

## TÍTULO DO PROJETO

# MODULAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE E DERIVADOS ATRAVÉS DO FORNECIMENTO DE GRÃOS RICOS EM ÓLEOS POLIINSATURADOS

COORDENADOR: PROF. DR. GERALDO TADEU DOS SANTOS – UEM – CCA - DZO

***PARTICIPANTES DA UEM:***

PROF. DR. ANTONIO FERRIANI BRANCO – UEM – CCA - DZO

PROF. DR. JÚLIO CESAR DAMASCENO – UEM – CCA – DZO

PROF. DR. CLÓVES CABREIRA JOBIM – UEM – CCA – DZO

PROF. DR. ULYSSES CECATO – UEM – CCA – DZO

PROF. DR. ARILDO JOSÉ BRAZ DE OLIVEIRA – UEM – CCB – DBQ

PROF. DR. ELIAS NUNES MARTINS – UEM – CCA – DZO

PROF. DR. ANTONIO JOSÉ PALANGANA – UEM – CCE - DFI

***PARTICIPANTE DA UNIOESTE:***

PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. SIMONE DAMASCENO GOMES

**PARTICIPANTE DA AGRICULTURA AGRO-ALIMENTAIRE CANADA**

Centre de Recherche et Développement sur le Bovin Laitière et le Porc

LENNOXVILLE – QUEBEC – CANADA

DR<sup>a</sup>. HELENE V. PETIT

## Índice

Resumo	2
Descrição clara do núcleo e sua origem	3
Adequação da equipe para realização do projeto	4
Descrição da infra-estrutura de pesquisa já existente	5
Listagem de todos os projetos de pesquisa desenvolvidos pela equipe, financiados nos últimos 3 anos,	5
Sobre o Coordenador e Pesquisadores Principais	7
Qualidade e regularidade da produção científica	9
Sobre a equipe Técnica de Apoio	11
Projeto de pesquisa	16
Estado Atual de Conhecimento no Domínio da Pesquisa	17
Material e Métodos	22
Sub-projeto 1	26
Sub-projeto 2	28
Sub-projeto 3	31
Sub-projeto 4	33
Sub-projeto 5	35
Sub-projeto 6	37
Sub-projeto 7	39
Sub-proejto 8	41

## RESUMO

O enfoque que se dá neste projeto está relacionado aos ácidos graxos, ômega 3 e 6 (CLA), ambos com valor nutracêutico na nutrição humana. Nossos trabalhos, com vacas confinadas apontam benefício do processamento químico (lignosulfonato) e físico (extrusão) sobre os grãos de soja no aumento de CLA no leite. Igualmente, o processamento físico (moagem) do grão de linhaça, com ou sem a adição de monensina sódica mostram diminuição da biohidrogenação no rúmen, e por consequência aumento de ômega 3 e CLA no leite. Isto permite de forma natural, produção de leite com valor agregado (nutracêutico) bom para a saúde de quem o consome. O leite e derivados passou de um produto importado para ganhar espaço na pauta de exportação. Nesta linha, o núcleo está trabalhando com a possibilidade de contribuir para o avanço da ciência. Nossa proposta tem 8 sub-projetos. As hipóteses estabelecidas são: É possível melhorar o perfil de ácidos graxos do leite e derivados a partir do fornecimento de grãos de oleaginosas como componentes do concentrado de vacas leiteiras; Tratamentos físico e químico destas fontes reduzem a biohidrogenação dos ácidos graxos poliinsaturados no rúmen, melhoram o padrão de degradação da proteína no rúmen, com consequente maior aporte de aminoácidos absorvidos, e menor impacto ambiental; O fornecimento de linhaça e grão de soja para vacas leiteiras aumentaria a quantidade de antioxidantes no leite (enterolactona, isoflavonóides), tornando mais estáveis os ácidos graxos poliinsaturados presentes no leite e derivados; As respostas na qualidade do leite e derivados ao fornecimento das fontes de ácidos poliinsaturados variam em função da estratégia de alimentação das vacas: sistema base silagem de milho e sistema base pastagem de *Cynodom*.

## **SOBRE O NÚCLEO**

### **a) Descrição Clara do Núcleo e sua Origem:**

Em 1995 com a criação do Grupo de Pesquisa Produção de Ruminantes cadastrado no CNPq, deu-se um passo importante para o trabalho de equipe, visando estudar alguns segmentos da cadeia produtiva do leite, mais precisamente as relacionadas com a **nutrição/alimentação e qualidade do leite, sem perder de vista a questão ambiental**. Com relação à qualidade do leite, o enfoque principal que a equipe vem dando está relacionado aos ácidos graxos essenciais [ômega 3 e ácido linoléico conjugado (CLA)], ambos com valor nutracêutico na nutrição humana. Em nossos trabalhos recentes, com vacas confinadas, têm apontado para um efeito benéfico da associação de processamento químico (lignosulfonato) e físico (extrusão) sobre os grãos de soja (ricos em ômega 6) no aumento deste ácido no leite, conforme trabalho no prelo na revista ANIFEE (*Animal Feed Science and Technology*) ([http://ees.elsevier.com/anifee/](http://ees.elsevier.com/aniffee/)). Igualmente, temos estudado a associação de processamento físico (moagem) do grão de linhaça (ricos em ômega 3), com ou sem a adição de monensina sódica. Os resultados mostram diminuição da biohidrogenação, pelos microrganismos do rúmen, e por consequência aumento destes ácidos no leite e seus derivados. Este trabalho recém concluído foi encaminhado para publicação no *Journal of Dairy Science*, Champaign, EUA. ([www.adsa.org/jds](http://www.adsa.org/jds)).

A redução da biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados, sem que isto afete drasticamente os microrganismos do rúmen, se constituirá num grande avanço ao desenvolvimento científico e tecnológico. O controle da biohidrogenação é o primeiro passo para a modificação dos constituintes do leite, entre eles os ácidos graxos. Só o fato de podermos saber que tipo de gordura iremos obter se fornecer um determinado tipo de alimento a vaca em lactação, possibilitará, de forma natural, produção de leite com valor agregado (nutracêutico) e excelente para a saúde de quem o consome. Os produtos naturais e principalmente, os nutracêuticos proporcionam grandes vantagens ao produtor. Esta descoberta dará sustentabilidade ao setor leiteiro que começa a se despontar como mais um produto de exportação agrícola, depois de passar por várias décadas como um dos maiores importadores desta matéria prima de outros países. Nesta linha de pesquisa que o grupo está perseguindo com insistência de forma a contribuir para o sucesso do avanço da ciência.

Também serão focos de pesquisa os aspectos relacionados à qualidade do leite, como contagem bacteriana, contagem de células somáticas, resíduos de pesticidas e inseticidas, estes dois últimos corriqueiramente empregados nas granjas produtoras de leite. O grupo envolvido tem realizado publicações nesta linha de pesquisa que comprovam a capacidade em conduzir trabalhos de qualidade que alcançam as revistas de maior destaque na área (*Canadian Journal of Animal Science, Journal Dairy Science, Animal Feed and Technology, Revista Brasileira de Zootecnia, Brazilian Archives and Technology (Tecpar), Acta Scientiarum*, entre outras). Uma outra vertente que fará parte da proposta é ligada ao equilíbrio dos nutrientes, principalmente, energia, proteína e minerais. A preocupação é muito grande com relação ao meio ambiente e o excesso de proteína e fósforo, por exemplo, na dieta da vaca leiteira leva a um aumento da quantidade de resíduos excretados na urina e fezes, contaminando o meio ambiente. O monitoramento através de análises de uréia no leite possibilita avaliar o equilíbrio de proteína e energia na dieta, ao mesmo tempo em que nos fornece esta informação, permite que se corrija o problema na origem. O excesso de uréia no leite tem sido associado a problemas reprodutivos. Desta forma, no equilíbrio correto da alimentação

das vacas leiteiras estaremos ao mesmo tempo, diminuindo a poluição ambiental e melhorando o desempenho reprodutivo. Dos tratamentos possíveis de serem utilizados na nutrição, alguns já são do domínio do grupo de pesquisa que desenvolveram trabalhos anteriores, principalmente, tratamentos químicos (tanino condensado, ácido tânico, lignosulfonato) e tratamentos térmicos (cozimento a vapor, cozimento seco, extrusão). O calor, por exemplo, é um tratamento importante a ser considerado, uma vez que o grão de soja não aquecido apresenta taxa de degradabilidade ruminal de 86%, mas quando submetido a 140 graus centígrados sua degradabilidade cai para apenas 18% (NRC, 1989). Este processamento aumenta a degradação ruminal dos carboidratos não estruturais, reduzindo assim, a relação acetato – propionato no rúmen e diminuindo perdas com os processos de fermentação.

Igualmente, a criação de gado leiteiro em confinamento ou semiconfinamento tem trazido algumas preocupações quanto ao destino dos dejetos oriundos dos animais e da água utilizada na lavagem dos equipamentos e reservatórios de leite. Estudos serão feitos para viabilizar o tratamento correto a ser dado aos dejetos (fezes e urinas) e posterior utilização como fertilizante orgânico para as pastagens e áreas de produção de forragens destinadas à silagem e feno.

Trata-se de um projeto composto de 8 sub-projetos que certamente contribuirá para o desenvolvimento científico, tecnológico e inovação do País, à medida que controlando a qualidade do leite produzido poderíamos agregar maiores valores aos sub-produtos, tais como manteiga, queijos, yogurtes e bebidas lácteas, portanto é um projeto de relevância para o desenvolvimento científico e tecnológico do País.

A metodologia proposta é adequada para executar este tipo de trabalho científico e sai da rotina, uma vez que se lança mão de técnicas metodológicas modernas para o preparo das dietas experimentais, tais como o processamento extrusão, tratamento com lignosulfonato, e o uso da monensina sódica com objetivo preciso, redução da biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados. Além da utilização da cromatografia gasosa para a determinação dos ácidos graxos da gordura do leite.

#### **b) Adequação da Equipe para Realização do Projeto:**

A equipe é composta por 9 participantes além do Coordenador (Geraldo Tadeu dos Santos, Antônio Ferriani Branco, Ulysses Cecato, Clóves Cabreira Jobim, Júlio César Damasceno, Elias Nunes Martins, Antônio José Palangana, Simone Damasceno, Arildo José Braz de Oliveira e Hélène V. Petit ). Os participantes são especialistas em áreas complementares em consonância com as necessidades do projeto. Participam da presente proposta, dois especialistas em Pastagens e Forragicultura, quatro em Nutrição e metabolismo animal, uma pesquisadora especialista em Meio ambiente, um em análises laboratoriais dos ácidos graxos por cromatografia gasosa e um especialista em física, que atuará nas análises de textura, densidade e ponto de fusão da manteiga obtidas nos experimentos. Teremos ainda a participação de pós-graduandos (mestrado e doutorado) e alunos da graduação em Zootecnia que serão treinados em nível de mestrado, doutorado e iniciação científica. A Dra. Hélène V. Petit vai trabalhar no projeto como consultora internacional, haja vista a grande contribuição que vem dando ao nosso Núcleo de pesquisa, tanto no desenvolvimento de pesquisa, publicações em conjunto (o que pode ser constatado no nosso currículo lattes) e na colaboração em eventos institucionais, como professora visitante e conferencista. Já esteve por três ocasiões na Universidade Estadual de Maringá, em atividades científicas e pedagógicas na pós-graduação. Na outra vertente a Dra. Petit tem contribuído, recebendo, em sua instituição, *Centre de Recherche et Développement sur le Bovin Laitière et le Porc de l'Agriculture et Agro-Alimentaire Canada*, doutorando nossos em estágio de doutorado sanduíche e pós-doutorados.

**c) Descrição da infra-estrutura de pesquisa já existente para o desenvolvimento do projeto**

<b>Descrição</b>	<b>Tipo de determinação e análises</b>
1. Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal	Método de Weende: MS, PB, EE, ENN, Fibra bruta, pH.
	Bomba Calorimétrica: energia bruta dos alimentos
	Van Soest: FDA, FDN, Lignina.
	Espectrofotômetro: determinação de cálcio e fósforo, amido.
2. Complexo de Apoio a Pesquisa	Microscópio Eletrônico de Varredura Difratômetro de Raio X – DRX Up-grade Ressonância Magnética HPLC (Cromatografia Líquida de alta Resolução) Aminograma (análise de uma parte dos aminoácidos), análise de proteínas do leite, como alfa- lactalbumina, beta-lactoglobulina, imunoglobulinas, etc...
3. Cromatógrafo gasoso	Determinação dos ácidos graxos saturados e insaturados da gordura do leite (cadeia curta, média e longa) e Ácidos graxos voláteis.
4. Laboratório de Metabolismo Animal (Ruminantes)	Digestibilidade in vitro (Tilley & Terry) – aparelho da ANKOM – Deisy II Analisador de fibras ANKOM (FDA e FDN) e Degradabilidade in situ.
5. Fazenda Experimental de Iguatemi:	Setor de Bovinocultura de Leite: 94 animais puros da raça Holandesa, sala de ordenha, estábulo com baias para execução de experimentos, micro-usina de pasteurização e empacotamento do leite,
	Setor de Preparação de Rações: Misturador de ração, silos verticais para armazenamento de milho e farelos vegetais, balanças, peletizadora de ração, máquina.
	Maquina Extrusora de Alimentos
	Centrífuga de campo para sangue Centrífuga a hematócrito
6. Laboratório de Plantas Forrageiras	Balcão para manipulação de rações e amostras de experimentos, congeladores, balanças (diversas) forno de microondas, moinhos e estufas de ventilação forçada.
7. Silos trincheiras	Quatro silos trincheiras usados para armazenar a silagem para alimentação das vacas
8. Equipamento de ensilagem	Maquina ensiladeira
9. Trator Ford com carreta	Utilizado na ensilagem de milho e/ou sorgo
10. Equipamento de fenação	Enfardadeira
11. Depósito para armazenamento de rações	Localizado ao lado do estábulo para armazenar as rações experimentais

**d) Listagem de todos os projetos de pesquisa desenvolvidos pela equipe, financiados nos últimos 3 anos, já concluídos ou em andamento, indicando a agência de fomento, vigência, recursos e resultados obtidos**

Listagem dos projetos de pesquisas	Coordenador	Agência de fomento	Vigência	Recursos	Resultados obtidos
Avaliação nutricional e metabólica de dietas ricas em proteínas e óleos vegetais na produção, reprodução e qualidade do leite	Geraldo Tadeu dos Santos	CNPq CAPES UEM-FEI PPZ	28/02/2003 a 28/01/2005	Auxílio a pesquisa Bolsa Aluno do PPZ	2 Mestres 2 Iniciação Científica 1 Doutor 3 Resumos expandidos 3 artigos científicos
Tecnologia aplicada no processamento de grãos de oleaginosas para diminuição da biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos visando a melhoria da qualidade do leite de vaca	Geraldo Tadeu dos Santos	CNPq	01/01/2005 a 31/12/2006	Auxílio a Pesquisa	1 Tese Doutorado 2 Dissertações 2 Iniciação Científica 5 Resumos em congressos 5 Artigos de divulgação científica
Professor Visitante	Geraldo Tadeu dos Santos	CNPq	24/09 a 05/10/2005	Auxílio a Prof. Visitante	Curso na Disciplina do PPZ – Nutrição, alimentação de bovinos de leite e corte
Banco de dados, sistemas de informação e identificação dos fatores críticos limitantes à produção leiteira nas regiões Noroeste e Oeste do Estado do Paraná	Geraldo Tadeu dos Santos	CNPq e Fundação Araucária	01/08/2001 a 31/07/2003	Auxílio a Pesquisa Bolsas de AT e IC	4 Dissertações Mestrado 3 bolsas de iniciação científica 2 de Apoio Técnico 2 Simpósios 2 dias de campo 8 publicações de divulgação científica 7 artigos científicos 7 resumos em congresso
Apoio a projetos de pesquisa	Antônio Ferriani Branco	CNPq	01/08/2006 a 31/07/2008	Bolsa de auxílio Técnico NS	1 Apoio Técnico a ser treinado
Avaliação de diferentes fosfatos na nutrição de ruminantes	Antônio Ferriani Branco	CNPq	01/08/2004 a 31/07/2007	Bolsa de Iniciação Científica	1 bolsista de IC treinado
Efeitos da densidade energética, da	Antônio Ferrini Branco	CNPq	01/07/2005 a 30/06/2007	Auxílio a Pesquisa	1 tese de doutorado 1 dissertação de

degradabilidade da proteína da dieta, e do consumo de energia sobre o metabolismo porta hepático de nutrientes em ruminantes					mestrado 2 resumos 2 publicações científicas
Avaliação de fontes de fósforo na nutrição de ruminantes	Antonio Ferriani Branco	Fund. Araucária	22/02/2005 a 21/02/2007	Auxílio a Pesquisa	1 dissertação de mestrado 1 resumo 1 publicação
Estudo de propriedades ópticas nas proximidades das transições de fases nemática uniaxiais – memática biaxial	Antonio José Palangana	Fundação Araucária	2004/2006	Auxílio Financeiro	3 artigos científicos
Programa de auxílio a Pós-graduação stricto sensu chamada de projeto 007/2003	Antonio José Palangana	Fundação Araucária	2004/2006	Auxílio Financeiro	Fortalecimento da Pós-graduação 2 artigos científicos
Programa de auxílio a Pós-graduação stricto sensu chamada de projetos 10/2005	Antonio José Palangana	Fundação Araucária	2006/2008	Auxílio Financeiro	Fortalecimento da Pós-graduação 3 artigos científicos
Usos e Aplicações da Cultura de Calos e células em Suspensão de <i>Tabernaemontana fushiaefolia</i>	Arildo José Braz de Oliveira	Fundação Araucária e CNPq	01/05/2004 a 24/07/2006	Auxílio a Pesquisa – Instalação de Jovens Doutores	1 Dissertação de Mestrado 2 Iniciação Científica 2 Resumos em Congressos 1 artigo de divulgação científica

## Sobre o Coordenador e Pesquisadores Principais

### a) Experiência e competência comprovadas e compatíveis com o projeto:

O Coordenador do projeto de pesquisa, **Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos** é doutor desde 1987, fez seu doutorado na *Université de Rennes I* na França e com dois pós-doutorados no Canadá, onde trabalhou em pesquisa, junto a equipe liderada pela Dra. Hélène V. Petit do *Centre de Recherche et Développement sur le Bovin laitier et le porc de Lennoxville, Qc.*, Canadá. Atuando em projetos de pesquisa com grãos de linhaça na alimentação da vaca leiteira. É o líder do Grupo de Pesquisa Produção de Ruminantes, cadastrado junto ao CNPq, desde 1996. É também o fundador do Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudos da Cadeia Produtiva do Leite (NUPEL) ([www.nupel.uem.br](http://www.nupel.uem.br)). Tem um currículo *Lattes* (<http://lattes.cnpq.br/7718816128860614>) bem consubstanciado em publicações na área objeto da presente proposta, além de diversas orientações em nível de mestrado e doutorado no programa de pós-graduação em Zootecnia da UEM

(Conceito 6 na CAPES), onde é o atual Coordenador. Já teve diversos projetos aprovados no CNPq, CONCITEC-PR e Fundação Araucária. **É bolsista produtividade do CNPq nível 1 B** e participou como membro do Comitê Assessor do CNPq (Brasília) de 2000 a 2003. No mesmo período participou, igualmente, do Comitê Assessor da Fundação Araucária no Paraná.

Os demais pesquisadores principais participantes da presente proposta são:

**O Prof. Dr. Antônio Ferriani Branco**, doutor pela UNESP de Jaboticabal em 1998, tendo desenvolvido seu doutorado sanduíche na *University of Kentucky* sob a co-orientação do Prof. Dr. David Lee Harmon. É membro do grupo de pesquisa Produção de Ruminantes. É bolsista produtividade em **pesquisa no CNPq categoria 1 B**. Tem um vasto currículo Lattes (<http://lattes.cnpq.br/2773324489168673>) e tem atuado em pesquisa ligada a presente proposta. A sua participação no projeto está ligada a formulação das dietas, e aos estudos da digestão, partição da digestão, degradabilidade, metabolismo lipídico (ácidos graxos), parâmetros ruminais e sanguíneo. Atuará na orientação de alunos de iniciação científica, apoio técnico, mestrado e doutorado. Ajudará na revisão bibliográfica e

**O Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim**, doutor pela UNESP de Jaboticabal em 1999. Realizou pós-doutoramento na França no *Institut de Recherches Agronomique* (INRA) de Lausignon. Onde desenvolveu trabalho em conservação de forragens e produção leiteira. É membro do grupo de pesquisa Produção de Ruminantes e líder do grupo de pesquisa Forragens Conservadas. Tem experiência na área de conservação de forragem e qualidade do leite, aonde vem atuando como orientador de teses de doutorado e dissertação de mestrado. O Prof. Jobim é **pesquisador do CNPq, categoria 1D** (<http://lattes.cnpq.br/7147627181967664>).

**O Prof. Dr. Ulysses Cecato é Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1-A** (<http://lattes.cnpq.br/4947782232797063>) possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria (1976), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria (1981) e doutorado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1993). Atualmente é professor titular da Universidade Estadual de Maringá. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em Pastagem e Forragicultura. Atuando principalmente nos seguintes temas: adubação nitrogenada, produção forrageira.

**O Prof. Dr. Júlio César Damasceno** é doutor pela UNESP de Botucatu em 1998. Realizou dois pós-doutorados na França no *Institut de Recherches Agronomique* (INRA) de Clermont-Ferrand. Trabalhando com bovinocultura leiteira a pasto, avaliando consumo com indicadores tais como n-alcano. Tem desenvolvido publicações em associação com os pesquisadores acima descritos. Seu currículo Lattes (<http://lattes.cnpq.br/5078553366285896>) comprova a qualidade de sua atuação o que lhe confere o título de bolsista produtividade em **pesquisa no CNPq, categoria II**. É o líder do Grupo de Pesquisa Ruminantes e Meio Ambiente.

O Prof. Dr. Elias Nunes Martins é Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1B (<http://lattes.cnpq.br/7891490489383146>) possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (1977), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1982) e doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1994). Atualmente é Professor associado da Universidade Estadual de Maringá e Membro da Equipe Técnica do GENEPLUS - Progra do Centro Nacional de Gado de Corte Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tem experiência na área de

Zootecnia, com ênfase em Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos. Atuando principalmente nos seguintes temas: modelos mistos, BLUP, componentes de variância, REML, avaliação genética e simulação. Atuará no projeto assessorando os pesquisadores na montagem dos experimentos, delineamentos experimentais e nas análises estatística.

**Prof. Dr. Antonio José Palangana**, é Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1-D (<http://lattes.cnpq.br/9326586141852190>) possui graduação em Física pela Universidade Estadual de Maringá (1976), mestrado em Física pela Universidade Federal de Santa Catarina (1982) e doutorado em Física pela Universidade de São Paulo (1991). Atualmente é Professor Associado da Universidade Estadual de Maringá. Atuando principalmente nos seguintes temas: Transição de Fase, Ponto Tricrítico, Calor Latente. No Núcleo o pesquisador da física terá um papel fundamental nas análises de textura, determinação da densidade e ponto de fusão da manteiga e do leite, considerando a mudança significativa no perfil de ácidos graxos na manteiga.

**Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes** possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1992), mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (1996) e doutorado em Agronomia (Energia na Agricultura) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1999). Pelo currículo Lattes (<http://lattes.cnpq.br/3362104483832351>) pode-se constatar a experiência da pesquisadora. Atualmente é Professor Adjunto da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Tem experiência na área de Engenharia Sanitária, com ênfase em Tratamento de Águas de Abastecimento e Residuárias. Atuando principalmente nos seguintes temas: manipueira, *geotrichum fragrans*, reuso de resíduo, compostos voláteis, resíduo líquido da indústria processadora de mandi. A atuação da Professora Simone no Núcleo será no auxílio da correta utilização dos resíduos orgânicos oriundos da criação dos animais confinados para a adubação das pastagens.

**O Prof. Dr. Arildo José Braz de Oliveira** possui graduação em Farmácia Bioquímica pela Universidade Estadual de Maringá (1987), mestrado em Química pela Universidade Estadual de Campinas (1994) e doutorado em Química pela Universidade Estadual de Campinas (1999). Atualmente é Professor adjunto da Universidade Estadual de Maringá. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Química Orgânica. Atuando principalmente nos seguintes temas: Cromatografia gasosa, alcalóides, biotecnologia, produtos naturais, *Aspidosperma* e *Apocynaceae*. No projeto a atuação do professor Arildo será nas pesquisas envolvendo as análises de cromatografia gasosa dos ácidos graxos e HPLC para a determinação dos antioxidantes. Seu Lattes pode ser acessado através do endereço abaixo descrito: <http://lattes.cnpq.br/6144698925624538>.

**O Prof. Dr. Elias Nunes Martins** possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (1977), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1982) e doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1994). Atualmente é Professor associado da Universidade Estadual de Maringá e Membro da Equipe Técnica do GENEPLUS - Programa do Centro Nacional de Gado de Corte Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos. Atuando principalmente nos seguintes temas: modelos mistos, BLUP, componentes de variância, REML, avaliação genética e simulação. O Prof. Dr. Elias é bolsista Produtividade em

Pesquisa 1-B no CNPq. No projeto a participação do Prof. Elias vai ser fundamental para as análises estatísticas dos dados.

**A Dra. Hélène V. Petit** é Doutora pela Universidade de Laval, Quebec, Canadá. Trabalha em pesquisa no Centre de Recherche et Développement sur le Bovin laitère et le Porc de l'Agriculture et Agro-alimentaire Canada (currículo no site: <http://www.nupel.uem.br/pos-ppz/helen.pdf> ). O papel da Dra. Hélène no projeto vai ser na montagem dos experimentos, em algumas análises laboratoriais, na recepção de estagiários em pós-doutoramento no Canadá, bem como na participação em seminários a ser organizado pelo Núcleo em Maringá.

## RELAÇÃO NOMINAL DOS DEMAIS PARTICIPANTES

### ESTUDANTES\*

Nome	Qualificação	Instituição	Característica
Daniele Cristina da Silva	Doutoranda	UEM	Sede
Sabrina Marcantonio Coneglian	Doutoranda	UEM	Sede
Valter Harry Bumbieris Jr.	Doutorando	UEM	Sede
Elisângela Fumagali	Doutoranda	UEM	Sede
Carolina Antunes Neves	Doutoranda	UEM	Sede
Anderson Reginaldo Sampaio	Doutorando	UEM	Sede
Wallacy B. R. dos Santos	Mestrando	UEM	Sede
Rodrigo de Souza	Mestrando	UEM	Sede
Anselmo Bondmuller Filho	Mestrando	UEM	Sede
Francilaine Eloise de Marchi	Iniciação Científica	UEM	Sede
Raphael Fernando Vicente Barbosa	Iniciação Científica	UEM	Sede
Rafael da Silva Boeira	Iniciação Científica	UEM	Sede
Bruna Nunes Marsiglio	Iniciação Científica	UEM	Sede
Valéria Rodrigues Celloto	Iniciação Científica	UEM	Sede
Fábio Seiji dos Santos	Graduação em Zootecnia	UEM	Sede
Ana Carolina de Aguiar	Graduação em Engenharia de Alimento	UEM	Sede

\* Serão envolvidos mais quatro alunos do Mestrado que serão selecionados ainda este ano e que serão incorporados a partir da matrícula em fevereiro de 2006.

## TÉCNICOS

Nome	Qualificação	Instituição	Característica
Vicente Mendes Faleiros	Técnico de nível médio	UEM	Sede/FEI
Cleuza Maria Volpato	Técnica de Laboratório (Química)	UEM	Sede/Laboratorio
Amauri da Silveira	Méd. Vet. e Zootecnista	UEM	Sede/FEI
Hermógenes Augusto de C. Neto	Técnico Agrícola	UEM	Sede/FEI
Antonio Silvério	Auxiliar de campo	UEM	Sede/FEI
Luiz Casare	Auxiliar de Campo	UEM	Sede/FEI
Dilma Figueiredo Botter	Técnica de Laboratório	UEM	Sede/FEI

**b) Vínculo permanente com instituição pública ou privada de ensino superior e/ou pesquisa sem fins lucrativos, devendo o Coordenador estar vinculado à instituição-sede:**

Todos os participantes do Núcleo têm vínculo permanente com instituição pública de ensino superior. O coordenador é vinculado à instituição-sede que é a UEM.

**c) Qualidade e regularidade da produção científica**

A produção científica do Coordenador do Núcleo e dos pesquisadores principais pode ser visualizada nos currículos Lattes anexos a esta proposta. Pode-se constatar que todos têm mantidos regularidade da produção científica, pois têm conseguido renovar suas bolsas produtividade em pesquisa.

Tipo de Produção	2003/04	2004/05	2005/06	Total
Artigos em revista A-I	30	24	22	76
Artigos em revista A-N	8	19	19	46
Livros/Anais	1	2	3	6
Capítulo de Livro/Anais	4	4	3	12
Orientação concluída – Mestrado	11	12	17	40
Doutorado	5	5	7	17
Iniciação Científica				14
Apoio Técnico	5	2	5	12
Trabalho de Graduação	5	7	6	18
Orientação em andamento				
Mestrado	-	-	24	24
Doutorado	-	-	11	11

**d) Experiência prévia na formação de pesquisadores**

A experiência em formação de pesquisadores é uma realidade entre todos os membros do Núcleo. Nos últimos 3 anos foram formados 40 mestres e 17 doutores orientados pelos membros do Núcleo. Estas informações constam do Lattes de todos os participantes.

**e) Experiência de intercâmbio com instituições e pesquisadores do Brasil e de outros países:**

A experiência de intercâmbios com instituições e pesquisadores do Brasil e de outros países pode ser visto pelos convênios e relações estabelecidas tanto no Brasil: Embrapa – Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, através dos pesquisadores Dr. Duarte Vilela e Dr. Firmino Deresz e ESALQ-USP, Piracicaba, SP, através dos Prof. Dr. Dante Pazzanese Duarte Lanna e Prof. Dr. Flávio Portela dos Santos e no Exterior: França com A ENSAR-Rennes, na pessoa do Prof. Dr. Jean-François Grongnet, INRA-Clermont-Ferrand, na pessoa dos pesquisadores Dr. Benoit e Dra. Sophie Prache, Uruguai com a Prof. Dra. Laura Astigarra da Universidade da República do Uruguai em Montevideu e com o Canadá, na pessoa da Dra. Hélène V. Petit, pesquisadora do *Centre de Recherche et Développement sur le Bovin Laitière et le Porc d'Agriculture et Agro-Alimentaire Canada* em Lennoxville, Qc.

**f) Capacidade já demonstrada de formar Grupos de Pesquisas e executar projetos:**

O Núcleo tem contribuído não só para consolidar os três Grupos de Pesquisas existentes (1. Produção de Ruminantes, 2. Ruminantes e Meio Ambiente e 3. Silagem-Feno) como de ajudar na constituição de novos grupos através dos egressos do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, junto ao qual a maioria dos participantes deste grupo vem atuando.

**Sobre a equipe Técnica de Apoio:****a) Qualificação dos técnicos de apoio:**

A Equipe Técnica de Apoio é constituída pelos Técnicos de Laboratórios, Médicos Veterinários de campo e Zootecnistas e técnicos e auxiliares do Sistema de produção de leite de Iguatemi, onde temos o complexo de produção e industrialização do leite.

Na Tabela abaixo é apresentado a distribuição da equipe de apoio em função da atividade exercida no Núcleo, como uma das contrapartidas no projeto.

Nome	Formação Profissional	Tipo de Apoio ao Núcleo
Amauri da Silveira	Gerente Administrativo da FEI: Zootecnista/Méd. Vet.	Assistência Técnica na sanidade e no gerenciamento do Complexo do Sistema de Produção de Leite
Vicente Mendes Faleiros	Técnico de Nível Médio	Manejo geral do Rebanho, IA das matrizes e ordenha mecânica das vacas, auxílio na condução das pesquisas de campo
Antonio Silverio Sobrinho	Auxiliar de campo	Manejo e alimentação das vacas, bezerras e novilhas. Ordenha e Manejo sanitário, auxílio na condução das pesquisas de campo
Luiz Cazare	Auxiliar de Campo	Manejo e alimentação das vacas, bezerras e novilhas. Ordenha e Manejo sanitário, auxílio na condução das pesquisas de campo
Dudu	Auxiliar de Laboratório	Atua na Usina de Pasteurização de leite

Cleuza Volpato	Técnica de Nível Superior (Química)	Responsável pelo Laboratório de Nutrição e Alimentação do DZO
Dilma Figueiredo Botter	Auxiliar Técnica	Auxilia no Laboratório de Nutrição e Alimentação do DZO
Hermógenes Augusto de Camargo Neto	Técnico Agrícola	Auxílio na condução das pesquisas de campo
Mestrando	Graduação em Ciências Agrárias	auxílio na condução das pesquisas de campo, na redação das publicação
Doutorando	Graduação + Mestrado	auxílio na condução das pesquisas de campo, na redação das publicação
Bolsas AT	Graduação em Ciências Agrárias	Manejo e alimentação das vacas, bezerras e novilhas. Ordenha e Manejo sanitário, auxílio na condução das pesquisas de campo
IC	Graduando em Ciências Agrárias	Manejo e alimentação das vacas, bezerras e novilhas. Ordenha e Manejo sanitário, auxílio na condução das pesquisas de campo

#### b) Nível e fonte de financiamento dos estudantes e estagiários

Os estudantes e estagiários que participarão deste projeto são, principalmente, os alunos da graduação em Zootecnia da UEM e **da pós-graduação em Zootecnia, curso com conceito 6 na CAPES, alias o único curso com este conceito na Ciências Agrárias no Sul do Brasil** e detém uma cota de 50 bolsas entre as instituições CAPES e CNPq. Os estudantes de graduação, alguns já possuem bolsas de iniciação científica do PIBIC e de Apoio Técnico.

#### c) Perfil de pessoal a ser eventualmente recrutado para o Núcleo

Como demonstração de capacidade de condução da proposta, relacionamos a seguir algumas publicações que comprovam nosso potencial produtivo do Núcleo:

NEVES, Carolina Antunes; **SANTOS, G. T.**; MATSUSHITA, Makoto; PETIT, Helene V.; ALVES, Elói M.; OLIVEIRA, Ronaldo Lopes; BRANCO, Antônio Ferriani; SILVA, Daniele Cristina da. Intake, digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, Holanda, v. Prelo, 2006.

MAIA, Fabio José; BRANCO, Antônio Ferriani; MOURO, Gisele Fernanda; CONEGLIAN, Sabrina Marcantonio; **SANTOS, G.T.**; MINELLA, Tathiane Fernanda; MACEDO, Francisco Assis Fonseca de . Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 1496-1503, 2006.

MAIA, Fábio José; BRANCO, Antonio Feriani; MOURO, Gisele Fernanda; CONEGLIAN, Sabrina Marcantonio; **SANTOS, G.T.**; MINELLA, Tathiane Fernanda; GUIMARÃES, Kátia Cylyene. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 1504-1513, 2006.

REGO, Fabíola Cristine de Almeida; DAMASCENO, Júlio Cesar; MARTINS, Elias Nunes; CÔRTEZ, Cristiano; FUKUMOTO, Nelson Massaru; ROEHSIG, Lauri; **SANTOS, G.T.**. Influência de variáveis químicas e estruturais do dossel sobre a taxa de ingestão instantânea em bovinos manejados em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 691-698, 2006.

MODESTO, Elisa Cristina; **SANTOS, G.T.**; JOBIM, Clóves Cabreira; CECATO, Ulysses; SILVA, Daniele Cristina da; ZOMBOM, Maximiliane Alavarse. Inclusão de silagem de rema de mandioca na alimentação de vacas em lactação, mantidas em pasto de cynodon: consumo e digestibilidade. **Acta Scientiarum**, Maringá, PR., v. 28, n. 3, p. 127-135, 2006.

JOBIM, Clóves Cabreira; SARTI, L.L.; **SANTOS, G.T.**, BRANCO, A.F. Viabilidade econômica do uso da silagem de capim elefante em substituição a silagem de milho para vaca Holandesa. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 28, n. 2, p.137-143, 2006.

CAVALIERI, Fabio Luiz Bim; **SANTOS, G.T.**; MATSUSHITA, Makoto; PETIT, Helene V.; RIGOLON, Luiz Paulo; SILVA, Daniele Cristina da; HORST, José Augusto; RAMOS, Fabíola dos Santos. Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100 or whole flaxseed. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, Canadá, v. 85, p. 413-416, 2005.

CÔRTEZ, Cristiano; DAMASCENO, Júlio Cesar; FUKUMOTO, Nelson Massaru; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; **SANTOS, G.T.**; ALCALDE, Claudete Regina. Potencial discriminatório dos N-alcanos em cinco plantas forrageiras de clima tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science**, Viçosa - MG, v. 34, n. 4, p. 1079-1087, 2005.

FERREIRA, Geane Dias Gonçalves; **SANTOS, G.T.**; CECATO, Ulysses; CARDOSO, Elyzabeth da Cruz. Composição Química e Cinética da Degradação Ruminal de Gramíneas do Gênero Cynodon em Diferentes Idades ao Corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, Pr., v. 27, n. 2, p. 189-197, 2005.

ZAMBOM, Maximiliane Alavarse; ALCALDE, Claudete Regina; MARTINS, Elias Nunes; **SANTOS, G.T.**; MACEDO, Francisco de Assis Fonseca de; HORST, José Augusto; VEIGA, Darcy Rodrigues da. Curva de lactação e qualidade do leite de cabras Saanen recebendo rações com diferentes relações volumoso: Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2515-2521, 2005.

ZOMBOM, Maximiliane Alavarse; ALCALDE, Claudete Regina; SILVA, Karina Toledo da; MACEDO, Francisco de Assis Fonseca de; **SANTOS, G.T.**; BORGHI, Everton Luiz; BARBOSA, Eder Dias. Ingestão, Digestibilidade das rações e produção de leite em cabras Saanen submetidas a diferentes relações Volumoso: concentrado na ração. **Revista**

**Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2505-2514, 2005.

TORII, M.S.; DAMASCENO, Júlio César; RIBEIRO, L.R.; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; **SANTOS, G.T.**; MATSUSHITA, Makoto; FUKUMOTO, Nelson Massaru. Physical-chemical characteristics and fatty acids composition in dairy goat milk in response to roughage diet. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba - PR, v. 47, n. 6, p. 903-909, 2004.

**SANTOS, G. T.**; GONCALVES, G.D.; DAMASCENO, Julio Cesar; CHIQUITELLI NETO, M.; PORTO, Petrônio Pinheiro. Efeito dos tratamentos com autoclave e/ou ácido tânico na degradabilidade in situ e digestibilidade in vitro de grãos de canola. **Acta Scientiarum**, Maringá, PR, v. 26, n. 4, p. 507-512, 2004.

SOUZA, Lucimar Gonçalves de; **SANTOS, G.T.**; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; DAMASCENO, Julio Cesar; MATSUSHITA, Makoto; HORST, José Augusto; VILLALBA, R. G. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios da região Norte e Noroeste do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá - PR, v. 26, n. 1, p. 259-264, 2004.

BARBOSA, O.R.; ZEOULA, Lúcia Maria; ALCALDE, C.R.; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; **SANTOS, G.T.**; RIBAS, Newton Phol; ALVES, Alexandre Santos; DIAS, Fernando José dos Santos. Efeito do balanço cátion-aniónico dieta, na produção de leite e nas respostas fisiológicas de vacas holandesa em ambiente quente. **Acta Scientiarum**, Maringá, Pr., v. 26, n. 1, p. 109-114, 2004.

BARBOSA, O. R.; ZEOULA, Lúcia Maria; ALCALDE, Claudete Regina; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; **SANTOS, G.T.**; RIBAS, Newton Phol; ALVES, Alexandre Santos; DIAS, Fernando José dos Santos; GIACOMELLI, Luís Roberto B. Efeito do balanço cátion-aniónico da dieta, no equilíbrio ácido-básico e metabolismo de minerais para vacas Holandesa lactantes em ambiente quente. **Acta Scientiarum**, Maringá - PR, v. 26, n. 1, p. 103-107, 2004.

BARBOSA, O.R.; BOZA, Priscila Ribeiro; **SANTOS, G.T.**; SAKAGUTI, Eduardo Shiguero; RIBAS, Newton Pohl. Efeitos da sobra e da aspersão de água na produção de leite de vaca Holandesa durante o verão. **Acta Scientiarum**, Maringá - PR, v. 26, n. 1, p. 115-122, 2004.

SILVA, Daniele Cristina da; **SANTOS, G.T.**; KAZAMA, Ricardo; FAUTINO, Josiane Oliveira; ZOMBOM, Maximiliane Alavarse; BRANCO, Antônio Ferriani. Digestibilidade in vitro e degradabilidade in situ da casca do grão de soja, resíduo de soja e casca de algodão. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá (PR), v. 26, n. 4, p. 501-506, 2004.

GONÇALVES, G.D.; **SANTOS, G.T.**; JOBIM, Cloves Cabreira; DAMASCENO, Júlio César; CECATO, Ulysses; BRANCO, Antonio Ferriani. Determinação do consumo, digestibilidade e frações protéicas e de carboidratos do feno de Tifton 85 em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - MG, v. 32, n. 4, p. 804-813, 2003.

SILVA, D.C.; **SANTOS, G.T.**; BRANCO, A.F; DAMASCENO, J.C.; KAZAMA, R.; MATSUSHITA, M.; HORST, J.A.; SANTOS, W.B.R.; PETIT, H. Milk Production and

Composition, Intake, Digestion, Blood Composition, and Fatty Acid Profile of Milk of Dairy Cows Fed Whole or Ground Flaxseed With or Without Monensin<sup>1,2</sup>. **Journal of Dairy Science**, Champaign, EUA, (encaminhado). 2006.

CAVALIERI, Fabio Luiz Bim; **SANTOS, G.T.**; SILVA, Daniele Cristina da; RIGOLON, Luiz Paulo; DAMASCENO, Júlio Cesar; RAMOS, Fabíola dos Santos; CAPOVILLA, Luiz Carlos; PETIT, Hélène V. Efeito de duas fontes de gordura (Lac100 ou Grãos de Linhaça) na dieta sobre a digestibilidade e concentração sanguínea de alguns metabólicos na vaca leiteira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. (enviado), 2006.

FUKUMOTO, Nelson Massaru; DAMASCENO, Júlio Cesar; PAINE, Rafael Cesário; QUEIROZ, Maria Fernanda Soares; **SANTOS, G.T.**. Uso de n-alcanos para estimar o de consumo e a digestibilidade da matéria seca em ovinos. **Revista Brasileira Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science**, Viçosa, MG, v. encam, 2006.

## PROJETO DE PESQUISA:

# MODULAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE E DERIVADOS ATRAVÉS DO FORNECIMENTO DE GRÃOS RICOS EM ÓLEOS POLIINSATURADOS

## Estado Atual de Conhecimento no Domínio da Pesquisa

### O Porquê de Aumentar as Concentrações de Ácidos Graxos Nobres

A gordura do leite tem em sua composição ácidos graxos de cadeia curta e média (4 a 14 carbonos), sintetizados a partir de ácidos graxos produzidos no rúmen e ácidos graxos de cadeia longa (16 a 20 carbonos), que derivam da absorção da gordura intestinal ou de reservas de gordura acumuladas e mobilizadas (Santos, 2002). Apresenta ainda, 70% de ácidos graxos saturados, 25% de ácidos graxos insaturados e 5% de ácidos graxos poliinsaturados em média (Grummer, 1991).

A melhoria da qualidade do leite bovino tem sido objetivo de muitos estudos visando ao aumento da concentração dos ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados com propósitos econômicos e de saúde (Delbecchi *et al.*, 2001; Neves *et al.*, 2006). O principal aspecto que afeta a composição de ácidos graxos exógenos disponíveis para a glândula mamária é a biohidrogenação promovida por algumas bactérias ruminais, sendo esta um obstáculo ao fornecimento de ácidos graxos insaturados para a deposição no tecido adiposo ou incorporação pela glândula mamária, conseqüentemente, incorporação destes ácidos graxos no leite e derivados (Medeiros, 2002). Em dietas convencionais, quase todo 18:2 e 18:3 são biohidrogenados. Em média, 80% do linoléico e 92% do linolênico são saturados devido a biohidrogenação (Modesto *et al.*, 2002).

Em uma alimentação saudável preconiza-se a ingestão de mais ácidos graxos poliinsaturados, ômega 3 (ácido linolênico) e CLA (ácido linoléico conjugado) que são associados à diminuição de doenças coronárias e possuem ainda efeitos anticarcinogênicos (Modesto *et al.*, 2002).

O ômega 3, ácido linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) é precursor da síntese do ácido linoléico conjugado (CLA) durante a biohidrogenação ruminal incompleta (Harfoot & Hazlewood, 1988).

O ácido linoléico conjugado (CLA) representa uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido octadecadienóico com duplas ligações conjugadas que se encontram em alta concentração nos alimentos derivados dos animais ruminantes (Modesto *et al.*, 2002), sendo o isômero *cis* 9, *trans* 11 – C18:2 o mais abundante (85%) (Parodi, 1999). O CLA é formado durante a biohidrogenação ruminal incompleta do ácido linolênico e/ou formado na glândula mamária a partir do C18:1 *trans*11, um outro intermediário da biohidrogenação incompleta dos ácidos graxos insaturados no rúmen.

O maior consumo de ácidos graxos poliinsaturados seria possível com o aumento das concentrações destes compostos em alimentos ingeridos pela população, como o leite e a manteiga, tornando-os nutracêuticos, com propriedades medicinais.

Porém, a adição de ácidos graxos poliinsaturados na dieta de animais, não é garantia de que apareçam na carne ou leite. Isso porque, em animais ruminantes, ocorre a biohidrogenação destes ácidos graxos pelos microrganismos do rúmen, sendo à parte glicerol fermentada em ácido propiônico e os ácidos graxos insaturados hidrogenados a ácidos graxos saturados (Medeiros, 2002).

Para que estes ácidos graxos poliinsaturados sejam incorporados ao leite, a biohidrogenação deve ser evitada com o uso de métodos de proteção dos ácidos graxos no rúmen, seja através do fornecimento de grãos inteiros de oleaginosas com lenta liberação da gordura, ou tratamento térmico (físico) e/ou químico alterando a ação dos microrganismos ruminais responsáveis pela biohidrogenação. De acordo com Santos (2002) a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen pode acontecer de uma forma incompleta, existindo um acúmulo de C18:2 *cis*9 *trans*12 (Ácido linoléico conjugado - CLA) e ou C18:1 *trans*11, o que pode aumentar a absorção intestinal dos mesmos, e por sua vez, a sua incorporação na gordura do leite.

### **Limitação Tecnológica**

A biohidrogenação é um ato de defesa natural dos microrganismos do rúmen, contra as gorduras insaturadas que lhes são tóxicas. Portanto, uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados na dieta prejudica a degradação da fibra, pois os ácidos graxos insaturados reagem com as membranas celulares das bactérias, principalmente as gram-positivas, fibrolíticas, afetando a integridade da barreira seletiva (Jenkins, 1993).

### **Soluções Tecnológicas**

Há vários métodos de proteção dos ácidos graxos de forma a evitar a disponibilidade às bactérias ruminais e conseqüentemente minimizar a biohidrogenação ruminal. Dentre os métodos há destaque para o uso da extrusão, peletização, tratamento com formaldeído, lignosulfonato, sais de cálcio, misturas de gordura de origem vegetal e animal, ou ainda a utilização de grãos inteiros de oleaginosas (Ashes *et al.*, 1997; Petit, 2002; Cavalieri *et al.*, 2005; Neves *et al.*, 2006). Além dos efeitos sobre os ácidos graxos, pesquisas têm demonstrado efeitos positivos de métodos de processamento de alimentos na utilização de outros nutrientes, em termos de teor e aproveitamento dos nutrientes, com respostas na produção e composição do leite, principalmente no que se refere à proteína (Whitlock *et al.*, 2002).

Segundo Windschitl (1988), o lignosulfonato é um produto extraído do processamento da madeira e contém uma variedade de açúcares da madeira, principalmente a xilose. Este produto atua diminuindo a degradação ruminal da proteína dos grãos, pois atua protegendo a proteína verdadeira (proteína do grão) da ação dos microrganismos ruminais.

A extrusão é um processo de cozimento sob pressão, umidade e elevadas temperaturas. Várias funções podem ser provindas da extrusão incluindo moagem, hidratação, mistura, tratamento térmico, gelatinização, desnaturação protéica, destruição de microrganismos e outros componentes tóxicos, expansão, alteração da textura e desidratação parcial (Chang e Wang, 1998). A tecnologia da extrusão é considerada como uma das mais promissoras tecnologias para o processamento de ingredientes assim como de alimentos a fim de aumentar a digestibilidade dos alimentos.

O tratamento térmico é um método amplamente pesquisado no intuito de reduzir a degradabilidade ruminal de fontes protéicas rapidamente degradáveis, tais como o grão de canola e o de soja (Loyola *et al.*, 1999).

Os ionóforos têm sido amplamente utilizados na nutrição de bovino para melhorar a eficiência da utilização de energia. São antibióticos que inibem particularmente as bactérias gram-positivas. O ionóforo mais utilizado na alimentação animal é a monensina. Trata-se de um poliéter carboxílico que se liga a íons metálicos e os carrega através da membrana (Pressman, 1976). Em geral, o metabolismo de seleção de microrganismos favorece o animal hospedeiro. O metabolismo de energia é melhorado através do

aumento da produção de propionato entre ácidos graxos ruminais com uma concomitante redução no metano. As digestibilidades da matéria seca e do nitrogênio são aumentadas (McGuffey et al., 2001). Em virtude da ação destes compostos no metabolismo ruminal, investigações sobre os efeitos no perfil dos ácidos graxos poliinsaturados no leite deveriam ser investigadas.

### **Fontes Ácidos Graxos Poliinsaturados e Antioxidantes**

A linhaça é uma das oleaginosas cujo óleo é rico em ácido graxo ômega 3 (53% do total de ácidos graxos) (NRC, 2001), e por estar na forma de grão, estaria protegida da biohidrogenação da sua gordura, podendo ser fornecida em dietas de vacas leiteiras objetivando um aumento deste ácido graxo no leite (Cavalieri, 2003). Além disso, apresentando a linhaça 32% de gordura com 60% dos ácidos graxos considerados poliinsaturados, poderia aumentar a concentração de CLA no leite dos animais durante a biohidrogenação do mesmo até o ácido graxo C 18:1 *trans11* (Ward et al., 2002). Este é responsável pela diminuição do teor de gordura do leite através da queda na atividade das enzimas lipogênicas bem como na inibição da transcrição do gene para a enzima acetil CoA carboxilase (Piperova et al., 1998; Santos, 2002).

Na nutrição humana, aumento no consumo de linhaça está associado com diminuição da incidência de doenças cardiovasculares, câncer de mama e próstata, osteoporose e sintomas de menopausa. Uma boa evidência destes fatos estabelecidos é o baixo índice de doenças que ocorrem em populações do oriente que consomem dietas tradicionais contendo produtos a base de planta como produtos da soja, comparados as dietas consumidas pelas populações do ocidente. Os efeitos benéficos da linhaça são parcialmente mediados pelo precursor de ligantes de mamíferos, o secoisolariciresinol diglicosídeo (SDG), o qual é bastante elevado em linhaça. A maioria dos ligantes dos mamíferos são a enterolactona (EL) e enterodiol (ED) (Setchell et al. 1980, Setchell et al. 1981). Eles são produzidos a partir das plantas da dieta e são precursores de ligantes, através da ação da microflora, que são subseqüentemente absorvidos para o sangue (Borriello et al. 1985). Em adição aos efeitos para a saúde, SDG e seus metabólitos dos ligantes de mamíferos tem uma grande atividade antioxidante (Kitts et al. 1999). Essa propriedade é bem conhecida como uma evidência de um potente mecanismo anticarcinogênico. Ligantes são bem conhecidos em ter muitos efeitos benéficos na saúde humana como os isoflavonóides encontrados na soja.

Infelizmente, precursores de ligantes de mamíferos ainda não são comercialmente disponíveis em mercados e a linhaça não é geralmente consumida na América do Norte; embora, uma excelente estratégia em aumentar a ingestão de ligantes seria através do leite de vacas alimentadas com linhaça. Resultados mostram que há um aumento linear de concentração de enterolactona no leite com grandes concentrações de farelo de linhaça na dieta (Petit et al., 2005). Embora, a concentração de ligantes é maior na porção da casca (2,4 to 4,0% da MS) que na semente inteira (1,06% da MS). Se nossos resultados demonstrar que é possível aumentar a concentração de enterolactona no leite e diminuir a incidência da oxidação do leite, poderia ser uma ferramenta muito válida e “natural” para prevenir a auto-oxidação lipídica do leite. Desta forma, o leite de vacas alimentadas com suplementos ricos em PUFA (como a linhaça e fontes de PUFA protegidos do rúmen), geraria um novo produto com valor agregado.

Canola (*Brassica napus* L.) é uma sigla canadense para “*canadian oil low acid*”. É considerado um alimento protéico, 23 a 25,5% de proteína bruta na MS (Andrade, 1994), possui altos teores de óleo, 30 a 50% (Baier e Roman, 1992) e possui altos teores de ácidos graxos insaturados, como o oléico, linoléico e linolênico. O ácido oléico representa 60% do total de ácidos graxos (Ashes et al., 1992).

O alto teor de energia e proteína no grão de canola faz com esta oleaginosa seja uma ótima fonte nutricional para o ruminante, entretanto, o grão possui uma cápsula rígida que impede que a semente seja bem digerida, a menos, que o grão seja quebrado. Contudo, neste caso, o grão é rapidamente degradado no rúmen. Desta forma, o estudo de métodos que fracione o grão de canola e reduza a taxa de degradabilidade ruminal são de extrema importância para maximizar o valor nutricional do grão de canola (Wang *et al.*, 1999).

O alto teor de proteína no grão de canola faz com esta oleaginosa seja uma ótima fonte nutricional para ruminante, entretanto, o grão possui uma cápsula rígida, sendo está responsável para que a semente seja pouco digerida, a menos, que o grão seja quebrado. Contudo, neste caso, o grão é rapidamente degradado no rúmen. Desta forma, o estudo de métodos que fracione o grão de canola é de extrema importância para maximizar o valor nutricional do grão de canola (Wang *et al.*, 1999).

O girassol (*Helianthus annuus*, L.) tem origem nas Américas, na região sudoeste dos Estados Unidos e Norte do México, na seqüência ganhou a Europa onde teve um maior desenvolvimento na antiga União Soviética (Silva, 1990). O seu cultivo foi inicialmente para o consumo humano do grão ou semente. Mas foi após a segunda Guerra Mundial que houve um maior incremento da utilização do grão tanto na alimentação humana como animal. No Brasil, a cultura do girassol encontra amplas condições de desenvolvimento, devido às boas condições de solo e de clima, que abrange de Norte a Sul do País (Montovani-Bett, 1999). O teor de energia do grão de girassol é elevado variando de 3.691 a 5.004 kcal de EM/kg. O teor em proteína bruta varia de 16 a 20,6%, e os teores de lisina de 0,56 a 0,66% e metionina de 0,33 a 0,50% (Kashani & Carlson, 1988; Karunojeewa *et al.*, 1989; Cheva-Isarakul & Tangtaweewipat, 1990; Patiente *et al.*, 1995). O teor de fibra bruta gira em torno de 14% (Kashani & Carlson, 1988; Karunojeewa *et al.*, 1989; Cheva-Isarakul & Tangtaweewipat, 1990; Patiente *et al.*, 1995). O teor de óleo do girassol varia de acordo com o cultivar, entre 20 e 45% (Daghir *et al.*, 1980; Kashani & Carlson, 1988; Silva, 1990; Patience *et al.*, 1995). O grão de girassol é rico em ácidos graxos poliinsaturados, principalmente o ácido graxo linoléico, C18:2 (65,2%). É o óleo vegetal que tem maior conteúdo deste ácido, vindo em seguida soja (53,3%), milho (46,2%), arroz (36,6%), canola (21,4%) e oliva (11,1%) (Rossi, 1998).

O alto teor de energia e proteína no grão de girassol faz com que esta oleaginosa seja uma ótima fonte nutricional para o ruminante. Entretanto, o grão inteiro possivelmente apresenta-se como uma forma de proteção contra a biohidrogenação impedindo o ataque das bactérias no rúmen. Quando quebrado ou moído o grão de girassol é rapidamente degradado no rúmen e os ácidos graxos são mais facilmente biohidrogenados. Desta forma, estudos visando à diminuição da biohidrogenação ruminal e reduções da taxa de degradabilidade ruminal dos ácidos graxos e da proteína são de extrema importância para maximizar o valor nutricional do grão de girassol.

### **A Questão da Proteína**

Em ruminantes, o aporte de aminoácidos no duodeno é originário da proteína microbiana sintetizada no rúmen, da proteína que não foi degradada no rúmen e da proteína endógena (Rennó *et al.*, 2000).

A proteína microbiana constitui, geralmente, uma proporção considerável do fluxo duodenal de nitrogênio (N) aminoacídico nos ruminantes, podendo representar entre 40 a 90% dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado (Sniffen e Robinson, 1987), atingindo 100% em determinadas situações (Stern *et al.*, 1994; NRC, 1996), demonstrando a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica microbiana e

dos fatores a eles relacionados (Nocek e Russel, 1998). Então, a determinação da contribuição da proteína microbiana para o animal é importante e a sua estimativa está incorporada aos sistemas de avaliação de proteína adotados em diversos países.

Considerando que o objetivo básico dos estudos de alimentação de ruminantes é maximizar a síntese de proteína microbiana, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho e Valadares, 2001), torna-se de fundamental importância o estudo de métodos para se estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida, rotineira e não invasivo.

As pesquisas, ao longo dos últimos anos confirmam a relação entre produção de proteína microbiana e excreção de derivados de purinas (Perez et al., 1996).

Além da utilização do método não invasivo para medir a produção de proteína microbiana, utilizando coletas de urina com duração de 24 horas, outro grande avanço é a possibilidade de se estimar o volume urinário com uma única amostra de urina, denominada urina “spot”, geralmente obtida 4 horas após a alimentação, conforme descrito por Valadares et al. (1999).

A estimativa do volume urinário de 24 horas obtida a partir de amostra spot baseia-se na relativa constância de excreção de creatinina descrita por Palmer et al. (1914), citados por Ørskov e Macleod (1982).

A excreção de creatinina é relativamente constante em função do peso vivo pelo fato de ser pouco ou não afetada por fatores dietéticos. Essa determinação torna possível a simplificação de métodos que requerem a coleta total de urina. Utilizando-se a concentração de creatinina na urina como indicador da produção urinária, pode-se estimar a excreção de derivados de purina e outros compostos nitrogenados (Susmel et al., 1994; Chen et al., 1995; Vagnoni et al., 1997; Rennó et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2001; Rennó et al., 2003).

### **Sistemas de Produção: Base Silagem de Milho e Base Forrageiras Tropicais**

Embora exista uma diversidade importante de estratégias de alimentação de vacas leiteiras em sistemas de produção de leite no Brasil, pode-se assumir que há dois grandes grupos de estratégias: a) sistemas baseados em forragens conservadas, notadamente silagem de milho, como base forrageira; b) sistemas baseados nas pastagens como base forrageira, destacando-se pastagens do gênero *Cynodon* (Roehsig, 2005).

O uso da silagem de milho se dá em sistemas de produção em que há um forte compromisso com o projeto de produção de leite e condição corporal dos animais; normalmente utilizam-se animais de elevado potencial de produção, confinados, com importante participação de concentrado na alimentação dos animais (Roehsig, 2005). A silagem tem sido muito utilizada, também, para reduzir a sazonalidade de oferta de forragens para as vacas em sistemas de produção a pasto (Ruiz & Munari, 1992; Evangelista & Lima, 2001).

A pecuária bovina no Brasil tem nas pastagens o seu maior suporte na alimentação para produção de carne e leite. Assim, a utilização adequada de pastagens por rebanhos leiteiros pode diminuir os custos de produção de leite, com redução na utilização de alimentos concentrados, uso de combustíveis, mão-de-obra e investimentos em instalações, isto quando se compara o sistema a pasto com o sistema em confinamento (Hoffman et al., 1993; Vilela et al., 1993; Matos, 1999).

Do ponto de vista da alimentação do rebanho, o pasto é um alimento menos dispendioso (Emmick, 1991). No entanto, os solos destinados à produção de forragem, sejam para corte ou pastejo, na maioria das regiões produtoras de leite, estão degradados e erodidos, sendo necessários investimentos para a recuperação das mesmas em longo prazo. Desta forma, para manter a produção de leite, há a necessidade de se utilizar

suplementos, uma vez que as vacas em lactação não conseguem retirar dessas pastagens, a contribuição adequada para a sua dieta.

Dentre as forrageiras tropicais podemos destacar os cultivares do gênero *Cynodon*, que são caracterizados pela sua alta produção de matéria seca, boas relações lâmina/colmo e alto valor nutritivo (Palhano & Haddad, 1992; Alvim et al., 1998; Gonçalves, 2001). Entretanto, tanto a produção quanto o seu valor nutritivo são afetados pelo estágio de maturidade, efeitos climáticos e qualidade do solo (Van Soest, 1994, Gonçalves, 2001). Segundo Van Soest (1994); Nússio et al. (1998) o avanço da maturidade da planta, causa declínio nos teores de nutrientes digestíveis e aumento na proporção de nutrientes indigestíveis, conseqüentemente menor consumo e digestibilidade da matéria seca (Van Soest, 1994).

### **Hipóteses**

1. É possível melhorar o perfil de ácidos graxos do leite e derivados a partir do fornecimento de grãos de canola, girassol, linhaça e soja como componentes do concentrado de vacas leiteiras;
2. Tratamentos físico e químico destas fontes reduzem a biohidrogenação dos ácidos graxos poliinsaturados no rúmen, melhoram o padrão de degradação da proteína no rúmen, com conseqüente maior aporte de aminoácidos absorvíveis e menor impacto ambiental;
3. O fornecimento de linhaça e grão de soja para vacas leiteiras aumentaria a quantidade de antioxidantes no leite (enterolactona, isoflavonóides), tornando mais estáveis os ácidos graxos poliinsaturados presentes no leite e derivados;
4. As respostas na qualidade do leite e derivados ao fornecimento das fontes de ácidos poliinsaturados variam em função da estratégia de alimentação das vacas: sistema base silagem de milho e sistema base pastagem de *Cynodon*.

### **Objetivos**

1. Modular o perfil de ácidos graxos do leite e derivados tornando-os mais apropriados à saúde Humana;
2. Garantir a estabilidade dos ácidos graxos poliinsaturados do leite e derivados através do aumento de compostos antioxidantes naturais do leite;
3. Definir métodos de tratamentos de grãos e uso de monensina de maneira a reduzir a biohidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados no rúmen, bem como aumentar a eficiência do uso da proteína pelos microrganismos do rúmen e animal hospedeiro, melhorando a performance animal e reduzindo os impactos ambientais;
4. Definir protocolos alimentares para o fornecimento de fontes de ácidos graxos poliinsaturados em sistemas de produção baseados em silagem de milho ou pastagem de *Cynodon*.

### **Material e Métodos comuns a todos os sub-projetos:**

Para a determinação do consumo de matéria seca e nutrientes, diariamente, serão registrados quantidade de alimento oferecido e sobras. Durante o período de coleta, serão feitas amostragens do suplemento fornecido e das sobras, as quais serão acondicionadas em sacos plásticos e guardadas em congelador a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Será feito um pool das amostras de sobras, resultando em uma única amostra por animal por período. Posteriormente, essas amostras serão secas em estufa de ventilação forçada ( $55^{\circ}\text{C} - 72\text{h}$ ), moídas em

peneira com crivo de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, segundo recomendações de Silva & Queiroz (2002), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) segundo metodologia descrita por Van Soest et al. (1991).

### Digestibilidade

Do décimo ao décimo quinto dia do período experimental serão coletadas amostras de fezes, diretamente na ampola retal. A amostragem seguirá a seguinte distribuição: 10º dia (8:00h), 11º dia (10:00h), 12º dia (12:00h), 13º dia (14:00h), 14º dia (16:00h), 15º dia (18:00h). Após secagem em estufa com ventilação forçada (60°C – 72h), as amostras serão processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ar, por animal/período, e armazenadas em frascos de polietileno para posterior análise.

Para estimativas da excreção fecal diária utilizará como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), estimada nas amostras do fornecido, sobras e compostas fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* por 144 h descrita em Cochran et al. (1986) seguindo as equações:

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

$$CFDni = FDNiof - FDNis$$

Em que: EF = excreção fecal (kg/dia); CFDni = consumo de fibra em detergente neutro indigestível (kg); FDNif = fibra em detergente neutro indigestível das fezes (kg/kg); FDNiof = fibra em detergente neutro indigestível do oferecido (kg); FDNis = fibra em detergente neutro indigestível das sobras (kg).

### Degradabilidade da MS e Proteína

As degradabilidades da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) dos alimentos serão estimadas pela técnica *in situ* de saco de náilon segundo Ørskov e McDonald (1979). Sacos de dimensão de 10 x 20 cm com tamanho dos poros de aproximadamente 50,0 ± 15 µm feitos de náilon (ANKOM® - Technology Corporation, 140 Turk Hill Park - Fairport, New York 14450, USA) serão utilizados para incubação no rúmen. As amostras com peso na matéria pré-seca, de aproximadamente 6,0 gramas, serão colocadas em cada um dos sacos, que serão lacrados quente e atados com fio de náilon, presos a uma barra cilíndrica de ferro inox com 540 gramas, que por sua vez, permanecerá durante o período de incubação preso a fístula ruminal por um fio de náilon de 60 cm.

Os grãos de canola dos 4 tratamentos serão incubados no rúmen a 0, 3, 6, 12, 48 e 72 h, sendo todos colocados simultaneamente e removidos de acordo com os tempos. Após rápida lavagem para a remoção do excesso de alimentos aderidos ao saco, estes serão colocados em sacos plásticos, identificados e imediatamente congelados. Após a retirada de todos os sacos, estes serão lavados em água fria em máquina (lava roupas) durante 40 minutos (quatro ciclos), com troca d'água a cada ciclo, juntamente com os sacos contendo a mesma quantidade de amostras representando o tempo 0 hora de incubação. Após a lavagem à máquina, todos os sacos serão secos em estufa, com ventilação forçada de ar, a 55°C por 72 horas.

A percentagem de degradação da MS e PB, em cada tempo, será calculada pela proporção de alimento que permanecerá nos sacos após a incubação no rúmen. A

degradabilidade da MS e PB será calculada utilizando-se a equação descrita por Ørskov e McDonald (1979).

$$p = a + b (1 - e^{-ct})$$

onde  $p$  = taxa de degradação no tempo  $t$ ,  $a$  = fração de MS e PB que é prontamente solúvel no rúmen,  $b$  = fração de MS e PB, potencialmente degradável,  $c$  = taxa constante de degradabilidade da fração  $b$ , e  $t$  = tempo de incubação.

Os parâmetros não lineares  $a$ ,  $b$  e  $c$  serão estimados através de procedimentos iterativos de quadrados mínimos (*iterative least-squares procedure*) (SAS, 1992). A degradabilidade efetiva da MS (DEMS) e da PB (DEPB) no rúmen será calculada usando a seguinte equação de Ørskov e McDonald (1979):

$$\text{DEMS, DEPB} = a + (b \times c)/(c + k)$$

onde  $k$  = taxa estimada de passagem dos sólidos no rúmen. Os demais parâmetros já foram descritos acima.

A degradabilidade efetiva da MS e PB será estimada para cada tratamento levando-se em conta a taxa de passagem de sólidos no rúmen de 2, 5 e 8 %/h (ARC, 1984).

### **Determinação do pH e de Ácidos Graxos Voláteis (AGV) no Líquido de Rúmen**

As amostras de líquido ruminal para a determinação de ácidos graxos voláteis, N-amoniaco e pH serão colhidas antes da alimentação da manhã (0h) e 2, 4, 6 e 8 horas após. O líquido será colhido em diferentes partes do rúmen, com o auxílio de uma bomba de vácuo. O pH será mensurado imediatamente após a coleta. Cinquenta mL de líquido ruminal serão acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico 20%, divididos em dois recipientes de aproximadamente 25 mL cada e armazenados à  $-20$  °C para posterior análise de amônia e de ácidos graxos voláteis.

O pH do líquido ruminal será mensurado O pH do líquido ruminal será mensurado com o auxílio de um potenciômetro digital. As análises quantitativas e qualitativas dos AGV's serão executadas, por cromatografia gasosa, segundo o método de Erwin et al. (1961). A dosagem de amônia será realizada pela técnica de Ferner (1965) modificada por Vieira (1980).

### **Produção, Composição e Qualidade do Leite.**

A produção diária das vacas será anotada durante todo o projeto. Para a análise da composição química e qualidade do leite, serão retiradas amostras de leite compostas (manhã e tarde) de todos os animais, totalizando 6 amostras/animal/período no 6, 7, 8, 15, 16 e 17º dia de cada período, e mantidas em frasco plástico com conservante 2-bromo 2-nitropropano 1-3-diol (bromopol), para posterior análise de extrato seco, PB, gordura, através do analisador infravermelho Bentley-2000 e a contagem de células somáticas pelo aparelho Somacount-500, contagem bacteriana total e uréia no leite, utilizando o analisador infravermelho. Estas análises serão realizadas no Laboratório do Programa de Análises do Rebanho Leiteiro (PARL) da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa. Igualmente, nos mesmos dias de coleta para componentes, outras 6 amostras de leite/período/animal serão coletadas, acondicionadas em frascos plásticos e congeladas a  $-10$ °C para posterior análise do perfil de ácido graxos. Sendo coletadas também, nestes dias, amostras de 6 litros de leite de cada animal para confecção da manteiga.

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

Para confecção da manteiga, o leite permanecerá em geladeira a 4°C por 2 dias para precipitação da gordura, que será retirada e armazenada em potes plásticos. A gordura permanecerá armazenada nos potes plásticos a uma temperatura de  $-10$ °C

durante 5 dias e após será transferida para um copo de liquidificador com um pouco de água gelada e será batida para formação da manteiga.

Uma alíquota da manteiga obtida será mantida, por 10 dias, em refrigerador a 5°C, para a verificação da consistência.

Uma outra parte da manteiga será armazenada em potes plásticos, a uma temperatura de -10°C para posterior análise de perfil de ácidos graxos.

A dosagem dos ésteres metílicos dos ácidos graxos da gordura do leite serão realizadas no Laboratório de Alimentos do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá. A gordura do leite será extraída por centrifugação (17.800G), após congelamento e descongelamento da amostra, conforme Murhpy et al. (1995) e Hara & Radin (1972). Os ésteres metílicos de ácidos graxos serão obtidos através da transesterificação dos triacilgliceróis, conforme método 5509 da ISO (1978), em solução de n-heptano e KOH/metanol. A quantificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos será feita através da cromatografia gasosa Varian (Palo Alto, CA) equipado com G1315A auto-amostrador e detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida com (100 m de comprimento, 0,25 de diâmetro interno e 0,25 µm de CarboVax 20M). O fluxo de gases será de 1,2 mL/min de H<sub>2</sub> (gás de arraste), 30 mL/min de N<sub>2</sub> (gás auxiliar), 30 e 300 mL/min., para o H<sub>2</sub> e ar sintético, respectivamente, para a chama do detector. A temperatura inicial da coluna será estabelecida em 65°C, mantida por 8 min, e a final de 240°C, devendo ser elevada a uma taxa de 4°C/min; as temperaturas do injetor e do detector serão de 220 e 245°C, respectivamente.

O volume de injeção da amostra será de 1 microlitro a uma razão de 1:100 (split) A quantificação de CLA e dos ésteres de ácidos graxos das amostras será feita através da comparação com tempos de retenção de uma mistura de padrões da Sigma-Aldrich (Jong e Badings, 1990; Shantha e Ackman, 1990); a concentração de CLA e de ésteres de ácidos graxos nas amostras, será feita utilizando-se fatores de correção para as áreas de picos, calculados a partir de misturas padrões de CLA e ácidos graxos, de acordo com o método AOCS Ce 1-62 (1993), utilizando o Integrador-Processador CG-300.

Para as análises de triglicerídeos será utilizado o kit Sigma number 334-A, para o AGNE (NEFA-C kit:Wako Fine Chemical Industries USA, Inc., Dallas, TX), β-hidroxitirato (Sigma kit number 310-A), glicose (Sigma procedure no. 510: Segma Chemical Co.) e uréia plasmática (NUP) (Chaney e Marbach, 1962).

A produção de leite, corrigida para 4,0% de gordura, será calculada pela seguinte equação:  $PLCG = (0,432 + 0,11625 \times \%G \text{ do leite}) \times \text{Produção de leite (kg/dia)}$ .

### **Colheita de sangue**

No décimo oitavo dia, de cada período experimental, pela manhã, em jejum, será realizada a colheita de sangue, a partir da veia jugular em tubos a vácuo (vacutainer) contendo fluoreto, enquanto que para a determinação de uréia e hematócrito serão utilizados tubos contendo heparina, como anticoagulante. submetidos à centrifugação a 3200 rpm por 20 minutos, sendo o plasma separado, acondicionado em frascos *ependorf* e armazenado a -20°C. Serão realizadas as análises de VLDL (Friedewald), LDL (Friedewald), HDL (precipitação com fosfotungstato automatizada) e colesterol total (eterase-oxidase automatizado), de triglicerídios e uréia no Laboratório de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá, através do analisador automático Merck Vitalab Selectra 2®.

No início e último dia de cada período experimental será feita a pesagem dos animais antes da alimentação da manhã, com o intuito de acompanhar o ganho médio diário (GMD).

## Material e Métodos exclusivos dos sub-projetos com animais a pasto

### Ingestão de Alimentos e Digestibilidade dos Nutrientes

Amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras serão coletadas e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Será feito um *pool* das amostras de sobras, resultando em uma única amostra por animal por período. Posteriormente essas amostras serão secas em estufa de ventilação forçada ( $55^{\circ}\text{C} - 72\text{ h}$ ), moídas em peneira com crivo de 1 mm e analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). Os carboidratos não estruturais serão calculados pela fórmula:  $\text{CNE} = 100 - [(\text{FDN} - \text{FDN} - \text{proteína}) + \text{Proteína} + \text{Extrato Etéreo (EE)} + \text{Cinzas}]$  (Stokes et al., 1991).

Do décimo quinto ao vigésimo dia do período experimental serão coletadas amostras de fezes, diretamente na ampola retal. A amostragem seguirá a seguinte distribuição: 15º dia (8:00h), 16º dia (10:00h), 17º dia (12:00h), 18º dia (14:00h), 19º dia (16:00h), 20º dia (18:00h). Após secagem em estufa com ventilação forçada ( $55^{\circ}\text{C} - 72\text{h}$ ), as amostras serão processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ar, por animal/período, e armazenadas em frascos de polietileno para posterior análise.

Para estimação da excreção fecal diária empregar-se-á como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), estimada nas amostras do fornecido, sobras e compostas fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* por 144 h descrita em Cochran et al. (1986). Para estimar o consumo de pasto será empregado a metodologia descrita em Atigarra (1997) utilizando como indicador o n-alcano (Cortez et al., 2005) e óxido de cromo.

A estimativa da excreção fecal será realizada conforme metodologia descrita por Modesto (2002). Já as concentrações de cromo das amostras de fezes serão determinadas pelo método de Fenton & Fenton (1979).

Para as análises de triglicérides será utilizado o kit Sigma number 334-A, para o AGNE (NEFA-C kit: Wako Fine Chemical Industries USA, Inc., Dallas, TX),  $\beta$ -hidroxibutirato (Sigma kit number 310-A), glicose (Sigma procedure no. 510: Segma Chemical Co.).

## SUBPROJETOS

### SUB-PROJETO 1.

#### Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga de Vacas Alimentadas com Grãos de Canola Inteiros ou Extrusados com ou Sem Lignosulfonato Mantidas Confinadas

##### Objetivos

O objetivo deste sub-projeto será de avaliar o efeito da extrusão e da adição de lignosulfonato sobre:

1. a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;
2. o comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sanguíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e AGNE);
3. a digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes e a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos.

##### Material e Métodos

O sup-projeto será conduzido no setor de Bovinocultura de Leite da Fazenda Experimental de Iguatemi, no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e no Laboratório do Departamento de Química, pertencentes à Universidade Estadual de Maringá.

Serão utilizadas oito vacas, primíparas, com 60 dias de lactação, peso médio de 530 kg. Estes animais serão distribuídos em dois quadrados latinos. Cada quadrado latino consistirá de quatro períodos de 21 dias, sendo 10 dias de adaptação e 11 dias de coleta. Os animais serão pesados semanalmente e receberão uma dieta composta por silagem de milho e concentrado formulado com grão de canola, conforme os tratamentos a serem testados:

- GC = Grãos de canola moídos (concentrado com grãos de canola moídos + minerais e vitaminas + silagem de milho);
- GCE = Grãos de canola extrusados (concentrado com grãos de canola extrusados + minerais e vitaminas + silagem de milho);
- GCL = Grãos de canola moídos e tratados com lignosulfonato (concentrado com grãos de canola moídos + lignosulfonato + minerais e vitaminas + silagem de milho);
- GCEL = Grãos de canola tratados com lignosulfonato e extrusados (concentrado com grãos de canola tratados com lignosulfonato e extrusados + minerais e vitaminas + silagem de milho).

A relação volumoso: concentrado será de aproximadamente 60:40. No tratamento GC, os grãos de canola serão fornecidos inteiros sem nenhum processamento. No tratamento GCE, os grãos de canola serão moídos em peneira de 5mm e após, serão submetidos ao processo de extrusão, utilizando a extrusora MX-100 (Imbramaq, Ribeirão Preto – SP, Brasil) instalada na Fazenda Experimental de Iguatemi – UEM. No tratamento GCL, os grãos de canola serão moídos e misturados com 5% de lignosulfonato, com base na matéria seca. No tratamento GCEL, os grãos de canola serão moídos em peneira de 5mm, misturados com 5% de lignosulfonato (com base na matéria seca) e em seguida extrusado. Os sais minerais, necessários para atender as demandas de cada animal serão incorporados no concentrado, tomando cuidado para um aporte de 1% de cálcio na

MS, devido o fornecimento de elevada quantidade de extrato etéreo rico em ácidos graxos poliinsaturados.

O fornecimento da suplementação, a base de grão de canola, adicionado de milho moído, fosfato bicálcico, calcário calcítico e premix para lactação, ocorrerá no estábulo, logo após as ordenhas da manhã (06:00) e da tarde (16:00), sendo fornecida de forma a proporcionar 10% de sobra. O balanceamento das rações será feito de forma a obter uma dieta isoprotéica, isoenergética e isolipídica, com base no extrato etéreo, atendendo as exigências das vacas em lactação conforme preconizado pelo NRC (2001) utilizando o programa de cálculo de ração Super-Crac.

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2003).

O delineamento experimental serão dois quadrados latinos com 4 vacas e 4 tratamentos por quadrado latino. As variáveis, coeficiente de digestibilidade, variação de peso vivo, produção e composição e qualidade do leite serão interpretados estatisticamente por meio de análises de variância (teste de F) e as médias comparadas pelo contrastes ortogonais, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Q_j + P_k + T_i Q_j + T_i P_k + e_{ijk}$$

Onde:

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito do tratamento i, sendo i = 1, 2, 3 e 4;

$Q_j$  = efeito referente quadrado latino j, sendo j = 1 e 2 ;

$P_k$  = efeito referente ao período experimental k, sendo k=1, 2, 3 e 4; e

$T_i Q_j$  = Efeito da interação entre Tratamento e Quadrado latino;

$T_i P_k$  = Efeito da interação entre Tratamento e Período experimental;

$e_{ijk}$  = erro experimental, associado a cada observação, pressuposto NID (0,  $\sigma^2$ ).

## **SUB-PROJETO 2:**

### **Partição da Digestão e Estimativa da Produção Microbiana em Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Grãos de Canola Moídos e Extrusados ou não, com e sem Lignosulfonato**

Os objetivos deste sub-projeto serão:

1. determinar a partição da digestão, avaliar a produção microbiana em vacas da raça holandesa alimentadas com grãos de canola moídos e extrusados ou não, com e sem lignosulfonato;
2. comparar as metodologias para estimar a eficiência de produção microbiana, através da digesta omasal e excreção urinária de compostos nitrogenados.

### **Material e Métodos**

O sub-projeto será conduzido no setor de Bovinocultura de Leite da Fazenda Experimental de Iguatemi, no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia pertencente à Universidade Estadual de Maringá.

Serão utilizados quatro vacas, múltiparas, com 60 dias de lactação, peso médio de 530 kg e portadoras de fístula no rúmen. Estes animais serão distribuídos em um quadrado latino. Este será constituído de quatro períodos de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação e 07 dias de coleta. Os animais serão pesados semanalmente e receberão dieta (3% do peso vivo, em de matéria seca) composta por silagem de milho e concentrado formulado com grão de canola, conforme os tratamentos descritos no sub-projeto 1.

Para a determinação do consumo de matéria seca e nutrientes, diariamente serão registrados quantidade de alimento oferecido e sobras. Durante o período de coleta, serão feitas amostragens do suplemento fornecido e das sobras, as quais serão acondicionadas em sacos plásticos e guardados em congelador a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Será feito um pool das amostras de sobras, resultando em uma única amostra por animal por período. Posteriormente, essas amostras serão secas em estufa de ventilação forçada ( $55^{\circ}\text{C} - 72$  h), moídas em peneira com crivo de 1mm e analisadas para determinação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, segundo recomendações de Silva e Queiroz (2002), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) segundo metodologia descrita por Van Soest (1991).

No último dia de cada período serão realizadas coletas de conteúdo ruminal, por meio da fístula, onde se deve inicialmente promover a homogeneização da material. Em cada coleta uma amostra de 1,5 Kg será misturada a 500 mL de solução de NaCl, homogeneizada em liquidificador, coada com uma fralda dobrada quatro vezes e o filtrado armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para ser processado de acordo com Cecava et al. (1990).

As fezes dos animais serão coletas, via ampola retal, quatro horários, sempre às 8:00, 12:00, 16:00 e 20:00 horas, perfazendo um total de 4 amostras por animal em cada período. Em seguida serão colocadas em sacos plásticos e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até o momento de análise laboratorial.

A eficiência microbiana será determinada para efeito de comparação das técnicas via urinária, recomendações de Fujihara et al. (1987) e via amostra omasal, através das recomendações de Cecava et al. (1990).

Durante o período de coleta, de cada período experimental, serão amostrados, cerca de 200 mL de digesta omasal e 100 g de fezes diretamente no reto, serão em dias alternados, sempre às 8:00, 12:00, 16:00 e 20:00 horas, perfazendo um total de 4

amostras por animal em cada período. Assim, os períodos de coletas de amostras de digesta de omaso e fezes serão de 6 dias.

A coleta de digesta omasal será realizada por sucção do conteúdo omasal, segundo técnica descrita por Leão et al. (2002). As amostras serão armazenadas em sacos plásticos, devidamente etiquetadas, e congeladas a -20° C.

Após o período de coleta as amostras de alimento, fezes e digestas omasal serão secas em estufa a 55°C por 72 horas, moídas (1 mm) individualmente e misturadas em quantidades iguais, com base no peso seco, para formar amostras compostas de fezes e digesta por animal e para cada ração.

As amostras *spot* de urina serão obtidas de 3 a 4 horas após a alimentação (Chen et al., 1992). Serão coletados 15 mL (Orellana et al., 1992) de urina que em seguida será filtrada em papel de filtro (café), adicionando ao filtrado 135 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,036N), para acidificar o pH (Chen e Gomes, 1992). Todas as amostras (devidamente identificadas) serão armazenadas a -20°C. As análises de creatinina, necessárias ao cálculo do volume urinário, serão realizadas por meio de Kit comercial.

Serão realizadas análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método calorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas será calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração de DP na amostra de urina da coleta total.

Para determinação dos fluxos diários de matéria seca, nas fezes e no omaso será utilizado como indicador interno à fibra em detergente neutro indigestível (FDNI). O FDNI é obtido pela incubação ruminal das amostras de alimentos, digesta omasal, fezes e sobras por 144 h.

As digestibilidades aparentes totais e parciais da MS, MO, PB, EB, FDN, FDA e CNF serão calculadas de acordo com as fórmulas descritas por Coelho da Silva e Leão (1979).

Determinação da MS fecal:

$$\text{MS fecal} = \frac{\text{Quantidade de indicador ingerido pelo animal (Kg/dia)}}{\text{Concentração do indicador na MS das fezes (kg/kg)}}$$

Determinação da MS omasal:

$$\text{MS omasal} = \frac{\text{Quantidade de indicador ingerido pelo animal (kg/dia)}}{\text{Concentração do indicador MS omasal (kg/kg)}}$$

Determinação do coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes:

$$\text{CDA do nutriente} = \frac{\text{kg nutriente ingerido} - \text{kg do nutriente na MS fecal}}{\text{kg do nutriente ingerido}} \times 100$$

Determinação do coeficiente de digestibilidade ruminal (CDR) dos nutrientes:

$$\text{CDR do nutriente} = \frac{\text{kg nutriente inger.} - \text{kg do nutriente na MS omasal}}{\text{kg do nutriente ingerido} - \text{kg do nutriente nas fezes}} \times 100$$

Determinação do coeficiente de digestibilidade intestinal (CDI) dos nutrientes:

$$\text{CDI} = 100 - \text{CDR}$$

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2003). O delineamento experimental será um quadrado latino com quatro vacas e quatro tratamentos. As variáveis, produção microbiana e partição da digestão e digestibilidade serão interpretadas estatisticamente por meio de análises de variâncias (teste de F) e as médias comparadas através dos contrastes ortogonais, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + P_j + T_iP_j + e_{ij}$$

Onde:

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito referente ao tratamento  $i$ ; sendo  $i = 1, 2, 3, \text{ e } 4$ ;

$P_j$  = efeito referente ao período  $j$ ; sendo  $j = 1, 2, 3, \text{ e } 4$ ;

$T_iP_j$  = efeito da interação entre tratamento e período experimental;

$e_{ij}$  = erro experimental, associado a cada observação.

### **SUB-PROJETO 3.**

#### **Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga de Vacas Alimentadas com Grãos de Canola Inteiros ou Extrusados com ou Sem Lignosulfonato Mantidas a pasto**

##### **Objetivos**

O objetivo deste sub-projeto será de avaliar o efeito da extrusão e da adição de lignosulfonato sobre:

1. a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;
2. o comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sanguíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e AGNE);
3. a ingestão e digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes do concentrado e pastagens, assim como a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos;

##### **Material e Métodos**

O sup-projeto será conduzido no setor de Bovinocultura de Leite da Fazenda Experimental de Iguatemi, no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e no Laboratório do Departamento de Química, pertencentes à Universidade Estadual de Maringá.

Serão utilizadas oito vacas, primíparas, com 60 dias de lactação, peso médio de 530 kg. Estes animais serão distribuídos em dois quadrados latinos. Cada quadrado latino consistirá de quatro períodos de 21 dias, sendo 10 dias de adaptação e 11 dias de coleta. Os animais serão pesados semanalmente e serão mantidos com livre acesso a pastagem de *Cynodon* (com predominância de Coast-cross, Tifton 85 e Estrela Africana) e concentrado formulado com grão de canola, conforme os tratamentos a serem testados:

- GC = Grãos de canola moídos (concentrado com grãos de canola moídos + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*);
- GCE = Grãos de canola extrusados (concentrado com grãos de canola extrusados + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*);
- GCL = Grãos de canola moídos e tratados com lignosulfonato (concentrado com grãos de canola moídos + lignosulfonato + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*);
- GCEL = Grãos de canola tratados com lignosulfonato e extrusados (concentrado com grãos de canola tratados com lignosulfonato e extrusados + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*).

A relação volumoso: concentrado será de aproximadamente 60:40. No tratamento GC, os grãos de canola serão fornecidos inteiros sem nenhum processamento. No tratamento GCE, os grãos de canola serão moídos em peneira de 5mm e após, serão submetidos ao processo de extrusão, utilizando a extrusora MX-100 (Imbramaq, Ribeirão Preto – SP, Brasil) instalada na Fazenda Experimental de Iguatemi – UEM. No tratamento GCL, os grãos de canola serão moídos e misturados com 5% de lignosulfonato, com base na matéria seca. No tratamento GCEL, os grãos de canola serão moídos em peneira de 5mm, misturados com 5% de lignosulfonato (com base na matéria seca) e em seguida extrusado. Os sais minerais, necessários para atender as demandas de cada animal serão incorporados no concentrado, tomando cuidado para um aporte de 1% de cálcio na

MS, devido o fornecimento de elevada quantidade de extrato etéreo rico em ácidos graxos poliinsaturados.

O fornecimento da suplementação, a base de grão de canola, adicionado de milho moído, fosfato bicálcico, calcário calcítico e premix para lactação, ocorrerá no estábulo, logo após as ordenhas da manhã (06:00) e da tarde (16:00), sendo fornecida de forma a proporcionar 10% de sobra. O balanceamento das rações será feito de forma a obter uma dieta isoprotéica, isoenergética e isolipídica, com base no extrato etéreo, atendendo as exigências das vacas em lactação conforme preconizado pelo NRC (2001) utilizando o programa de cálculo de ração Super-Crac.

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2003).

O delineamento experimental serão dois quadrados latinos com 4 vacas e 4 tratamentos por quadrado latino. As variáveis, coeficiente de digestibilidade, variação de peso vivo, produção e composição e qualidade do leite serão interpretados estatisticamente por meio de análises de variância (teste de F) e as médias comparadas pelo contrastes ortogonais, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Q_j + P_k + T_i Q_j + T_i P_k + e_{ijk}$$

Onde:

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito do tratamento i, sendo i = 1, 2, 3 e 4;

$Q_j$  = efeito referente quadrado latino j, sendo j = 1 e 2 ;

$P_k$  = efeito referente ao período experimental k, sendo k=1, 2, 3 e 4; e

$T_i Q_j$  = Efeito da interação entre Tratamento e Quadrado latino;

$T_i P_k$  = Efeito da interação entre Tratamento e Período experimental;

$e_{ijk}$  = erro experimental, associado a cada observação, pressuposto NID (0,  $\sigma^2$ ).

#### **SUB-PROJETO 4:**

#### **Grão de Girassol Extrusado e/ou Tratado com Lignosulfonato na Dieta das Vacas Leiteiras Confinadas: Produção, Composição e Qualidade do Leite.**

#### **Objetivos**

O objetivo deste sub-projeto será de avaliar o efeito da extrusão e da adição de lignosulfonato sobre os grãos de Girassol no(a):

1. biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;
2. comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sangüíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e AGNE);
3. digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes e a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos.

#### **Material e métodos**

Para avaliar a inclusão do grão de girassol extrusado e/ou tratado com lignosulfonato na dieta das vacas leiteiras, os animais serão mantidos confinados. O período experimental total será composto por um período de adaptação de 14 dias, denominado de fase pré-experimental, seguido de uma fase experimental de 7 dias.

Para a avaliação da produção de leite, qualidade da gordura do leite e a digestibilidade, serão utilizadas oito vacas da raça Holandesa, com peso vivo de aproximadamente 550 kg, distribuídas num duplo quadrado latino simultâneos, num esquema fatorial 2 x 2 (com ou sem extrusão) e lignosulfonato (com ou sem lignosulfonato). Os animais serão pesados semanalmente e serão mantidos confinados uma boa parte do dia, mas terão livre acesso a um piquete rapado para repouso e exercício. As vacas serão alimentadas com concentrado formulado com grão de girassol, conforme os tratamentos a serem testados:

GSI = Grão de girassol moído + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + silagem de milho (testemunha);

GSE = Grão de girassol extrusado + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + silagem de milho;

GSL = Grão de girassol moído, tratado com lignosulfonato + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + silagem de milho;

GSEL = Grão de girassol extrusado e tratado com lignosulfonato + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + silagem de milho.

No tratamento GSI, o grão de girassol será fornecido moído a 8 mm. No tratamento GSE, o grão de girassol depois de moído a 8 mm será submetido ao processo de extrusão, utilizando a extrusora instalada na Fazenda Experimental de Iguatemi – Universidade Estadual de Maringá. No tratamento GSL, o grão de girassol será moído a 8 mm e adicionado 3% de lignosulfonato, com base na matéria seca. No tratamento GSEL, o grão de girassol moído a 8 mm e após ser tratado com lignosulfonato, na base de 3% da MS será submetido à extrusão.

O fornecimento da suplementação, a base de grão de girassol, adicionado de milho na forma de quirera e de sais minerais, ocorrerá no estábulo, logo após as ordenhas

da manhã (08h00) e da tarde (16h00). O concentrado será balanceado para tornar a dieta isoprotéica e isoenergética (NRC, 2001) e com conteúdo médio de extrato etéreo de 8,15%. Os sais minerais, necessários para atender as demandas de cada animal serão incorporados no concentrado, tomando cuidado especial para assegurar o fornecimento de 1% de cálcio na MS, em função do elevado nível de extrato etéreo rico em ácidos graxos poliinsaturados na dieta.

### **Análises estatísticas e Delineamento experimental**

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2004).

O delineamento experimental, para a qualidade do leite será realizado utilizando-se dois quadrados latinos (4 x 4). O modelo matemático a ser utilizado para análise da qualidade do leite será um fatorial 2 x 2: sendo 2 = com ou sem lignosulfonato; 2 = com e sem extrusão.

Estas variáveis serão analisadas estatisticamente utilizando-se o procedimento ANOVA do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) e as médias serão comparadas pelo contrastes ortogonais, conforme modelo estatístico:

$$Y_{ijkm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + TQ_{ik} + PQ_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijkm}$  = observação referente à repetição m, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito do tratamento i (girassol extrusado, girassol extrusado com lignosulfonato, girassol moído, girassol moído com lignosulfonato);  $P_j$  = efeito do período j (1, 2, 3 e 4);  $Q_k$  = efeito de quadrado latino k (1 e 2);  $TQ_{ik}$  = interação do tratamento i com o quadrado k;  $PQ_{jk}$  = interação do período j com o quadrado k;  $e_{ijkm}$  = erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu o tratamento i no período j para o quadrado k.

## **SUB-PROJETO 5:**

### **Grão de Girassol Extrusado e/ou Tratado com Lignosulfonato na Dieta das Vacas Leiteiras a Pasto: Produção, Composição e Qualidade do Leite**

#### **objetivos**

O objetivo deste sub-projeto será de avaliar o efeito da extrusão e da adição de lignosulfonato com vacas a pasto sobre:

1. a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;
2. o comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sangüíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicérides e AGNE);
3. a digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes e a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos.

#### **Material e métodos**

Para avaliar a inclusão do grão de girassol extrusado e/ou tratado com lignosulfonato na dieta das vacas leiteiras, os animais serão mantidos a pasto. O período experimental total será composto por um período de adaptação de 14 dias, denominado de fase pré-experimental, seguido de uma fase experimental de 7 dias.

Para a avaliação da produção de leite, qualidade da gordura do leite e a digestibilidade, serão utilizadas oito vacas da raça Holandesa, com peso vivo de aproximadamente 550 kg, distribuídas num duplo quadrado latino simultâneos, num esquema fatorial 2 x 2 (com ou sem extrusão) e lignosulfonato (com ou sem lignosulfonato). Os animais serão pesados semanalmente e serão mantidos com livre acesso a pastagem de *Cynodon* (com predominância de Coast-cross, Tifton 85 e Estrela Africana). As vacas serão alimentadas com concentrado formulado com grão de girassol, conforme os tratamentos a serem testados:

GSI = Grão de girassol moído + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon* (testemunha);

GSE = Grão de girassol extrusado + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*;

GSL = Grão de girassol moído, tratado com lignosulfonato + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*;

GSEL = Grão de girassol extrusado e tratado com lignosulfonato + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagem de *Cynodon*.

No tratamento GSI, o grão de girassol será fornecido moído a 8 mm. No tratamento GSE, o grão de girassol depois de moído a 8 mm será submetido ao processo de extrusão, utilizando a extrusora instalada na Fazenda Experimental de Iguatemi – Universidade Estadual de Maringá. No tratamento GSL, o grão de girassol será moído a 8 mm e adicionado 3% de lignosulfonato, com base na matéria seca. No tratamento GSEL, o grão de girassol moído a 8 mm e após ser tratado com lignosulfonato, na base de 3% da MS será submetido à extrusão.

O fornecimento da suplementação, a base de grão de girassol, adicionado de milho na forma de quirera e de sais minerais, ocorrerá no estábulo, logo após as ordenhas da manhã (08h00) e da tarde (16h00). O concentrado será balanceado para tornar a dieta

isoprotéica e isoenergética (NRC, 2001) e com conteúdo médio de extrato etéreo de 8,15%. Os sais minerais, necessários para atender as demandas de cada animal serão incorporados no concentrado, tendo o cuidado especial para com o cálcio que deve estar a 1% na MS.

### **Análises estatísticas e Delineamento experimental**

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2004).

O delineamento experimental, para a qualidade do leite será realizado utilizando-se dois quadrados latinos (4 x 4). O modelo matemático a ser utilizado para análise da qualidade do leite será um fatorial 2 x 2: sendo 2 = com ou sem lignosulfonato; 2 = com e sem extrusão.

Estas variáveis serão analisadas estatisticamente utilizando-se o procedimento ANOVA do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) e as médias serão comparadas pelos contrastes ortogonais, conforme modelo estatístico:

$$Y_{ijkm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + TQ_{ik} + PQ_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijkm}$  = observação referente à repetição m, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito do tratamento i (girassol extrusado, girassol extrusado com lignosulfonato, girassol moído, girassol moído com lignosulfonato);  $P_j$  = efeito do período j (1, 2, 3 e 4);  $Q_k$  = efeito de quadrado latino k (1 e 2);  $TQ_{ik}$  = interação do tratamento i com o quadrado k;  $PQ_{jk}$  = interação do período j com o quadrado k;  $e_{ijkm}$  = erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu o tratamento i no período j para o quadrado k.

## SUB-PROJETO 6:

### Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga com Vacas Mantidas em Pastagens de *Cynodon* e suplementadas com Grãos de Linhaça inteiros ou Extrusados com ou sem Monensina Sódica

#### Objetivos

Os objetivos deste sub-projeto serão de avaliar o efeito da extrusão e da adição de Monensina Sódica sobre:

1. a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;
2. o comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sangüíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e AGNE);
3. a ingestão de MS e ingredientes das pastagens através do indicador n-alcano;
4. a digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes e a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos.

Neste sub-projeto serão utilizadas 8 vacas da raça Holandesa, primíparas, com 60 dias de lactação, peso médio de 530 kg. Esses animais serão distribuídos em 2 quadrados latinos simultâneos e mantidos a pasto, no período de outubro a março (final da primavera e verão), num esquema fatorial 2 (grãos de linhaça inteiro ou processado) x 2 (com ou sem monensina sódica), sendo que cada quadrado latino consistirá de 4 períodos de 21 dias, sendo 7 dias para adaptação e 14 dias para coleta.

Os tratamentos serão 4:

- Grãos de Linhaça inteiros (concentrado com grãos de linhaça inteiros + minerais e vitaminas + pastagens de *Cyndon*);
- Grãos de Linhaça inteiros + monensina sódica (concentrado com grãos de linhaça inteiros e monensina sódica + minerais e vitaminas + pastagens de *Cyndon*);
- Grãos de Linhaça processados (amassados) (concentrado com grãos de linhaça processados + minerais e vitaminas + pastagens de *Cyndon*);
- Grãos de Linhaça processados (amassados) + monensina sódica (concentrado com grãos de linhaça processados + minerais e vitaminas + pastagens de *Cyndon*).

Em todos os tratamentos a relação volumoso:concentrado será de aproximadamente 60:40. O balanceamento das rações será feito de forma a obter uma dieta isoprotéica, isoenergética e isolipídica, com base no extrato etéreo, atendendo as exigências das vacas em lactação conforme preconizado pelo NRC (2001).

#### Análises Estatísticas e Delineamento Experimental

O delineamento será um duplo quadrado latino com 4 animais cada e 4 tratamentos. Estas variáveis serão analisadas estatisticamente utilizando-se o procedimento ANOVA do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) e as médias serão comparadas pelos contrastes ortogonais, de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijkm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + TQ_{ik} + PQ_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijkm}$  = observação referente à repetição m, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito do tratamento i (grãos de linhaça inteiro,

grãos de linhaça inteiros + monensina sódica, grãos de linhaça processados e grãos de linhaça processados + monensina sódica);  $P_j$  = efeito do período  $j$  (1, 2, 3 e 4);  $Q_k$  = efeito de quadrado latino  $k$  (1 e 2);  $TQ_{ik}$  = interação do tratamento  $i$  com o quadrado  $k$ ;  $PQ_{jk}$  = interação do período  $j$  com o quadrado  $k$ ;  $E_{ijkm}$  = erro aleatório associado a cada observação  $m$ , que recebeu o tratamento  $i$  no período  $j$  para o quadrado  $k$ .

## **SUB-PROJETO 7.**

### **Extrusão e/ou tratamento do grão de soja com lignosulfonato na produção, composição e qualidade do leite de vacas em pastagens de *Cynodon***

#### **Objetivos**

Os objetivos deste sub-projeto serão de avaliar os efeitos da extrusão e/ou do tratamento com lignosulfonato no (a):

1. biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados na qualidade da gordura do leite e da manteiga, bem como a produção, composição química, uréia no leite, qualidade bacteriológica e contagem de células somáticas;

2. comportamento dos parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal) e o comportamento dos parâmetros sangüíneos (uréia plasmática, pH, hematócrito, colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e AGNE);

3. digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes e a degradabilidade *in situ* da MS e proteína bruta (PB) dos alimentos.

#### **Material e Métodos**

Para avaliar a inclusão do grão de soja extrusado e/ou tratado com lignosulfonato na dieta das vacas leiteiras, os animais serão mantidos em pastagens de *Cynodon* no período de novembro a março (final de primavera e verão). O período experimental total será composto por um período de adaptação de 14 dias, denominado de fase pré-experimental, seguido de uma fase experimental de 90 dias.

Para a avaliação da produção de leite, qualidade da gordura do leite e a digestibilidade, serão utilizadas 8 vacas da raça Holandesa, com peso vivo de aproximadamente 500 kg, distribuídas em dois quadrados latinos simultâneos, num esquema fatorial 2 x 2 (com ou sem extrusão) e lignosulfonato (com ou sem lignosulfonato). Os animais serão pesados semanalmente e serão mantidos confinados uma boa parte do dia, mas terão livre acesso a um piquete para repouso e exercício. As vacas serão alimentadas com concentrado formulado com grão de soja, conforme os tratamentos a serem testados:

GSI = Grão de soja moído + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagens de *Cynodon*);

GSE = Grão de soja extrusado + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagens de *Cynodon*;

GSL = Grão de soja moído, tratado com lignosulfonato + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagens de *Cynodon*;

GSEL = Grão de soja tratado com lignosulfonato e extrusado + milho na forma de quirera + minerais e vitaminas + pastagens de *Cynodon*;

No tratamento GSI, o grão de soja será fornecido moído a 8 mm. No tratamento GSE, o grão de soja após moído a 8 mm será submetido ao processo de extrusão, utilizando a extrusora instalada na Fazenda Experimental de Iguatemi – Universidade Estadual de Maringá. No tratamento GSL, o grão de soja será moído a 8 mm e adicionado 3% de lignosulfonato, com base na matéria seca. No tratamento GSEL, o grão de soja moído a 8 mm e após ser tratado com lignosulfonato, na base de 3% da MS será submetido à extrusão.

O fornecimento da suplementação, a base de grão de soja, adicionado de farelo de milho e de sais minerais, ocorrerá no estábulo, logo após as ordenhas da manhã (08h00) e da tarde (16h00). O concentrado será balanceado em função da avaliação mensal da pastagem para tornar a dieta isoprotéica e isoenergética (NRC, 2001) e com conteúdo médio de extrato etéreo de 8,15%. Os sais minerais, necessários para atender

as demandas de cada animal serão incorporados no concentrado, tomando o cuidado para com o cálcio, de forma a proporcionar uma concentração de 1% na MS da dieta, devido à presença de ácidos graxos poliinsaturados.

Serão feitas amostragens do suplemento fornecido e das sobras, as quais serão acondicionadas em sacos plásticos e guardadas em congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e posteriormente analisado quanto ao teor de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), e extrato etéreo (EE) e da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).

### **Análises estatísticas e Delineamento experimental**

As análises estatísticas das variáveis serão feitas utilizando-se o programa SAS (2004).

O delineamento experimental, para a qualidade do leite será realizado utilizando-se dois quadrados latinos (4 x 4). O modelo matemático a ser utilizado para análise da qualidade do leite será um fatorial 2 x 2: sendo 2 = com ou sem lignosulfonato; 2 = com e sem extrusão.

Estas variáveis serão analisadas estatisticamente utilizando-se o procedimento ANOVA do Pacote Estatístico SAS (SAS, 2004) e as médias serão comparadas pelos contrastes ortogonais, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijkm} = \mu + T_i + P_j + Q_k + TQ_{ik} + PQ_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijkm}$  = observação referente à repetição m, para o tratamento i, no período j para o quadrado latino k;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito do tratamento i (soja extrusada, soja extrusada com lignosulfonato, soja moída, soja moída com lignosulfonato);  $P_j$  = efeito do período j (1, 2, 3 e 4);  $Q_k$  = efeito de quadrado latino k (1 e 2);  $TQ_{ik}$  = interação do tratamento i com o quadrado k;  $PQ_{jk}$  = interação do período j com o quadrado k;  $e_{ijkm}$  = erro aleatório associado a cada observação m, que recebeu o tratamento i no período j para o quadrado k.

## **SUB-PROJETO 8: ANTIOXIDANTES E ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS NO LEITE.**

### **JUSTIFICATIVAS/HIPÓTESES**

Linhaça é uma fonte rica de secoisolariciresinol diglucoside (SDG), precursor de ligantes mamíferos, o qual é metabolizado pela bactéria do colon para enterolactona (EL) e enterodiol (ED). Ligantes são conhecidos por terem efeitos benéficos para a saúde humana. Resultados desta pesquisa determinarão se a transferência de enterolactona pode ser aumentada no leite, que permitirá um produto com valor agregado como o leite de vaca contendo propriedades equivalentes ao óleo de soja em relação aos efeitos na saúde humana. Além disso, ligantes da linhaça são caracterizados por suas propriedades antioxidantes. Resultados preliminares (Petit, não publicado) mostram que vacas alimentadas com uma fonte de ácidos graxos da série ômega 3 como a linhaça tem uma baixa incidência em oxidar o leite comparado com aquelas alimentadas com uma fonte de ácidos graxos da série ômega 6. Se vacas leiteiras alimentadas com linhaça têm uma grande proporção de metabólitos de ligantes no leite, isto seria uma grande ferramenta para prevenir a oxidação lipídica de leite enriquecido com ácidos graxos polinsaturados, o qual é um produto exigido pelos consumidores. Ligantes têm sido conhecidos em inibir a peroxidação lipídica (radicais peróxidos) e eliminar radicais hidróxidos. Eles são conhecidos em ser potentes antioxidantes contra radicais superóxidos. Essas três espécies de oxigênios reativos são os mais relevantes radicais biológicos para humanos e animais.

### **OBJETIVOS**

1. Avaliar a transferência de antioxidantes para o leite;
2. Avaliar a atividade antioxidante do leite enriquecido com enterolactona.

### **Material e Métodos**

Antioxidantes e óleos poliinsaturados serão infundidos no omaso via fistula ruminal de 4 vacas fistuladas utilizando um delineamento em quadrado latino 4x4 para observar sua transferência para o leite e o efeito na oxidação do leite. Os tratamentos serão distribuídas em modelo fatorial 2x2 com 2 níveis de óleos infundidos (0 e 500 mL/d) e 2 níveis de antioxidantes (com ou sem). Experimentos serão conduzidos com infusão de óleo de linhaça (sub-experimento 1), óleo de girassol (sub-experimento 2), e óleo de canola (sub-experimento 3). Um quarto sub-experimento será conduzidos com 2 níveis de óleo infundido (0 e 500 mL/d) e 2 níveis de casca de linhaça (a mais rica fonte de ligantes em plantas) na dieta. Cada período durará 21 dias com 7 dias de adaptação e 14 dias de infusão contínua. Produção de leite será registrada em todas as ordenhas. Amostras de leite serão obtidas semanalmente da cada vaca de duas ordenhas consecutivas e serão analisadas separadamente para determinar a composição do leite. A ingestão de alimentos serão registrados diariamente. Amostras de cada dieta serão coletadas diariamente na última semana, na qual serão feitas amostras compostas dos 7 dias. Amostras de sangue serão retirados da veia jugular na terceira semana do experimento (2 horas após a alimentação da manhã) para determinar a atividade antioxidante e a concentração de SDG e seus metabólitos.

O leite será analisado através do HPLC e LC-MS para determinar o metabolismo de SDG bem como a transferência do enterodiol e enterolactona para o leite. A atividade antioxidante total no leite será determinada utilizando pelo menos três métodos *in vitro* desenvolvido por Dr. Cao (FRAP, b-CLAMS, PCL) (Petit et al., 2005).

## Referências Bibliográficas

- ALDRICH, J.B., MULLER, L.D., VARGAS, G.A. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1091, 1997.
- ALVIM, M.J., XAVIER, D.F., BOTREL, M.A. et al. Resposta do coast-cross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) a diferentes doses de nitrogênio e intervalos de cortes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. v.27, n.5, p.833-840, 1998.
- ANDRADE, A. D. *Ácidos graxos ômega – 3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis*. Maringá, PR: UEM, 1994, 67p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, 1994.
- ARC – Agricultural Research Council. The nutrient requirements of ruminant livestock. Suppl. 1. Commonw. Agric. Bur., Wallingford, England, 1984.
- ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. New approaches to changing milk composition: potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 1997.
- ASHES, J.R.; WELCH, V.; GULATI, S.K. et al. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1090-1096, 1992.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 1978. 14 ed. Washington, 1984. 1041 p.
- ASTIGARRA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. *Anais...* Maringá: UEM, 1997. p.1-23.
- BAIER, A.C., ROMAN, E.S. Informações sobre a cultura da canola no sul do Brasil. In: Seminário Estadual de pesquisa de Canola, I, 1992, Cascavel. *Anais...* Cascavel: EMBRAPA/CNPT, 1992.p. 1-9.
- BORRIELO, S.P.; SETCHELL, K.D.R.; AXELSON, M.; LAWSON, A.M. 1985. Production and metabolism of lignans by the human faecal flora, **Journal of Applied Bacteriology**, 58:37-43.
- C.A. NEVES; **SANTOS, G.T.**; MATSUSHITA, Makoto; PETIT, Helene V.; ALVES, Elói M; OLIVEIRA, Ronaldo Lopes; BRANCO, Antônio Ferriani; SILVA, Daniele Cristina da. Intake, digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v. (Prelo), 2006.
- CAVALIERI, F.L.B. **Lipídeos dietéticos na produção de embriões, na composição do leite e no perfil metabólicos de vacas da raça Holandesa**. Maringá. UEM, Universidade Estadual de Maringá. 2003, 104p. (Tese doutorado).
- CAVALIERI, Fabio Luiz Bim; **SANTOS, G.T.**; MATSUSHITA, Makoto; PETIT, Helene V.; RIGOLON, Luiz Paulo; SILVA, Daniele Cristina da; HORST, José Augusto; RAMOS, Fabíola dos Santos. Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100 or whole flaxseed. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, p. 413-416, 2005.
- CECAVA, M. J.; MERCHEN, N. R.; GAY, L. C. E BERGER, L. L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feed frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.12, p.2480-2490, 1990.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.*, v.8, p.130-132, 1962.
- CHANG, Y. K; WANG, S.S. Advances in extrusion technology. Aquaculture/Animal feeds and foods. Águas de Lindóia: Technomic, 1998, 422p.

- CHEN, X. B. ; MEJIA, A. T.; ORSKOV, E. R. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, P. 137-143, 1995.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. *Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of the technical details*. Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992b. 21p.
- CHEN, X. B.; GRUBIC, G.; ORSKOV, E. R. et al. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**, v. 55, p. 185 – 191, 1992a.
- CHEVA-ISARAKUL, B.; TANGTAWEEWIPAT, S. Nutritive value of sunflower seeds in poultry diets. In: 28<sup>th</sup> Annual Agricultural Conference, animal Division. 29-31 January 1990, Kasetsart. **Proceedings...** University, Amarin Printing Group Co., Ltd., Bangkok, Thailand, 1990. p.61-72.
- CHOUINARD, P.Y.; LÉVESQUE, J.; GIRARD, V.; BRISSON, G.J. Dietary soybeans extruded at different temperatures: Milk composition and in situ fatty acid reactions. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2913-2924, 1997.
- COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- COELHO DA SILVA, J. F. E LEÃO, M. I. **Fundamentos de Nutrição de Ruminantes**. Piracicaba, SP, Livroceres, 1979. 380p
- DAGHIR, N.J.; RAZ, M.A.; UWAYJAN, M. Studies the utilization of full fat sunflower seed in broiler rations. **Poultry Science**, v.59, n.2, p.2273-2278, 1980.
- DELBECCHI, L.; AHNADI, C.E.; KENNELLY, J.J.; LACASSE, P. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1375-1381, 2001.
- DETMANN, E., CECON, P.R., PAULINO, M.F. et al. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.222-230, 2001.
- EMMICK, D. L. Increase pasture use to decrease dairy feed cost. In: PASTURE/CRAZING FIELD DAY. **Proceedings...** 1991. Penn State University, University Park. P. 10-014. 1991.
- ERWIN, W.S.; MARCO, G.J.; MERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, p.1768-1771, 1961.
- EVANGELISTA, A.R., LIMA, J.A. Utilização de silagem de girassol na alimentação animal. In: Anais do Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. 2001, Maringá. **Anais...** Maringá, PR, 2001. p. 177-217.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J.; KYLE, D. J.. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, v. 109, p.7-12, 1987.
- GRANT, R.J.; WEIDNER, S.J. Effect of fat from whole soybeans on performance of dairy cows fed rations differing in the fiber level and particle size. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.10, p.2742-2751, 1992.
- GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3228-3243, 1991.
- HARA A, RADIN NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Anal Biochemistry**, v.90, n. 1, p. 420-426, 1978
- HOFFMAN, K.; MULLER, L.D.; FALES, S. L.; HOLEN, L. A. Quality evaluation and concentrate supplementation of rotational pasture grazed by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.2655 - 2663. 1993.

- HOLDEN, L. A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 2., n. 8, p.1791-1794, 1999.
- ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Animal and ISO-INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids. *Method 5509*, p.1-6, 1978.
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, v. 76, p.3851-3863. 1993.
- JONG, C., BADINGS, H.T. Determination of fatty acids in milk and cheese: procedures for extraction, clean up, capillary gas chromatographic analysis. *J. High Resolution Chromat.*, v. 13. p. 94-98,1990.
- KARUNOJEEWA, H.; THAN, S.H.; ABU-SEREWA, S. Sunflower seed meal, sunflower oil and full-fat sunflower seeds, hulls and kernels for laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, v.26, p.45-54, 1989.
- KASHANI, A.; CARLSON, C.W. Use of sunflower seeds in grower diets for pullets and subsequent performance as affected by aureomycin and pelleting. **Poultry Science**, v.67, p.445-451, 1988.
- KITTS, D.D.; YUAN, Y.V.; WIJEWICKREME, A.N.; THOMPSON, L.U. 1999. Antioxidant activity of the lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone, **Molecular and Cellular Biochemistry**, 202:91-100.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. Recife, 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD ROM. Nutrição de ruminantes.
- LOYOLA, V.R., SANTOS, G.T., ZEOULA, L.M., BETT, V., PEREIRA, A.L.T. Degradabilidade *in situ* do farelo de canola tratado ou não com calor e/ou tanino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28. p. 598-604, 1999.
- MATOS, L. L. Produção de leite a pasto. 1999. In: SIMPÓSIO DA PECUÁRIA DE LEITE NO BRASIL, 1999. Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Gado de leite, Serrana Nutrição Animal/ CNPq. P 61 –74. 1999.
- MEDEIROS, S.R. *Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado*. Piracicaba. USP, Escola de Agronomia. 2002, 114p. (Tese doutorado).
- MELBAR. Lignosulfonato. 22p. São Paulo. [catálogo], 2000.
- MODESTO, E.C. *Silagem de rama de mandioca (Manihot esculenta, Krantz) para vacas leiteiras em lactação: avaliação nutricional e desempenho produtivo*. Maringá – PR, UEM, 2002. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, 2002.
- MODESTO, E.C.M.; **SANTOS, G.T.**; VILELA, D. *et al.* Efeitos nutricionais e metabólicos de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados para os ruminantes e os benefícios para o homem. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia** v.5, n.1, p.119-134, 2002.
- MONTOVANI-BETT, C. **Utilização do farelo e da semente de girasol na alimentação de frangos de corte**. Maringá – PR, UEM, 1999. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, 1999, 40p.
- MURPHY, J. J.; CONNOLLY, J. F.; McNEILL, G. P. Effects on milk fat composition and cow performance of feeding concentrates containing full fat rapessed and maize distillers grains on grass-silage based diets. **Livestock Production Science.**, v. 44, p. 1-11, 1995.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C., 381p., 2001.

- NEVES, Carolina Antunes; **SANTOS, G. T.**; MATSUSHITA, Makoto; PETIT, Helene V.; ALVES, Elói M.; OLIVEIRA, Ronaldo Lopes; BRANCO, Antônio Ferriani; SILVA, Daniele Cristina da. Intake, digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, Holanda, v. Prelo, 2006.
- NOCEK, J. E.; RUSSEL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 7, p. 2070 – 2107, 1988.
- NUSSIO, L.G., MANZANO, R.P., PEDREIRA, C.G.S. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15, 1998, Piracicaba. **Proceedings...** Piracicaba, p. 203-242, 1998.
- OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactentes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1621 – 1629. 2001.
- ORELLANA, P.; MENDONZA, N.; SCORI, M. Relaciones entre la excreción urinaria de derivados de purinas y creatinina con el consumo de alimento en vacas de lechería. **Arquivos de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 7583, 1998.
- ORSKOV, E. R.; MACLEOD, N. A. The determination of minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. *British Journal Nutrition*. V. 47, p. 625 – 636, 1982.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, n.1, p.499-503, 1979.
- OWENS, F. N. Limits starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v.63, n.1; 1634 - 48, 1986.
- PALHANO, A.L., HADDAD, C.M. Exigências nutricionais e valor nutritivo de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Cv. Coast-cross nº 1. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.10, p.1429-1438. 1992.
- PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid: the early years. In Yurawecz, M.P., Mossaba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. (eds): “Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1.” Champaign, IL: AOCS Press, pp 180–200, 1999.
- J.R., HOUSEKNECHT, K.L.: Dietary conjugated linoleic acid (CLA) improves glucose tolerance and glucose uptake into skeletal muscle of Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. (Abstract) American Diabetes Association 59th Annual Meeting, June 19–22, 1999,
- PATIENCE, J.F.; THACKER, P.A.; LANGE, C.F.M. **Swine Nutrition Guide**. Ed. Prairie swine Centre Inc., 2<sup>ed</sup>. Saskatoon, p.96-99, 1995.
- PEREZ, J. F.; BALCELLS, J., GUADA, J. A.; et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using <sup>15</sup>N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal Nutrition**, V. 75 p. 699 – 709, 1996.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1482-1490, 2002.
- PETIT, H.V.; IVAN, M.; MIR, P.S. Effects of flaxseed on protein requirements and N excretion of dairy cows fed diets with two protein concentrations. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1755-1764, 2005.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D; et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO

- ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, 2003. CD-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; et al. Estimativa da Produção de Proteína pelos Derivados de Purinas na Urina em Novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1223 – 1234, 2000.
- ROSSI, T.O. Girassol. Curitiba, 333p., 1998.
- RUIZ, R.L., MUNARI, D.P. **Microbiologia da silagem**. In: RUIZ, R.L. (Ed.) Microbiologia zootécnica, São Paulo: Ed. Roca. p.97-122. 1992.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H.; ABREU, L.R. Efeito da suplementação de lipídeos na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. *R. Bras. Zootec.*, v.30, n.6, p.1931-1938, 2001.
- SANTOS, G.T., ÍTAVO, L.C.V., MODESTO, E.C. et al. Silagens alternativas de resíduos agro-industriais. In: Anais do Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. 2001, Maringá. **Anais...** Maringá, PR, 2001. p. 262-285.
- SANTOS, J.E.P. Feeding for milk composition. In: PROCEEDING VI INTERNATIONAL CONGRESS ON BOVINE MEDICINE. 5, 2002, Santiago de Compostela. **Anais...** Espanha, 2002. p.163-172.
- SAS – STATISTIC ANALYSIS SYSTEM. 2004. **User's Guide: Statistics**, Version 8, 13<sup>th</sup> Edition, 2004. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SETCHELL, K.D.R.; LAWSON, A.M.; BORRIELO, S.P.; HARKNESS, R.; GORDON, H.; MORGAN, D.M.L.; KIRK, D.N.; ADLERCREUTZ, H.; ANDERSON, L.C. 1981. Lignan formation in man-microbial involvement and possible roles in relation to cancer, **The Lancet**, 318:4-7.
- SETCHELL, K.D.R.; LAWSON, A.M.; MITCHELL, F.L.; ADLERCREUTZ, H.; KIRK, D.N.; AXELSON, M. 1980 b. Lignans in man and in animal species, **Nature**, 287:740-742.
- SHANTHA, N.C.; ACKMAN, R.G. Nervonic acid as internal stands in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. **Journal of Chromatography**, v.533, p.1-20, 1990.
- SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3<sup>a</sup> ed. Viçosa: Universidade Federal de Lavras, Imprensa Universitária, 2002. p. 235.
- SILVA, M.N. **A cultura do girassol**. Jaboticabal: FUNEP, 1990, 67p.
- SILVA, R. M. N.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1948 – 1957. 2001.
- SNIFFEN, C. J.; ROBINSON, P. H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 2, p. 425 – 441, 1987.
- STERN, M. D.; VARGA, G. A.; CLARK, J. H. et al. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 9, p. 2762 – 2786, 1994.
- STOKES, S.R.; HOOVER, W.H.; MILLER, T.K.; BLAUWEIKEL, R. Ruminal digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.871, 1991.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v. 123, p. 257 – 266, 1994.

- UDÉN, P. Digestibility and digesta retention in dairy cows receiving hay or silage at varying concentrate levels. **Animal Feed Science and Technology**, v.11, p.279-291, 1984.
- VAGNONI, D. B., BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1695 – 1702, 1997.
- VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. In SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2. 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 8, p. 2686 – 2696, 1999.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed., London: Constock Publishing Associates. 476p. 1994.
- VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG, 1980, 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- VILELA, D., ALVIM, M. J, PIRES, M. A., et al. Comparação entre o sistema de pastejo em coast-cross (*Cynodon dactylon*, (L.) e o sistema de confinamento para vacas de leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30, 1993. Rio de Janeiro, RJ, **Anais...** Rio de Janeiro, RJ: SBZ, 1993.
- WANG Y., NOWAK G., CULLEY D., HADWIGER L.A. AND FRISTENSKY B. 1999. Constitutive expression of pea defense gene DRR206 confers resistance to blackleg (*Leptosphaeria maculans*) disease in transgenic canola (*Brassica napus*). *Mol.Plant-Microbe Interact.* 12: 410–418.
- WANG, Y, McALLISTER, T.A, PICKARD, Z. XU, RODE, L.M, CHENG, K.J ( Effect of Micronizing full fat canola seed on amino acid disappearance in gastrointestinal tract of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 537 – 544, 1999.
- WARD, A.T.; WITTENBERG, K.M.; PRZYBYISKI, R. Bovine milk fatty profile produced by feeding diets containing solin, flax and canola. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1191-1196. 2002.
- WHITLOCK, L.A., SCHINGOETHE, D.J., HIPPEN, A.R. et al. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.234-243, 2002.
- WINDSCHITL, P.M.; STERN, M.D. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen- protected protein for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3310-3325, 1988.

**CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO FÍSICA**  
das atividades previstas no plano de trabalho

**Meta 1: Execução dos Subprojetos:**

Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga de Vacas Alimentadas com Grãos de Canola Inteiros ou Extrusados com ou Sem Lignosulfonato Mantidas Confinadas e Partição da Digestão e Estimativa da Produção Microbiana em Vacas da Raça Holandesa Alimentadas com Grãos de Canola Moídos e Extrusados ou não, com e sem Lignosulfonato.

ATIVIDADES	2007/2008											
	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Aquisição de animais	X											
Aquisição de materiais de consumo		X										
Preparo das dietas			X									
Condução do experimento à campo				X	X	X						
Análises Laboratoriais							X	X	X			
Desdobramento dos dados e análise estatística										X		
Redação dos resultados											X	X

**Meta 2 – Realização de um Simpósio**

ATIVIDADES	2007/2008											
	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Divulgação					X	X						
Organização/Realização							X	X				
Relatório									X			

**Meta 3: Execução do subprojeto:**

Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga de Vacas Alimentadas com Grãos de Canola Inteiros ou Extrusados com ou Sem Lignosulfonato Mantidas a pasto.

ATIVIDADES	2007/2008											
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Preparo das dietas	X											
Condução do experimento à campo		X	X	X								
Análises Laboratoriais					X	X	X					
Desdobramento dos dados e análise estatística								X				
Redação dos resultados									X	X		

**Meta 4: Execução do subprojeto:**

Antioxidantes e Ácidos Graxos Poliinsaturados no Leite.

ATIVIDADES	2008/2009											
	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Preparo das dietas		X										
Condução do experimento à campo			X	X	X							
Análises Laboratoriais						X	X					
Desdobramento dos dados e análise estatística								X				
Redação dos resultados									X	X		

**Meta 5: Realização de um Seminário**

ATIVIDADES	2008/2009											
	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Divulgação					X	X						
Organização/Realização							X	X				
Relatório									X			

**Meta 6: Execução dos subprojetos:**

Extrusão e/ou tratamento do grão de soja com lignosulfonato na produção, composição e qualidade do leite de vacas em pastagens de *Cynodon* e Grão de Girassol Extrusado e/ou Tratado com Lignosulfonato na Dieta das Vacas Leiteiras a Pasto: Produção, Composição e Qualidade do Leite.

ATIVIDADES	2008/2009											
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Preparo das dietas	X											
Condução do experimento à campo		X	X	X								
Análises Laboratoriais					X	X						
Desdobramento dos dados e análise estatística							X					
Redação dos resultados								X	X			

**Meta 7: Execução do subprojeto:**

Grão de Girassol Extrusado e/ou Tratado com Lignosulfonato na Dieta das Vacas Leiteiras Confinadas: Produção, Composição e Qualidade do Leite.

ATIVIDADES	2009/2010											
	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Preparo das dietas			X									
Condução do experimento à campo				X	X	X						
Análises Laboratoriais							X	X				
Desdobramento dos dados e análise estatística									X			
Redação dos resultados										X	X	

**Meta 8: Execução do subprojeto:**

Qualidade da Produção de Leite e da Manteiga com Vacas Mantidas em Pastagens de *Cynodon* e suplementadas com Grãos de Linhaça inteiros ou Extrusados com ou sem Monensina Sódica.

ATIVIDADES	2009/2010											
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Preparo das dietas	X											
Condução do experimento à campo		X	X	X								
Análises Laboratoriais					X	X						
Desdobramento dos dados e análise estatística							X					
Redação dos resultados								X	X			

### Meta 9: Finalização

ATIVIDADES	2009/2010					
	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Correções de artigos	X	X				
Encaminhamento de artigos			X			
Redação do Relatório Final				X	X	
Encaminhamento do Relatório Final						X