,00	2,00	0,045	2,229	1,679	60,63
T4-3	2,77	5,00	2,40	0,055	2,739	2,189	79,02
T4-4	2,77	5,00	1,70	0,037	1,847	1,297	46,83
T4-5	2,77	5,00	2,20	0,050	2,484	1,934	69,82
T4-6	2,77	5,00	2,20	0,050	2,484	1,934	69,82
T4-7	2,77	5,00	2,30	0,052	2,611	2,061	74,42
T4-8	2,77	5,00	2,15	0,048	2,420	1,870	67,52
T4-9	2,77	5,00	2,10	0,047	2,357	1,807	65,22
T4-10	2,77	5,00	2,00	0,045	2,229	1,679	60,63
T4-11	2,77	5,00	2,10	0,047	2,357	1,807	65,22
T4-12	2,77	5,00	2,15	0,048	2,420	1,870	67,52

**T1**= Grão de soja cru; **T2**= Grão de soja tostado a 380 °C, durante 2 minutos, com “steeping”;

**T3**= Grão de soja tostado a 380 °C, durante 3 minutos, sem “steeping”; **T4**= Grão de soja tos-

tado a 490 °C, durante 2 minutos com “steeping”.

## APÊNDICE 8 - Consumo de alimento e produção de leite das vacas submetidas a dietas com 4 diferentes fontes protéicas

TRAT.	PER	ANIM	DIA	ALIMENTO OFERECIDO			SOBRAS			ALIM. CONSUM.		LEITE PRODUZIDO		
				M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.Seca	P.Bruta	Total	Por kg.M.S.	Por kg.P.B
1	1	238	1	22,875	17,4	3,980	1,194	14,39	0,172	21,681	3,808	26,3	1,213	6,906
1	1		2	22,877	17,4	3,981	3,101	14,39	0,446	19,776	3,534	26,0	1,315	7,356
1	1		3	22,873	17,4	3,980	4,011	14,39	0,577	18,862	3,403	25,2	1,336	7,406
1	1		4	22,873	17,4	3,980	4,918	14,39	0,708	17,955	3,272	24,3	1,353	7,426
1	1		5	19,066	17,4	3,317	3,629	14,39	0,522	15,437	2,795	23,5	1,522	8,407
1	1		6	19,066	17,4	3,317	1,132	14,39	0,163	17,934	3,155	21,5	1,199	6,815
1	1		7	19,066	17,4	3,317	1,241	14,39	0,179	17,825	3,139	23,7	1,330	7,550
Média				21,242		3,696	2,747		0,395	18,496	3,301	24,357	1,324	7,410
1	1	262	1	22,875	17,4	3,980	4,359	12,31	0,537	18,516	3,444	25,8	1,393	7,492
1	1		2	19,066	17,4	3,317	2,600	12,31	0,320	16,466	2,997	26,1	1,585	8,708
1	1		3	19,066	17,4	3,317	3,130	12,31	0,385	15,936	2,932	27,8	1,744	9,481
1	1		4	19,066	17,4	3,317	2,880	12,31	0,355	16,186	2,963	26,2	1,619	8,843
1	1		5	19,066	17,4	3,317	2,926	12,31	0,360	16,140	2,957	26,6	1,648	8,995
1	1		6	19,066	17,4	3,317	2,393	12,31	0,295	16,673	3,023	24,5	1,469	8,105
1	1		7	19,066	17,4	3,317	2,522	12,31	0,310	16,544	3,007	26,0	1,572	8,646
Média				19,610		3,412	2,973		0,366	16,637	3,046	26,143	1,576	8,610
1	2	260	1	17,891	17,4	3,113	0,592	10,98	0,065	17,299	3,048	28,4	1,642	9,317
1	2		2	17,891	17,4	3,113	3,037	10,98	0,333	14,854	2,780	28,8	1,939	10,361
1	2		3	19,256	17,4	3,351	2,128	10,98	0,234	17,128	3,117	25,4	1,483	8,149
1	2		4	19,256	17,4	3,351	1,694	10,98	0,186	17,562	3,165	29,8	1,697	9,417
1	2		5	19,256	17,4	3,351	1,715	10,98	0,188	17,541	3,162	29,0	1,653	9,171
1	2		6	19,256	17,4	3,351	1,581	10,98	0,174	17,675	3,177	29,7	1,680	9,349
1	2		7	19,256	17,4	3,351	3,856	10,98	0,423	15,400	2,927	28,4	1,844	9,702
Média				18,866		3,283	2,086		0,229	16,780	3,054	28,500	1,705	9,352
1	2	261	1	17,891	17,4	3,113	1,785	10,84	0,194	16,106	2,920	25,3	1,571	8,666
1	2		2	17,891	17,4	3,113	1,813	10,84	0,196	16,078	2,917	25,6	1,592	8,777
1	2		3	17,891	17,4	3,113	1,847	10,84	0,200	16,044	2,913	25,5	1,589	8,754
1	2		4	17,891	17,4	3,113	1,965	10,84	0,213	15,926	2,900	25,8	1,620	8,897
1	2		5	17,891	17,4	3,113	1,976	10,84	0,214	15,915	2,899	26,4	1,659	9,107
1	2		6	17,891	17,4	3,113	2,165	10,84	0,235	15,726	2,878	25,1	1,596	8,720
1	2		7	17,891	17,4	3,113	1,685	10,84	0,183	16,206	2,930	26,0	1,604	8,873
Média				17,891		3,113	1,891		0,205	16,000	2,908	25,671	1,605	8,828
1	3	259	1	19,998	17,4	3,480	0,943	11,03	0,104	19,055	3,376	30,5	1,601	9,035
1	3		2	19,998	17,4	3,480	1,704	11,03	0,188	18,294	3,292	29,8	1,629	9,053
1	3		3	19,998	17,4	3,480	1,374	11,03	0,152	18,624	3,328	27,4	1,471	8,233
1	3		4	19,998	17,4	3,480	1,670	11,03	0,184	18,328	3,295	27,9	1,522	8,466
1	3		5	19,998	17,4	3,480	0,839	11,03	0,093	19,159	3,387	27,6	1,441	8,149
1	3		6	21,368	17,4	3,718	1,499	11,03	0,165	19,869	3,553	26,9	1,354	7,572
1	3		7	21,368	17,4	3,718	3,049	11,03	0,336	18,319	3,382	27,6	1,507	8,161
Média				20,389		3,548	1,583		0,175	18,807	3,373	28,243	1,503	8,381
1	3	230	1	21,368	17,4	3,718	3,142	14,09	0,443	18,226	3,275	28,8	1,580	8,793
1	3		2	21,368	17,4	3,718	3,092	14,09	0,436	18,276	3,282	27,0	1,477	8,226
1	3		3	21,368	17,4	3,718	2,662	14,09	0,375	18,706	3,343	25,2	1,347	7,538
1	3		4	21,368	17,4	3,718	2,376	14,09	0,335	18,992	3,383	26,2	1,380	7,744
1	3		5	21,368	17,4	3,718	1,494	14,09	0,210	19,874	3,508	27,4	1,379	7,812
1	3		6	21,368	17,4	3,718	1,854	14,09	0,261	19,514	3,457	26,4	1,353	7,637
1	3		7	21,368	17,4	3,718	1,422	14,09	0,200	19,946	3,518	26,5	1,329	7,533
Média				21,368		3,718	2,292		0,323	19,076	3,395	26,786	1,406	7,898
1	4	152	1	20,600	17,4	3,584	0,639	10,05	0,064	19,961	3,520	30,5	1,528	8,664
1	4		2	18,315	17,4	3,187	0,252	10,05	0,025	18,063	3,162	29,0	1,605	9,173
1	4		3	20,600	17,4	3,584	0,546	10,05	0,055	20,054	3,530	29,6	1,476	8,386
1	4		4	20,600	17,4	3,584	1,296	10,05	0,130	19,304	3,454	28,0	1,450	8,106
1	4		5	20,600	17,4	3,584	1,179	10,05	0,119	19,421	3,466	30,0	1,545	8,656
1	4		6	20,600	17,4	3,584	0,787	10,05	0,079	19,813	3,505	27,8	1,403	7,931
1	4		7	20,600	17,4	3,584	0,909	10,05	0,091	19,691	3,493	28,2	1,432	8,073
Média				20,274		3,528	0,801		0,081	19,473	3,447	29,014	1,491	8,427
1	4	78	1	18,767	17,4	3,265	0,819	10,93	0,090	17,948	3,176	21,5	1,198	6,770
1	4		2	16,482	17,4	2,868	0,379	10,93	0,041	16,103	2,826	19,6	1,217	6,935
1	4		3	18,767	17,4	3,265	0,636	10,93	0,069	18,131	3,196	17,0	0,938	5,319
1	4		4	18,767	17,4	3,265	2,812	10,93	0,307	15,955	2,958	15,9	0,997	5,375
1	4		5	18,767	17,4	3,265	2,889	10,93	0,316	15,878	2,950	17,4	1,096	5,899
1	4		6	18,767	17,4	3,265	2,745	10,93	0,300	16,022	2,965	16,8	1,049	5,665
1	4		7	18,767	17,4	3,265	2,752	10,93	0,301	16,015	2,965	15,6	0,974	5,262
Média				18,441		3,209	1,862		0,203	16,579	3,005	17,686	1,067	5,889
TOTAL				1106,567		192,543	113,637		13,837	992,930	178,706	1444,800		

Média 19,760 17,4 3,438 2,029 11,83 0,247 17,731 3,191 25,800 1,460 8,099

### APÊNDICE 8 (continuação...)

TRAT.	PER	ANIM	DIA	ALIMENTO OFERECIDO			SOBRAS			ALIM. CONSUM.		LEITE PRODUZIDO		
				M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.Seca	P.Bruta	Total	Por kg.M.S.	Por kg.P.B
2	1	260	1	22,747	17,4	3,958	3,409	11,76	0,401	19,338	3,557	24,8	1,282	6,972
2	1	2	2	18,956	17,4	3,298	1,529	11,76	0,180	17,427	3,119	26,8	1,538	8,594
2	1	3	3	18,956	17,4	3,298	2,954	11,76	0,347	16,002	2,951	26,8	1,675	9,082
2	1	4	4	18,956	17,4	3,298	1,389	11,76	0,163	17,567	3,135	27,6	1,571	8,804
2	1	5	5	18,956	17,4	3,298	3,130	11,76	0,368	15,826	2,930	27,9	1,763	9,522
2	1	6	6	18,956	17,4	3,298	0,988	11,76	0,116	17,968	3,182	30,2	1,681	9,490
2	1	7	7	18,956	17,4	3,298	0,626	11,76	0,074	18,330	3,225	30,8	1,680	9,551
Média				19,498		3,393	2,004		0,236	17,494	3,157	27,843	1,599	8,859
2	1	261	1	22,747	17,4	3,958	4,803	11,16	0,536	17,944	3,422	25,0	1,393	7,306
2	1	2	2	15,173	17,4	2,640	0,347	11,16	0,039	14,826	2,601	25,1	1,693	9,649
2	1	3	3	15,173	17,4	2,640	0,070	11,16	0,008	15,103	2,632	25,4	1,682	9,649
2	1	4	4	15,173	17,4	2,640	0,037	11,16	0,004	15,136	2,636	25,9	1,711	9,826
2	1	5	5	18,960	17,4	3,299	1,328	11,16	0,148	17,632	3,151	26,2	1,486	8,315
2	1	6	6	15,167	17,4	2,639	2,201	11,16	0,246	12,966	2,393	26,5	2,044	11,072
2	1	7	7	15,167	17,4	2,639	2,494	11,16	0,278	12,673	2,361	26,6	2,099	11,268
Média				16,794		2,922	1,611		0,180	15,183	2,742	25,814	1,730	9,584
2	2	152	1	23,534	17,4	4,095	3,121	10,93	0,341	20,413	3,754	32,4	1,587	8,631
2	2	2	2	23,534	17,4	4,095	3,340	10,93	0,365	20,194	3,730	33,8	1,674	9,062
2	2	3	3	23,534	17,4	4,095	2,813	10,93	0,307	20,721	3,787	30,6	1,477	8,079
2	2	4	4	22,998	17,4	4,002	3,520	10,93	0,385	19,478	3,617	32,8	1,684	9,068
2	2	5	5	22,998	17,4	4,002	1,703	10,93	0,186	21,295	3,816	34,4	1,615	9,016
2	2	6	6	22,998	17,4	4,002	2,312	10,93	0,253	20,686	3,749	31,1	1,503	8,296
2	2	7	7	22,998	17,4	4,002	4,174	10,93	0,456	18,824	3,545	31,2	1,657	8,800
Média				23,228		4,042	2,998		0,328	20,230	3,714	32,329	1,600	8,708
2	2	78	1	21,535	17,4	3,747	4,929	10,71	0,528	16,606	3,219	19,3	1,162	5,995
2	2	2	2	21,535	17,4	3,747	2,397	10,71	0,257	19,138	3,490	27,4	1,432	7,850
2	2	3	3	21,535	17,4	3,747	2,897	10,71	0,310	18,638	3,437	22,0	1,180	6,401
2	2	4	4	20,999	17,4	3,654	2,861	10,71	0,306	18,138	3,347	24,2	1,334	7,230
2	2	5	5	20,999	17,4	3,654	1,565	10,71	0,168	19,434	3,486	22,0	1,132	6,310
2	2	6	6	20,999	17,4	3,654	3,040	10,71	0,326	17,959	3,328	22,0	1,225	6,610
2	2	7	7	20,999	17,4	3,654	1,643	10,71	0,176	19,356	3,478	23,3	1,204	6,700
Média				21,229		3,694	2,762		0,296	18,467	3,398	22,886	1,238	6,728
2	3	238	1	19,931	17,4	3,468	0,680	12,11	0,082	19,251	3,386	27,4	1,423	8,093
2	3	2	2	19,931	17,4	3,468	0,988	12,11	0,120	18,943	3,348	26,4	1,394	7,885
2	3	3	3	19,931	17,4	3,468	1,794	12,11	0,217	18,137	3,251	25,3	1,395	7,783
2	3	4	4	19,931	17,4	3,468	0,539	12,11	0,065	19,392	3,403	25,2	1,299	7,406
2	3	5	5	19,931	17,4	3,468	0,648	12,11	0,078	19,283	3,390	25,0	1,296	7,376
2	3	6	6	21,426	17,4	3,728	2,211	12,11	0,268	19,215	3,460	24,3	1,265	7,022
2	3	7	7	21,426	17,4	3,728	1,312	12,11	0,159	20,114	3,569	25,3	1,258	7,088
Média				20,358		3,542	1,167		0,141	19,191	3,401	25,557	1,333	7,522
2	3	262	1	17,939	17,4	3,121	1,476	11,59	0,171	16,463	2,950	27,3	1,658	9,253
2	3	2	2	19,931	17,4	3,468	1,269	11,59	0,147	18,662	3,321	26,2	1,404	7,889
2	3	3	3	17,939	17,4	3,121	1,141	11,59	0,132	16,798	2,989	27,1	1,613	9,066
2	3	4	4	17,939	17,4	3,121	1,120	11,59	0,130	16,819	2,992	26,1	1,552	8,724
2	3	5	5	17,939	17,4	3,121	0,467	11,59	0,054	17,472	3,067	27,5	1,574	8,966
2	3	6	6	19,931	17,4	3,468	1,618	11,59	0,187	18,313	3,281	26,8	1,463	8,169
2	3	7	7	19,931	17,4	3,468	1,072	11,59	0,124	18,859	3,344	27,7	1,469	8,284
Média				18,793		3,270	1,166		0,135	17,627	3,135	26,957	1,533	8,622
2	4	259	1	23,309	17,4	4,056	2,972	9,78	0,291	20,337	3,765	30,6	1,505	8,127
2	4	2	2	23,309	17,4	4,056	1,984	9,78	0,194	21,325	3,862	30,4	1,426	7,872
2	4	3	3	23,309	17,4	4,056	1,377	9,78	0,135	21,932	3,921	29,6	1,350	7,549
2	4	4	4	23,309	17,4	4,056	3,406	9,78	0,333	19,903	3,723	27,4	1,377	7,360
2	4	5	5	23,309	17,4	4,056	3,556	9,78	0,348	19,753	3,708	29,7	1,504	8,010
2	4	6	6	23,309	17,4	4,056	1,685	9,78	0,165	21,624	3,891	28,3	1,309	7,273
2	4	7	7	23,309	17,4	4,056	1,850	9,78	0,181	21,459	3,875	28,8	1,342	7,433
Média				23,309		4,056	2,404		0,235	20,905	3,821	29,257	1,402	7,661
2	4	230	1	23,309	17,4	4,056	2,705	9,35	0,253	20,604	3,803	27,5	1,335	7,231
2	4	2	2	23,309	17,4	4,056	2,829	9,35	0,265	20,480	3,791	27,5	1,343	7,254
2	4	3	3	23,309	17,4	4,056	2,485	9,35	0,232	20,824	3,823	26,8	1,287	7,009
2	4	4	4	23,309	17,4	4,056	3,822	9,35	0,357	19,487	3,698	25,8	1,324	6,976
2	4	5	5	23,309	17,4	4,056	4,470	9,35	0,418	18,839	3,638	25,6	1,359	7,037
2	4	6	6	23,309	17,4	4,056	1,936	9,35	0,181	21,373	3,875	25,1	1,174	6,478
2	4	7	7	23,309	17,4	4,056	2,787	9,35	0,261	20,522	3,795	27,6	1,345	7,272
Média				23,309		4,056	3,005		0,281	20,304	3,775	26,557	1,310	7,037
TOTAL				1165,620		202,818	119,818		12,820	1045,802	189,998	1520,400		
Média				20,815	17,4	3,622	2,140	10,92	0,229	18,675	3,393	27,150	1,468	8,090

## APÊNDICE 8 (continuação...)

TRAT.	PER	ANIM	DIA	ALIMENTO OFERECIDO			SOBRAS			ALIM. CONSUM.		LEITE PRODUZIDO		
				M.S (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.Seca	P.Bruta	Total	Por kg.M.S.	Por kg.P.B
3	1	259	1	22,298	17,4	3,880	0,313	12,76	0,040	21,985	3,840	28,4	1,292	7,396
3	1		2	25,026	17,4	4,355	1,423	12,76	0,182	23,603	4,173	31,2	1,322	7,477
3	1		3	25,026	17,4	4,355	2,364	12,76	0,302	22,662	4,053	29,2	1,288	7,205
3	1		4	25,026	17,4	4,355	4,489	12,76	0,573	20,537	3,782	30,0	1,461	7,933
3	1		5	25,026	17,4	4,355	4,006	12,76	0,511	21,020	3,843	31,7	1,508	8,248
3	1		6	25,026	17,4	4,355	4,602	12,76	0,587	20,424	3,767	32,2	1,577	8,547
3	1		7	25,026	17,4	4,355	10,166	12,76	1,297	14,860	3,057	29,4	1,978	9,616
Média				24,636		4,287	3,909		0,499	20,727	3,788	30,300	1,489	8,060
3	1	230	1	25,026	17,4	4,355	0,911	12,18	0,111	24,115	4,244	28,6	1,186	6,740
3	1		2	25,026	17,4	4,355	1,007	12,18	0,123	24,019	4,232	31,0	1,291	7,325
3	1		3	27,749	17,4	4,828	1,454	12,18	0,177	26,295	4,651	28,6	1,088	6,149
3	1		4	27,749	17,4	4,828	5,421	12,18	0,660	22,328	4,168	30,3	1,357	7,270
3	1		5	27,749	17,4	4,828	6,685	12,18	0,814	21,064	4,014	30,6	1,453	7,623
3	1		6	25,026	17,4	4,355	0,678	12,18	0,083	24,348	4,272	27,2	1,117	6,367
3	1		7	25,026	17,4	4,355	3,053	12,18	0,372	21,973	3,983	28,8	1,311	7,231
Média				26,193		4,558	2,744		0,334	23,449	4,223	29,300	1,257	6,958
3	2	238	1	21,291	17,4	3,705	0,758	10,72	0,081	20,533	3,623	25,0	1,218	6,900
3	2		2	22,326	17,4	3,885	2,409	10,72	0,258	19,917	3,627	24,8	1,245	6,839
3	2		3	22,326	17,4	3,885	3,360	10,72	0,360	18,966	3,525	24,5	1,292	6,951
3	2		4	20,767	17,4	3,613	2,950	10,72	0,316	17,817	3,297	25,4	1,426	7,704
3	2		5	20,767	17,4	3,613	1,735	10,72	0,186	19,032	3,427	25,7	1,350	7,498
3	2		6	20,767	17,4	3,613	2,137	10,72	0,229	18,630	3,384	26,3	1,412	7,771
3	2		7	20,767	17,4	3,613	1,584	10,72	0,170	19,183	3,444	25,6	1,335	7,434
Média				21,287		3,704	2,133		0,229	19,154	3,475	25,329	1,325	7,299
3	2	262	1	21,291	17,4	3,705	3,074	12,34	0,379	18,217	3,325	25,6	1,405	7,699
3	2		2	21,291	17,4	3,705	4,360	12,34	0,538	16,931	3,167	25,9	1,530	8,179
3	2		3	21,291	17,4	3,705	3,096	12,34	0,382	18,195	3,323	25,0	1,374	7,524
3	2		4	20,252	17,4	3,524	2,760	12,34	0,341	17,492	3,183	25,6	1,464	8,042
3	2		5	20,252	17,4	3,524	2,124	12,34	0,262	18,128	3,262	27,6	1,523	8,462
3	2		6	20,252	17,4	3,524	3,337	12,34	0,412	16,915	3,112	27,5	1,626	8,837
3	2		7	20,252	17,4	3,524	3,401	12,34	0,420	16,851	3,104	26,9	1,596	8,666
Média				20,697		3,601	3,165		0,391	17,533	3,211	26,300	1,502	8,201
3	3	152	1	20,818	17,4	3,622	1,178	11,97	0,141	19,640	3,481	31,3	1,594	8,991
3	3		2	20,818	17,4	3,622	1,493	11,97	0,179	19,325	3,444	29,3	1,516	8,509
3	3		3	20,818	17,4	3,622	1,591	11,97	0,190	19,227	3,432	29,1	1,513	8,479
3	3		4	20,818	17,4	3,622	1,259	11,97	0,151	19,559	3,472	29,3	1,498	8,440
3	3		5	20,818	17,4	3,622	1,255	11,97	0,150	19,563	3,472	29,5	1,508	8,496
3	3		6	20,818	17,4	3,622	1,032	11,97	0,123	19,786	3,499	29,0	1,466	8,288
3	3		7	20,818	17,4	3,622	1,198	11,97	0,143	19,620	3,479	30,0	1,529	8,623
Média				20,818		3,622	1,287		0,154	19,531	3,468	29,643	1,518	8,547
3	3	78	1	18,736	17,4	3,260	1,097	9,71	0,107	17,639	3,154	21,7	1,230	6,881
3	3		2	18,736	17,4	3,260	1,316	9,71	0,128	17,420	3,132	21,2	1,217	6,768
3	3		3	18,736	17,4	3,260	1,598	9,71	0,155	17,138	3,105	19,8	1,155	6,377
3	3		4	18,736	17,4	3,260	1,612	9,71	0,157	17,124	3,104	19,6	1,145	6,315
3	3		5	18,736	17,4	3,260	1,045	9,71	0,101	17,691	3,159	17,4	0,984	5,509
3	3		6	18,736	17,4	3,260	0,284	9,71	0,028	18,453	3,233	21,8	1,181	6,744
3	3		7	18,736	17,4	3,260	1,160	9,71	0,113	17,576	3,147	18,5	1,053	5,878
Média				18,736		3,260	1,159		0,113	17,577	3,148	20,000	1,138	6,353
3	4	260	1	19,373	17,4	3,371	1,603	10,02	0,161	17,770	3,210	28,0	1,576	8,722
3	4		2	19,373	17,4	3,371	1,224	10,02	0,123	18,149	3,248	27,8	1,532	8,558
3	4		3	19,373	17,4	3,371	1,159	10,02	0,116	18,214	3,255	27,5	1,510	8,449
3	4		4	19,373	17,4	3,371	1,420	10,02	0,142	17,953	3,229	24,9	1,387	7,712
3	4		5	19,373	17,4	3,371	2,324	10,02	0,233	17,049	3,138	27,0	1,584	8,604
3	4		6	19,373	17,4	3,371	1,011	10,02	0,101	18,362	3,270	24,9	1,356	7,616
3	4		7	19,373	17,4	3,371	1,250	10,02	0,125	18,123	3,246	27,4	1,512	8,442
Média				19,373		3,371	1,427		0,143	17,946	3,228	26,786	1,494	8,301
3	4	261	1	19,373	17,4	3,371	3,260	11,35	0,370	16,113	3,001	22,6	1,403	7,531
3	4		2	19,373	17,4	3,371	2,012	11,35	0,228	17,361	3,143	23,2	1,336	7,383
3	4		3	19,373	17,4	3,371	3,784	11,35	0,429	15,589	2,941	23,0	1,475	7,819
3	4		4	19,373	17,4	3,371	2,708	11,35	0,307	16,665	3,064	23,4	1,404	7,638
3	4		5	19,373	17,4	3,371	2,992	11,35	0,340	16,381	3,031	24,3	1,483	8,016
3	4		6	19,373	17,4	3,371	2,080	11,35	0,236	17,293	3,135	24,7	1,428	7,879
3	4		7	19,373	17,4	3,371	2,056	11,35	0,233	17,317	3,138	24,5	1,415	7,809
Média				19,373		3,371	2,699		0,306	16,674	3,065	23,671	1,421	7,725
TOTAL				1197,797		208,417	129,658		15,177	1068,139	193,240	1479,300		
Média				21,389	17,4	3,722	2,315	11,38	0,271	19,074	3,451	26,416	1,393	7,681

## APÊNDICE 8 (continuação...)

TRAT.	PER	ANIM	DIA	ALIMENTO OFERECIDO			SOBRAS			ALIM. CONSUM.		LEITE PRODUZIDO		
				M.S (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.S. (kg)	% P.B.	P.B. (kg)	M.Seca	P.Bruta	Total	Por kg.M.S.	Por kg.P.B
4	1	152	1	24,795	17,4	4,314	2,354	11,47	0,270	22,441	4,044	30,4	1,355	7,517
4	1		2	22,674	17,4	3,945	2,932	11,47	0,336	19,742	3,609	32,2	1,631	8,922
4	1		3	22,674	17,4	3,945	2,849	11,47	0,327	19,825	3,619	33,8	1,705	9,341
4	1		4	22,670	17,4	3,945	3,126	11,47	0,359	19,544	3,586	32,6	1,668	9,091
4	1		5	22,670	17,4	3,945	2,771	11,47	0,318	19,899	3,627	32,6	1,638	8,989
4	1		6	22,674	17,4	3,945	2,534	11,47	0,291	20,140	3,655	32,2	1,599	8,811
4	1		7	22,674	17,4	3,945	1,549	11,47	0,178	21,125	3,768	32,4	1,534	8,600
Média				22,976	17,4	3,998	2,588	11,47	0,297	20,388	3,701	32,314	1,590	8,753
4	1	78	1	22,674	17,4	3,945	7,213	17,45	1,259	15,461	2,687	22,6	1,462	8,412
4	1		2	15,118	17,4	2,631	2,470	17,45	0,431	12,648	2,200	20,3	1,605	9,229
4	1		3	15,118	17,4	2,631	3,743	17,45	0,653	11,375	1,977	19,4	1,705	9,811
4	1		4	15,118	17,4	2,631	0,131	17,45	0,023	14,987	2,608	19,4	1,294	7,440
4	1		5	22,662	17,4	3,943	1,364	17,45	0,238	21,298	3,705	21,9	1,028	5,911
4	1		6	18,889	17,4	3,287	2,623	17,45	0,458	16,266	2,829	22,3	1,371	7,883
4	1		7	18,889	17,4	3,287	1,684	17,45	0,294	17,205	2,993	23,7	1,378	7,919
Média				18,353	17,4	3,193	2,747	17,45	0,479	15,606	2,714	21,371	1,406	8,086
4	2	259	1	21,923	17,4	3,815	1,632	9,97	0,163	20,291	3,652	30,2	1,488	8,270
4	2		2	20,011	17,4	3,482	2,468	9,97	0,246	17,543	3,236	30,6	1,744	9,456
4	2		3	21,923	17,4	3,815	1,621	9,97	0,162	20,302	3,653	29,7	1,463	8,130
4	2		4	21,776	17,4	3,789	2,706	9,97	0,270	19,070	3,519	30,7	1,610	8,723
4	2		5	21,776	17,4	3,789	2,057	9,97	0,205	19,719	3,584	31,0	1,572	8,650
4	2		6	21,776	17,4	3,789	1,118	9,97	0,111	20,658	3,678	32,2	1,559	8,756
4	2		7	21,776	17,4	3,789	1,464	9,97	0,146	20,312	3,643	31,4	1,546	8,619
Média				21,566	17,4	3,752	1,866	9,97	0,186	19,699	3,566	30,829	1,569	8,658
4	2	230	1	21,923	17,4	3,815	1,755	11,84	0,208	20,168	3,607	29,9	1,483	8,290
4	2		2	20,011	17,4	3,482	3,535	11,84	0,419	16,476	3,063	26,0	1,578	8,488
4	2		3	21,923	17,4	3,815	3,684	11,84	0,436	18,239	3,378	26,4	1,447	7,814
4	2		4	20,179	17,4	3,511	2,312	11,84	0,274	17,867	3,237	28,4	1,590	8,772
4	2		5	23,365	17,4	4,066	0,174	11,84	0,021	23,191	4,045	31,1	1,341	7,689
4	2		6	23,365	17,4	4,066	2,204	11,84	0,261	21,161	3,805	30,0	1,418	7,885
4	2		7	23,365	17,4	4,066	4,071	11,84	0,482	19,294	3,584	28,8	1,493	8,037
Média				22,019	17,4	3,831	2,534	11,84	0,300	19,485	3,531	28,657	1,478	8,139
4	3	260	1	21,368	17,4	3,718	2,843	11,39	0,324	18,525	3,394	30,6	1,652	9,015
4	3		2	21,368	17,4	3,718	2,965	11,39	0,338	18,403	3,380	29,0	1,576	8,579
4	3		3	21,368	17,4	3,718	3,520	11,39	0,401	17,848	3,317	29,0	1,625	8,743
4	3		4	21,368	17,4	3,718	3,746	11,39	0,427	17,622	3,291	28,8	1,634	8,750
4	3		5	19,780	17,4	3,442	1,468	11,39	0,167	18,312	3,274	29,4	1,606	8,979
4	3		6	19,780	17,4	3,442	2,353	11,39	0,268	17,427	3,174	28,4	1,630	8,949
4	3		7	19,780	17,4	3,442	3,138	11,39	0,357	16,642	3,084	27,6	1,658	8,949
Média				20,687	17,4	3,600	2,862	11,39	0,326	17,825	3,274	28,971	1,626	8,852
4	3	261	1	19,780	17,4	3,442	2,663	12,55	0,334	17,117	3,108	25,0	1,460	8,045
4	3		2	19,780	17,4	3,442	1,679	12,55	0,211	18,101	3,231	24,4	1,348	7,552
4	3		3	19,780	17,4	3,442	3,713	12,55	0,466	16,067	2,976	25,3	1,575	8,502
4	3		4	19,780	17,4	3,442	2,826	12,55	0,355	16,954	3,087	26,6	1,569	8,617
4	3		5	19,780	17,4	3,442	1,818	12,55	0,228	17,962	3,214	25,4	1,414	7,904
4	3		6	19,780	17,4	3,442	1,940	12,55	0,243	17,840	3,198	25,2	1,413	7,879
4	3		7	19,780	17,4	3,442	3,046	12,55	0,382	16,734	3,059	26,1	1,560	8,531
Média				19,780	17,4	3,442	2,527	12,55	0,317	17,253	3,125	25,429	1,477	8,147
4	4	238	1	22,807	17,4	3,968	5,481	15,84	0,868	17,326	3,100	23,2	1,339	7,483
4	4		2	22,807	17,4	3,968	5,787	15,84	0,917	17,020	3,052	23,4	1,375	7,668
4	4		3	20,155	17,4	3,507	1,974	15,84	0,313	18,181	3,194	23,7	1,304	7,419
4	4		4	20,155	17,4	3,507	4,301	15,84	0,681	15,854	2,826	21,9	1,381	7,751
4	4		5	20,155	17,4	3,507	4,433	15,84	0,702	15,722	2,805	23,2	1,476	8,272
4	4		6	20,155	17,4	3,507	2,225	15,84	0,352	17,930	3,155	22,7	1,266	7,196
4	4		7	20,155	17,4	3,507	2,173	15,84	0,344	17,982	3,163	23,0	1,279	7,272
Média				20,913	17,4	3,639	3,768	15,84	0,597	17,145	3,042	23,014	1,346	7,580
4	4	262	1	21,219	17,4	3,692	4,073	18,25	0,743	17,146	2,949	25,6	1,493	8,681
4	4		2	21,219	17,4	3,692	5,272	18,25	0,962	15,947	2,730	24,5	1,536	8,975
4	4		3	21,219	17,4	3,692	4,233	18,25	0,772	16,986	2,920	23,7	1,395	8,117
4	4		4	21,219	17,4	3,692	5,951	18,25	1,086	15,268	2,606	21,6	1,415	8,288
4	4		5	21,219	17,4	3,692	6,230	18,25	1,137	14,989	2,555	22,6	1,508	8,845
4	4		6	21,219	17,4	3,692	5,777	18,25	1,054	15,442	2,638	21,4	1,386	8,113
4	4		7	21,219	17,4	3,692	5,165	18,25	0,943	16,055	2,750	21,6	1,345	7,856
Média				21,219	17,4	3,692	5,243	18,25	0,957	15,976	2,735	23,000	1,440	8,411
TOTAL				1172,585	17,4	204,030	168,936	13,60	24,212	1003,649	179,818	1495,100		
Média				20,939	17,4	3,643	3,017	13,60	0,432	17,922	3,211	26,698	1,491	8,328

APÊNDICE 9– Análise da variância da variável consumo de matéria seca  
(CMS).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	3,189	2,82	0,0747
Quadrado	1	12,960	11,45	0,0041
Coluna/Quadrado	6	10,436	9,22	0,0002
Linhas	3	0,206	0,18	0,9072
Erro	15	1,132		

---

Média Geral: 18,351  
Coeficiente de Variação (%): 5,80

APÊNDICE 10– Análise da variância da variável consumo de proteína bruta  
(CPB).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,135	2,80	0,0760
Quadrado	1	0,417	8,65	0,0101
Coluna/Quadrado	6	0,354	7,34	0,0008
Linhas	3	0,014	0,29	0,8320
Erro	15	0,048		

---

Média Geral: 3,311  
Coeficiente de Variação (%): 6,63

APÊNDICE 11– Análise da variância da variável produção de leite total (PLT).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	2,600	4,14	0,0253
Quadrado	1	97,301	154,75	0,0001
Coluna/Quadrado	6	33,714	53,62	0,0001
Linhas	3	11,162	17,75	0,0001
Erro	15	0,629		

---

Média Geral: 26,519

Coeficiente de Variação (%): 2,99

---

APÊNDICE 12– Análise da variância da variável produção de leite total corrigido para 4% de gordura (PLT-4%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	4,475	2,19	0,1311
Quadrado	1	52,275	25,63	0,0001
Coluna/Quadrado	6	31,567	15,48	0,0001
Linhas	3	8,530	4,18	0,0244
Erro	15	2,040		

---

Média Geral: 23,497

Coeficiente de Variação (%): 6,08

---

APÊNDICE 13– Análise da variância da variável kg de leite produzido, por kg de matéria seca consumida (LKMS).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,014	3,64	0,0375
Quadrado	1	0,055	14,08	0,0019
Coluna/Quadrado	6	0,077	19,66	0,0001
Linhas	3	0,030	7,57	0,0026
Erro	15	0,004		

---

Média Geral: 1,453

Coeficiente de Variação (%): 4,31

---

APÊNDICE 14– Análise da variância da variável kg de leite produzido, por kg de proteína bruta consumida (LKPB).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,581	3,49	0,0423
Quadrado	1	1,599	9,60	0,0073
Coluna/Quadrado	6	2,202	13,21	0,0001
Linhas	3	0,722	4,33	0,0218

Erro

15

0,167

Média Geral: 8,050

Coeficiente de Variação (%): 5,07

APÊNDICE 15 –Produção (g) e teores percentuais de gordura, proteína, lactose, e sólidos totais no leite de vacas recebendo 4 diferentes fontes protéicas

Trat	Anim n°	Prod. Leite (kg)	Componentes do Leite							
			Gordura		Proteína		Lactose		Sólidos Totais	
			(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)
T1	238	23,7	3,68	870	3,42	810	4,41	1.050	12,35	2.930
T1	260	28,4	3,12	890	2,93	830	4,89	1.390	11,78	3.350
T1	259	27,6	2,54	700	3,10	860	4,50	1.240	10,94	3.020
T1	152	28,2	3,18	900	3,15	890	4,55	1.280	11,72	3.310
T1	262	26,0	2,83	740	2,87	750	4,10	1.070	10,52	2.740
T1	261	26,0	3,30	860	3,00	780	4,05	1.050	11,10	2.890
T1	230	26,5	3,14	830	3,12	830	4,69	1.240	11,79	3.120
T1	78	15,6	3,32	520	3,59	560	3,82	600	11,45	1.790
T2	260	26,8	2,77	740	3,01	810	4,78	1.280	11,41	3.060
T2	152	31,2	3,06	950	2,76	860	4,67	1.460	11,29	3.520
T2	238	25,3	3,58	910	3,48	880	4,62	1.170	12,54	3.170
T2	259	28,8	2,54	730	3,19	920	4,34	1.250	10,89	3.140
T2	261	25,1	3,32	830	3,06	770	4,19	1.050	11,32	2.840
T2	78	23,3	3,27	760	3,24	750	4,17	970	11,46	2.670
T2	262	27,7	3,18	880	3,17	880	4,20	1.160	11,32	3.140
T2	230	27,6	3,96	1.090	3,21	890	4,57	1.260	12,57	3.470
T3	259	29,4	2,98	880	2,95	870	4,41	1.300	11,12	3.270
T3	238	25,6	3,86	990	3,21	820	4,71	1.210	12,63	3.230
T3	152	30,0	3,27	980	3,05	920	4,52	1.360	11,64	3.490
T3	260	27,4	3,27	900	2,99	820	4,90	1.340	12,06	3.300
T3	230	28,8	3,94	1.130	3,14	900	4,29	1.240	12,15	3.500
T3	262	26,9	3,54	950	2,87	770	4,29	1.150	11,46	3.080
T3	78	18,5	2,56	470	3,31	610	4,11	760	10,74	1.990
T3	261	24,5	3,21	790	3,18	780	4,26	1.040	11,45	2.810
T4	152	32,4	3,14	1.020	2,93	950	4,43	1.440	11,29	3.660
T4	259	31,4	3,24	1.020	2,76	870	4,51	1.420	11,30	3.550

T4	260	27,6	3,16	870	3,11	860	4,99	1.380	12,16	3.360
T4	238	23,0	3,81	880	3,39	780	4,65	1.070	12,70	2.920
T4	78	23,7	2,62	620	3,07	730	4,41	1.050	10,90	2.580
T4	230	28,8	3,38	970	2,91	840	4,53	1.300	11,62	3.350
T4	261	26,1	3,40	890	3,17	830	4,20	1.100	11,53	3.010
T4	262	21,6	3,67	790	3,13	680	4,02	870	11,57	2.500

APÊNDICE 16 –Produção (g) e teores percentuais de proteína bruta e verdadeira no leite de vacas recebendo 4 diferentes fontes protéicas

Trat	Anim nº	Prod. Leite (kg)	Proteína no Leite			
			Proteína Bruta		Proteína Verdadeira	
			(%)	(g)	(%)	(g)
T1	238	23,7	3,42	810	3,20	759
T1	260	28,4	2,93	830	2,70	766
T1	259	27,6	3,10	860	2,88	798
T1	152	28,2	3,15	890	2,85	804
T1	262	26,0	2,87	750	2,78	727
T1	261	26,0	3,00	780	2,72	708
T1	230	26,5	3,12	830	2,92	778
T1	78	15,6	3,59	560	3,44	536
T2	260	26,8	3,01	810	2,75	740
T2	152	31,2	2,76	860	2,50	817
T2	238	25,3	3,48	880	3,23	817
T2	259	28,8	3,19	920	2,92	842
T2	261	25,1	3,06	770	2,71	683
T2	78	23,3	3,24	750	2,98	689
T2	262	27,7	3,17	880	2,92	810
T2	230	27,6	3,21	890	2,95	817
T3	259	29,4	2,95	870	2,71	798
T3	238	25,6	3,21	820	2,95	753
T3	152	30,0	3,05	920	2,81	849
T3	260	27,4	2,99	820	2,68	734
T3	230	28,8	3,14	900	2,92	836
T3	262	26,9	2,87	770	2,59	695
T3	78	18,5	3,31	610	3,08	568
T3	261	24,5	3,18	780	2,92	715
T4	152	32,4	2,93	950	2,70	874
T4	259	31,4	2,76	870	2,51	791

T4	260	27,6	3,11	860	2,86	791
T4	238	23,0	3,39	780	2,21	721
T4	78	23,7	3,07	730	2,82	670
T4	230	28,8	2,91	840	2,67	772
T4	261	26,1	3,17	830	2,95	772
T4	262	21,6	3,13	680	2,91	632

Obs: proteína verdadeira calculada conforme DePeters et.al. (1992), considerando que aproximadamente 7% da proteína bruta é constituída por nitrogênio não protéico (NNP) e que o nitrogênio uréico corresponde a 50% do NNP.

APÊNDICE 17– Análise da variância da variável teores de gordura no leite  
GORD(%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,061	0,74	0,5440
Quadrado	1	0,065	0,79	0,3886
Coluna/Quadrado	6	0,440	5,36	0,0039
Linhas	3	0,141	1,72	0,2054
Erro	15	0,082		

Média Geral: 3,245  
Coeficiente de Variação (%): 8,83

APÊNDICE 18–Análise da variância da variável quilogramas de gordura  
produzida no leite GORD(kg)

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
--------------------	----	----	---	-------

Tratamento	3	0,016	1,98	0,1608
Quadrado	1	0,039	4,63	0,0481
Coluna/Quadrado	6	0,065	7,82	0,0006
Linhas	3	0,019	2,29	0,1203
Erro	15	0,008		

---

Média Geral: 0,855

Coeficiente de Variação (%): 10,67

---

APÊNDICE 19– Análise da variância da variável teores de proteína no leite  
PROT(%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,014	2,08	0,1465
Quadrado	1	0,012	1,67	0,2162
Coluna/(Quadrado	6	0,104	14,88	0,0001
Linhas	3	0,122	17,47	0,0001
Erro	15	0,007		

---

Média Geral: 3,108

Coeficiente de Variação (%): 2,69

---

APÊNDICE 20– Análise da variância da variável teores de proteína verdadeira  
no leite PROT VER(%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,019	2,33	0,1156
Quadrado	1	0,022	2,72	0,1200
Coluna/Quadrado	6	0,112	13,82	0,0001
Linhas	3	0,126	15,52	0,0001
Erro	15	0,008		

---

Média Geral: 2,864

Coeficiente de Variação (%): 3,14

---

APÊNDICE 21—Análise da variância da variável quilogramas de proteína produzida no leite PROT(kg)

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,004	1,64	0,2227
Quadrado	1	0,061	23,41	0,0002
Coluna/Quadrado	6	0,017	6,55	0,0015
Linhas	3	0,003	1,07	0,3907
Erro	15	0,003		

---

Média Geral: 0,816

Coeficiente de Variação (%): 6,27

---

APÊNDICE 22–Análise da variância da variável gramas de proteína verdadeira produzida no leite PROT VER(g)

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	2.848,718	1,23	0,3343
Quadrado	1	45.467,709	19,59	0,0005
Coluna/Quadrado	6	13.732,578	5,92	0,0024
Linhas	3	3.013,749	1,30	0,3114
Erro	15	2.321,169		

---

Média Geral: 749,609  
 Coeficiente de Variação (%): 6,43

---

APÊNDICE 23– Análise da variância da variável teores de lactose no leite LACT(%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,012	0,61	0,6211
Quadrado	1	1,118	56,59	0,0001
Coluna/Quadrado	6	0,143	7,25	0,0009
Linhas	3	0,024	1,23	0,3343
Erro	15	0,020		

---

Média Geral: 4,431  
 Coeficiente de Variação (%): 3,17

---

APÊNDICE 24–Análise da variância da variável quilogramas de lactose produzida no leite LACT(kg)

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,013	2,14	0,1379
Quadrado	1	0,435	69,22	0,0001
Coluna/Quadrado	6	0,834	13,36	0,0001
Linhas	3	0,033	5,20	0,0116
Erro	15	0,006		

---

Média Geral: 1,173  
 Coeficiente de Variação (%): 6,75

---

APÊNDICE 25– Análise da variância da variável teores de sólidos totais no leite SLS TOT(%).

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,065	0,72	0,5548
Quadrado	1	0,741	8,27	0,0116
Coluna/Quadrado	6	1,134	12,65	0,0001
Linhas	3	0,234	2,61	0,0897
Erro	15	0,090		

---

Média Geral: 11,587

Coeficiente de Variação (%): 2,58

---

APÊNDICE 26—Análise da variância da variável quilogramas de sólidos totais produzida no leite SLS TOT(kg)

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	0,095	2,35	0,1135
Quadrado	1	1,445	35,73	0,0001
Coluna/Quadrado	6	0,471	11,65	0,0001
Linhas	3	0,122	3,01	0,0634
Erro	15	0,040		

---

Média Geral: 3,055

Coeficiente de Variação (%): 6,58

---

APÊNDICE—27- Concentração de Nitrogênio Uréico no plasma sanguíneo das vacas recebendo 4 diferentes fontes protéicas na dieta (mg/dL)

Animal nº	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
78	18,52	18,44	18,61	16,12
152	21,99	19,39	20,23	19,87
230	18,41	23,39	19,75	18,22
238	15,14	19,59	21,63	16,79

259	22,55	16,15	20,51	15,33
260	24,29	23,70	21,94	21,88
261	20,54	23,06	21,38	18,75
262	19,59	24,43	23,17	18,94

APÊNDICE 28 Concentração de Nitrogênio Uréico no leite das vacas recebendo 4 diferentes fontes protéicas na dieta (mg/dL)

Animal nº	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
78	13,12	20,45	19,22	19,17
152	22,55	20,31	18,27	18,27
230	15,39	19,06	18,10	18,30
238	16,62	18,94	21,27	18,89
259	18,94	21,01	18,41	19,81
260	18,33	20,29	25,46	20,73
261	20,51	21,88	20,48	17,88
262	14,77	19,45	21,80	17,74

APÊNDICE 29—Análise da variância da variável concentração de nitrogênio uréico no sangue (NUS), em mg/dL

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	13,212	2,69	0,0834
Quadrado	1	0,004	0,00	0,9787
Coluna/Quadrado	6	14,097	2,87	0,0455
Linhas	3	1,059	0,22	0,8839

Erro	15	4,908
------	----	-------

---

Média Geral: 20,072

Coeficiente de Variação (%): 11,04

---

APÊNDICE 30—Análise da variância da variável concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL), em mg/dL

Causas da variação	GL	QM	F	P > F
Tratamento	3	13,984	4,89	0,0145
Quadrado	1	13,494	4,72	0,0463
Coluna/Quadrado	6	4,314	1,51	0,2416
Linhas	3	5,559	1,94	0,1659
Erro	15	2,859		

---

Média Geral: 19,232

Coeficiente de Variação (%): 8,79

---