

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INCLUSÃO DE OKARA NA QUALIDADE DA SILAGEM DE
GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS E NA ALIMENTAÇÃO
DE RUMINANTES

Autor: Tamara Tais Tres
Orientador: Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho - 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INCLUSÃO DE OKARA NA QUALIDADE DA SILAGEM DE
GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS E NA ALIMENTAÇÃO
DE RUMINANTES

Autor: Tamara Tais Tres
Orientador: Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

“Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Pastagens e Forragicultura”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho - 2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**INCLUSÃO DE OKARA NA QUALIDADE DA SILAGEM
DE GRÃOS DE MILHO REIDRATADOS E NA
ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES**

Autora: Tamara Tais Tres
Orientador: Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Pastagens e
Forragicultura

APROVADA em 06 de julho de 2015.

Prof. Dr. Geraldo Tadeu
dos Santos

Prof. Dr. Magali Soares
dos Santos Pozza

Prof. Dr. Patrick Schmidt

Prof. Dr. Andréa Machado Groff

Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim
(Orientador)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

T796i Tres, Tamara Tais
Inclusão de okara na qualidade da silagem de grãos de milho reidratados e na alimentação de ruminantes / Tamara Tais Tres. - - Maringá, 2015.
80 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2015.

1. Silagem de grãos. 2. Nutrição animal - Ruminantes. 3. Produção de leite. I. Jobim, Clóves Cabreira, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Título.

CDD 22.ed.636.0852

MGC - 001833

“Somos do tamanho dos nossos sonhos!”

Fernando Pessoa

A Deus, por guiar meus passos.

À minha família, pelo apoio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá, por ter-me possibilitado desenvolver este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Ao Professor Clóves Cabreira Jobim, agradeço desde a primeira oportunidade em participar do GESF, e a todas as outras que impulsionaram meu crescimento pessoal e profissional nestes cinco anos de trabalho no grupo. Muito obrigada!

Aos Professores Antonio Ferriani Branco e Geraldo Tadeu dos Santos, que auxiliaram na condução dos experimentos, agradeço a ajuda para enriquecer esta Tese e a minha formação.

Ao Professor Robson Rossi e à Professora Eliane Gasparino, agradeço a contribuição na análise estatística e discussão sobre os dados.

Agradeço às professoras Paula Pinto e Magali Pozza, por estarem sempre dispostas a sanar dúvidas sobre as análises de laboratório.

Aos estagiários membros do GESF, Caio Feitosa, Rafael Novaes, Mateus Teixeira, Felipe Palombino, Marcelo Frota, Débora Candido dos Santos, Daisa Resende, Ellen Moreti, Fred Maschio, Leonan Lacotis e Leonardo Malavazi, por participar nas atividades de campo e laboratório. Agradeço a dedicação e o trabalho que eu vi em cada um de vocês durante a condução dos experimentos, agradeço também aos momentos de descontração que alegraram os dias cansativos de fazenda.

Ao grupo de pós graduandos do GESF, Antonio Bueno, Fernando Jacovaci, Viviane Gritti, Marcos Oliveira, Mateus Gonçalves, Mábio Silvan, Guilherme Leão, Tatiane Oliveira e Igor Carvalho. Agradeço o companheirismo, as discussões, a ajuda na condução dos experimentos, o bom convívio e a amizade de vocês.

Às colegas de laboratório, Paula Olivo, Jocasta Carraro, Francine Giotto, Silvia Letícia, Isabeli Kaneko e Eline Finco. Agradeço a agradável companhia de vocês no dia a dia, que fez com que nos tornássemos boas amigas.

Aos colegas de PPZ que contribuíram com a minha formação e que de alguma forma me ajudaram nesse percurso: Ivan Araújo, Leandro Castilha, Milene Osmari, Luciano Lima, Fábio Seiji dos Santos, Carol Vital, Erica Machado e Thomer Durman. Muito obrigada!

Às minhas companheiras de república, Mayra Vargas e Marcelise Fachinelo, agradeço aos bons dias de convívio, e em especial agradeço à Mayra pela ajuda na fazenda e nas análises de laboratório. Agradeço também aos amigos de república, Débora Candido dos Santos e Vinicius Vieira, que mesmo por pouco tempo me receberam com muita amizade. Agradeço as conversas e companhia de todos vocês.

Aos funcionários da fazenda Experimental da UEM, Wilson, Célio, Du, Vicente e Ezuperio. Agradeço a ajuda durante a condução dos experimentos.

Aos funcionários do laboratório de análises de alimentos e nutrição animal – LANA, Creuza Azevedo, Osvaldo e Augusto. Agradeço a ajuda durante a etapa de análises.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram na minha formação.

BIOGRAFIA DO AUTOR

TAMARA TAIS TRES, filha de Elia Gasparetto Tres e Ledovar José Tres, nasceu em Xanxerê, Santa Catarina, no dia 15 de dezembro de 1987.

Em julho de 2009, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Em 2010, foi bolsista de apoio técnico do CNPq – sob orientação do Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim.

Em março de 2011, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Pastagens e Forragicultura, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Conservação de Forragens.

No dia 23 de março de 2012, defendeu sua Dissertação, obtendo o título de Mestre em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2012, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Pastagens e Forragicultura, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos também na área de Conservação de Forragens.

Em 21 de maio de 2015, submeteu-se ao exame geral de qualificação.

No dia 06 de julho de 2015, submeteu-se à banca para defesa de Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
I – INTRODUÇÃO	1
1. A ensilagem de grãos de milho	2
2. Morfologia do grão de milho	4
3. Impactos da ensilagem na qualidade nutritiva dos grãos de milho	5
4. Reidratação e ensilagem de grãos de milho	6
5. Adição de alimentos na ensilagem de grãos de milho	6
5.1 <i>Soja</i>	7
5.2 <i>Okara</i>	8
6. Silagem de grãos de milho e desempenho de ruminantes	9
7. Produção e composição química do leite	12
7.1 <i>Perfil de ácidos graxos do leite</i>	13
Citação Bibliográfica	15
II - OBJETIVOS GERAIS	22
III - Valor nutricional e estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho com adição de okara, subproduto do processamento do grão de soja	23
Resumo	23
Abstract	23

Introdução	24
Material e Métodos	25
Resultados e Discussão	27
Conclusões	34
Referências	34
IV – Valor alimentício de grãos de milho reidratados e ensilados com a inclusão do subproduto okara ou da soja em grão no desempenho de vacas em lactação	41
Resumo	41
Abstract	41
Introdução	42
Material e Métodos	43
Resultados e Discussão	47
Conclusões	51
Referências	52
V - Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com silagem de grãos de milho com a adição de soja em grão ou okara	60
Resumo	60
Abstract	61
Introdução	61
Material e métodos	62
Resultados e discussão	69
Conclusões	71
Referências	72
VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS	80

LISTA DE TABELAS

	Página
III - Valor nutricional e estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho com adição de okara, subproduto do processamento do grão de soja	
Tabela 1. Composição química do okara (subproduto do processamento da soja) e do milho antes da ensilagem	38
Tabela 2. Composição nutricional (% da MS), pH, N – amoniacal (% do N total) e digestibilidade “in vitro” da matéria seca (DIVMS) de silagens de grãos de milho com adição de okara	38
Tabela 3. Produtos da fermentação de silagens de grãos de milho com adição de okara	39
Tabela 4. Estabilidade aeróbia das silagens de grãos de milho com adição de okara	39
IV – Valor alimentício de grãos de milho reidratados e ensilados com a inclusão do subproduto okara ou da soja em grão no desempenho de vacas em lactação	
Tabela 1. Composição química e percentual das dietas experimentais avaliadas	57

Tabela 2. Produtos da fermentação das silagens de grãos de milho avaliadas.....	56
Tabela 3. Estimativas Bayesianas para a ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade aparente dos nutrientes e nutrientes digestíveis totais (NDT), das dietas avaliadas	57
Tabela 4. Estimativas Bayesianas para os parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa alimentadas com dietas contendo silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos (GS)	57
Tabela 5. Estimativas Bayesianas para produção e composição do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dietas contendo silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos (GS)	58
Tabela 6. Estimativas Bayesianas para o perfil de ácidos graxos do leite (% do total da gordura do leite) de vacas da raça Holandesa alimentadas com dietas à base de silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos de milho (GS)	59
V. Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com silagem de grãos de milho com a adição de soja em grão ou okara	
Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais utilizadas	75
Tabela 2. Estimativas Bayesianas para ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade aparente ruminal e total dos nutrientes, nutrientes digestíveis totais (NDT), eficiência de síntese microbiana (Ef. Mic) e nitrogênio uréico do plasma (NUP) de bois da raça Holandesa alimentados com dietas à base de silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dietas à base de grãos secos de milho (GS)	76

Tabela 3. Estimativas (Média±DP) dos pontos críticos das regressões quadráticas ajustadas para valores de pH ruminal em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano para as dietas avaliadas	77
Tabela 4. Estimativas (Média±DP) dos pontos críticos das regressões quadráticas ajustadas para valores de N amoniacal (mg/dL) do rúmen em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano para as dietas avaliadas	77
Tabela 5. Estimativas Bayesianas (médias (desvios-padrão)) para os parâmetros dos modelos (1) e (2) para dados de degradabilidade in “situ” da matéria seca e da proteína bruta (MS e PB) com taxas de passagem, respectivamente, 2, 5 e 8% dos concentrados avaliados	77

LISTA DE FIGURAS

	Página
III - Valor nutricional e estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho com adição de okara, subproduto do processamento do grão de soja	
Figura 1. Valores observados de temperatura para as silagens de grãos de milho com adição de 0, 20, 30, 40 e 50% de okara durante a exposição aeróbia.....	40
Figura 2. Valores de pH observados para as silagens de grãos de milho com adição de 0, 20, 30, 40 e 50% de okara durante a exposição aeróbia	40
V. Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com silagem de grãos de milho com a adição de soja em grão ou okara	
Figura 1. Equações ajustadas do pH ruminal em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano, por dieta avaliada	78
Figura 2. Equações ajustadas do N amoniacal (mg/dL) no rúmen em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano, por dieta avaliada	78

- Figura 3.** Comparação entre as curvas de degradabilidade “in situ” da matéria seca ajustadas, respectivamente, para os concentrados com SGMO, SGMS e ração com GS 79
- Figura 4.** Comparação entre as curvas de degradabilidade “in situ” da proteína bruta ajustadas, respectivamente, para os concentrados com SGMO, SGMS e ração com GS 79

RESUMO

Três estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de okara em silagens de grãos de milho reidratados sobre as características fermentativas, nutricionais e estabilidade aeróbia das silagens, bem como sobre a produção, qualidade do leite e os parâmetros ruminais. No experimento I, foram avaliadas cinco quantidades (0, 20, 30, 40 e 50% com base na matéria seca) de inclusão do okara na silagem de grãos de milho reidratados. A ensilagem foi feita em silos experimentais de PVC (± 12 kg), arranjados em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Verificou-se diminuição do teor de MS com a inclusão do okara e aumento dos teores de FDN, FDA, PB e EE para as silagens avaliadas. Houve predominância de fermentação heterolática nas silagens com teor de ácido acético de 0,34 a 3,75% para 0 e 40% de adição do okara, respectivamente. Foram encontrados altos teores de ácido butírico com valores de 0,04 (20% de okara) a 2,48% (50% de okara) na matéria seca. As silagens com 30, 40 e 50% apresentaram-se mais estáveis, com tempo para a quebra da estabilidade de 99, 165 e 149 horas, respectivamente. A inclusão do subproduto okara na ensilagem de grãos aumenta o teor de PB e EE e a estabilidade aeróbia das silagens. No experimento II, foram utilizadas 6 vacas da raça Holandesa distribuídas em um duplo quadrado latino 3 x 3. Foram avaliados os seguintes tratamentos: concentrado formulado à base de silagem de grãos de milho com adição de 30% de okara na matéria seca (SGMO); concentrado com silagem de grãos de milho com adição de 20% de soja crua (SGMS) e concentrado à base de grãos secos de milho (GS), em uma proporção volumoso:concentrado de 60:40. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias, sendo os últimos cinco dias de cada período destinados à coleta de dados. A análise estatística foi realizada por meio de Inferência Bayesiana. As dietas formuladas com as

silagens diminuíram a ingestão de matéria seca em 2,13 kg e 1,78 kg, respectivamente, para SGMS e SGMO em relação à dieta com concentrado à base de grãos secos. Foi verificada maior digestibilidade para MS, MO, CNF e EE para as dietas com a inclusão da silagem de grãos. Não houve efeito na produção e na composição do leite. Houve aumento do CLA (cis 9 trans 11) para a dieta com SGMS (0,44%), que foi semelhante para a SGMO (0,37%) e para o concentrado com grãos secos (0,31%). O soja ou o okara adicionados na ensilagem de grãos de milho reidratados apresentam-se como alimentos mais eficientes que a ração com grãos secos de milho, não alteram a produção e a composição do leite. No experimento III, foram avaliados os mesmos tratamentos descritos no experimento II. Foram utilizados três novilhos da raça Holandesa distribuídos em delineamento quadrado latino 3 x 3. Foram avaliadas a digestibilidade dos nutrientes, também o nitrogênio ureico no plasma, a eficiência de síntese microbiana, pH e N-amoniaco do conteúdo ruminal, além da degradabilidade “in situ” da MS e da PB dos concentrados. A digestibilidade ruminal dos CNF e total do EE aumentou com a inclusão das silagens nas dietas. Não houve alteração para a digestibilidade dos demais nutrientes e para a eficiência de síntese microbiana. Houve efeito para o pH ruminal com menores valores estimados para o tratamento com SGMO (6,01), seguido do tratamento com SGMS (6,02) e do tratamento com GS (6,03). Os maiores teores de N-amoniaco foram verificados para os tratamentos com silagem de grãos. Os concentrados formulados à base de silagem de grãos com aditivos nutricionais aumentaram a fração A na avaliação da degradabilidade, e também a degradabilidade potencial. A substituição dos grãos secos da ração por silagem de grãos de milho com adição de soja ou okara demonstrou melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais.

Palavras chave: parâmetros ruminais, produção de leite, silagem de grãos, soja, subproduto da soja

ABSTRACT

Three studies were conducted in order to evaluate the effects of inclusion of okara in rehydrated corn grain silages on the fermentation characteristics, nutritional and aerobic stability of silage, as well as the production quality of milk and ruminal parameters. In the first experiment five amounts (0, 20, 30, 40 and 50% on a dry matter basis) of okara inclusion were evaluated in rehydrated corn grain silage. The silage was made in experimental silos of PVC (± 12 kg), arranged in a randomized design with four replicates. There was decreased dry matter (DM) content with the addition of okara and NDF, ADF, CP and EE increased for the evaluated silages. There was a predominance of heterolactic fermentation in the silages with acetic acid content of 0.34 to 3.75% for 0 and 40% of okara addition, respectively. High levels of butyric acid values were found, of 0.04 (20% okara) and 2.48% (50% okara) on a dry matter basis. The silage with 30, 40 and 50% had become more stable with time for breaking the stability of 99, 165 and 149 hours, respectively. The inclusion of by-product okara in grain silage increases the CP and EE values and aerobic stability of silage. In the second experiment 6 Holstein cows were distributed in a double latin square 3 x 3. We evaluated the following treatments: concentrate formulated based on grain corn silage with addition of 30% of okara in dry matter (SGMO); concentrate with corn grain silage with added 20% raw soybean (SGMS) and concentrate based on dried corn (GS), in a forage: concentrate ratio of 60:40. The experimental periods lasted 21 days and the last five days of each period was used for data collection. Statistical analysis was performed by means of Bayesian Inference. Diets formulated with silage decreased ingestion of dry matter in 2.13 kg and 1.78 kg for SGMS and SGMO respectively, when compared to diet with concentrated on a dry grain basis. Higher digestibility for DM, OM, NFC and EE for diets with the inclusion of grain silage was found. There was no effect on milk production and composition. An increase of CLA (cis 9 trans 11) for SGMS diet

(0.44%) was similar to the SGMO (0.37%) and concentrated with dry grains (0.31%). The rehydrated corn grain silage with added soybean or by-product okara retains the better feed efficiency that the diet with dried corn without changing the milk production and composition. In the experiment III the same treatments described in experiment II were evaluated. For that we used three Holstein steers distributed in 3 x 3 latin square design. The digestibility of nutrients, urea nitrogen plasma, efficiency of microbial synthesis, pH and ammonia-N of rumen contents were evaluated, besides the degradability *in situ* of DM and CP concentrates. The ruminal digestibility of NFC and total EE increased with the inclusion of silage in the diet. There was no change on digestibility of other nutrients and microbial efficiency. There was effect on ruminal pH with values estimated for the treatment SGMO (6.01) followed by treatment with SGMS (6.02) and treatment with GS (6.03). The largest N-ammonia levels were checked for the treatments with silage grain. Concentrates formulated based on silage have increased nutritional fraction A in the evaluation of degradability, and also potential degradability. The replacement of dry grain ration of corn grain silage with added soy or okara demonstrate better use of nutrients for animals.

Keywords: soybean by-product, grain silage, milk production, ruminal parameters, soybean

I – INTRODUÇÃO

O milho é um dos cereais mais utilizados na nutrição animal devido à sua qualidade nutritiva e seu alto potencial produtivo. Com a finalidade de melhorar seu aproveitamento, o milho pode ser processado, e desta forma aumentar a disponibilidade de energia para os ruminantes (Huntington et al., 2006).

Tem sido demonstrado que os processamentos mais intensos como a ensilagem do grão úmido (Hoffman et al., 2011; Panichi et al., 2012) e a floculação (Zinn et al., 2002) promovem maior eficiência alimentar que a simples moagem dos grãos.

Esta maior eficiência alimentar de grãos ensilados é atribuída à proteólise que ocorre no silo por enzimas microbianas na matriz proteica, envolvendo os grânulos de amido, que apresenta efeito positivo sobre a digestibilidade do amido (Defoor et al., 2006; Silva, 2012; Fernandes, 2014). De acordo com Jobim et al. (2009), a ensilagem, além de melhorar a conversão alimentar em relação aos grãos secos, destaca-se pelo menor custo de produção (entre 7 e 15%), que é determinado pela eliminação de etapas como transporte do milho para os silos graneleiros, limpeza, secagem, expurgo e diminuição das perdas devido à quebra dos grãos.

A silagem de grãos reidratados é a tecnologia em que o grão é colhido em estágio completo de maturidade, processado por moagem, reidratado e ensilado, o que permite flexibilizar e viabilizar as limitações ligadas à falta de equipamentos eficazes para colher o milho com alta umidade, como atrasos de colheita, adversidades climáticas ou a impossibilidade de produção de grãos na propriedade (Arcari, 2013).

A ensilagem de grãos de milho combinada com alimentos que elevem o valor nutricional, especialmente no que se refere ao teor de proteína bruta e energia, desperta interesse, já que pode disponibilizar uma silagem com valor nutricional semelhante aos concentrados comerciais (Jobim et al., 2010a). Trabalhos já demonstram resultados positivos com a utilização da mistura milho e soja em grãos para a ensilagem, com

aumento nos teores de nutrientes sem interferir na qualidade de fermentação dos grãos durante o processo de ensilagem (Jobim et al., 2008; Jobim et al., 2010b; Tres et al., 2014).

1. A ensilagem de grãos de milho

O processo de ensilagem de grãos segue as mesmas etapas da ensilagem de planta inteira, que, de acordo com McDonald et al. (1991), pode ser dividido em quatro fases: a primeira, chamada de fase aeróbia, acontece no momento do enchimento do silo com processos de respiração e proteólise. A segunda é a fase fermentativa, com a atividade microbiana conservando o material pela queda do pH e aumento do teor de ácido láctico. A terceira fase ocorre com a estabilização do material ensilado e se caracteriza pela baixa atividade biológica. E a quarta fase é caracterizada pela abertura dos silos, e a exposição aeróbia do material.

De acordo com Jobim & Nussio (2013) e McDonald et al. (1991), na fase fermentativa, com a redução do O₂ ocorre o desenvolvimento de microrganismos anaeróbicos, como as bactérias acidoláticas (BAL), que transformam açúcares em ácido láctico, ácido acético, etanol, gás carbônico e outros produtos secundários, pelo processo fermentativo. As BAL podem ser divididas em duas categorias, as homofermentativas (ex. *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*) e as bactérias heterofermentativas (ex. *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* e *Leuconostoc mesenteroides*), sendo as homofermentativas mais eficientes na produção de ácido láctico do que as heterofermentativas.

Quando o substrato não é limitante, as BAL dominam a fermentação, produzindo ácido láctico e acidificando a silagem até o pH suprimir o seu crescimento, que resulta na estabilidade da silagem. Contudo, se o substrato tornar-se limitante ou a taxa de fermentação for lenta, as enterobactérias e clostrídeos podem se desenvolver, reduzindo o valor nutritivo da silagem (Jobim & Nussio, 2013).

Clostridium são um grupo de bactérias indesejáveis que se desenvolvem em silagens úmidas, sob condições anaeróbicas. A contaminação pode ser devido à sua presença na cultura e principalmente a contaminação com o solo. Seu crescimento é estimulado pela elevação da temperatura no interior do silo, baixo teor de matéria seca

da forragem ensilada, baixo teor de carboidratos solúveis e alta capacidade tampão da cultura (Pahlow et al., 2003).

Na literatura (McDonald et al., 2011; Jobim & Nussio, 2013), frequentemente o gênero *Clostridium* é dividido em três grupos: Clostrídeos sacarolíticos, proteolíticos e sacaroproteolíticos. Os clostrídeos sacarolíticos (ex.: *Clostridium butyricum* e *C. tyrobutyricum*) fermentam ácido láctico e carboidratos solúveis a ácido butírico, que resulta em perdas de matéria seca e aumento do pH, apresentando impactos negativos sobre a qualidade nutricional da silagem, pois competem com as bactérias ácido-láticas pelos carboidratos solúveis. Clostrídeos proteolíticos (ex.: *C. bifermentans* e *C. sporogenes*) fermentam principalmente aminoácidos para vários produtos como ácidos butírico e acético, aminas e amônia. Já os Clostrídeos sacaroproteolíticos (ex.: *C. sporogenes*, *C. perfringens*) são aqueles que fermentam ambos, açúcares e aminoácidos.

O pH no qual a atividade dos clostrídeos cessa está na dependência da atividade da água, relacionada ao teor de matéria seca da silagem. Isto está ligado ao fato de que os clostrídeos são sensíveis ao aumento na pressão osmótica. O pH de 4,2 é geralmente considerado o necessário para inibir seu crescimento, entretanto, em culturas muito úmidas, o valor de pH de 4,0 pode não inibir sua atividade (McDonald et al., 2011). Esse tipo de fermentação resulta em significativas perdas de matéria seca e redução da aceitabilidade pelos animais, além de diminuir a estabilidade aeróbia da silagem.

Durante a fase de estabilidade aeróbia, considerada por McDonald et al. (1991) a quarta fase do processo de ensilagem, com a exposição do material ao O₂, podem ocorrer perdas nutricionais pela ação de microrganismos aeróbios que consomem açúcares, produtos de fermentação (ácidos lácticos e acéticos) e outros nutrientes solúveis na silagem. Além das perdas de matéria seca e de valor nutricional, a deterioração aeróbia também pode apresentar efeitos na qualidade higiênica das silagens com risco de proliferação de microrganismos indesejáveis ou patogênicos, como os fungos, bacilos, *Listeria monocytogenes*, dentre outros, que podem acumular suas toxinas na silagem com efeitos negativos sobre a saúde animal e humana (Borreani & Tabacco, 2010; Cheli et al., 2013).

2. Morfologia do grão de milho

O grão de milho é constituído por três partes morfológicas básicas: pericarpo, endosperma e germen, as quais diferem em composição química e também na organização dentro do grão. O endosperma representa aproximadamente 75 a 80% do grão e contém principalmente amido e proteínas de armazenamento (albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas) (Hoffman & Shaver, 2011).

O amido contém dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina. A amilose consiste de cadeias longas, com pequeno número de ramificações, constituída de unidades de D-glicose conectadas por ligações α 1,4. Na amilopectina as ligações glicosídicas encontradas entre as unidades de glicose são α 1,4, mas nos pontos de ramificação (cerca de 1 a cada 24 a 30 unidades) são constituídos de ligações α 1,6 (Lehninger et al., 2006). As proporções destes polissacarídeos (amilose e amilopectina) variam com a espécie e maturidade, com a amilose contribuindo de 0 a 20% do total do amido (Huntington, 1997).

Os grânulos de amido são pseudo cristais que possuem áreas organizadas (cristalinas) e relativamente não organizadas (amorfas). As áreas cristalinas são mais resistentes à entrada de água e ao ataque enzimático e responsável pela birrefringência do grânulo. A região amorfa é menos densa e onde se inicia o ataque das amilases, enquanto a hidrólise da região cristalina ocorre mais lentamente (Rooney & Pflugfelder, 1986). Grãos classificados como duros têm maior proporção de endosperma vítreo, e são negativamente correlacionados com a degradabilidade ruminal do amido em vacas de leite (Lopes et al., 2009; Hoffman & Shaver, 2011). De acordo com Cruz et al. (2014), entre as 467 cultivares de milho disponibilizadas para comercialização na safra 2013/2014 no Brasil, aproximadamente 20% eram grãos duros, 56% de semiduros 16% de grãos semidentados e 6,4% de grãos dentados.

Fernandes (2014) avaliou dois tipos de grãos e verificou maior concentração de proteínas prolaminas para o híbrido duro, e que elas aumentaram conforme a maturidade, com uma alta relação entre vitreosidade e a concentração de proteínas prolaminas. As prolaminas – zeínas compreendem quatro grupos estruturalmente distintos: alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ) zeínas. No milho representam de 30 a 60% do total das proteínas do grão, e com o avançar da maturação, ligam-se de forma a encapsular o amido em uma matriz de proteínas hidrofóbicas. No ambiente ruminal,

essas proteínas precisam ser hidrolisadas por microrganismos para que possa ocorrer a degradação do amido à glicose, assim, a matriz proteína-amido no milho tem sido definida como um impedimento para a digestão do amido em ruminantes (Hoffman & Shaver, 2011).

3. Impactos da ensilagem na qualidade nutritiva dos grãos de milho

Hoffman et al. (2011) monitoraram alterações na matriz proteica do grão de milho úmido ensilado com dois teores de umidade (25,5 e 29,3%) durante 0, 15, 30, 60, 120 e 240 dias de ensilagem, e constataram que com o tempo de fermentação de 240 dias houve redução de todas as subunidades de α , γ , δ e β zeínas. A degradação das γ zeínas foi mais extensiva, devido ao tempo de ensilagem, chegando a 73%. Elas estão localizadas na superfície dos grânulos e são as principais responsáveis pela ligação amido – proteína.

Quando grãos de milho com endosperma vítreo ou farináceo são ensilados, as proteínas prolaminas presentes na matriz proteica são degradadas, aumentando a disponibilidade dos grânulos de amido e a degradação ruminal deste nutriente. Observa-se que a degradabilidade ruminal do amido é correlacionada negativamente com a concentração de proteínas prolaminas e positivamente com teores de proteína solúvel e nitrogênio amoniacal, e que o efeito do genótipo (grãos duros ou farináceos) e da maturidade (grão úmido ou grão seco reidratado) na degradabilidade ruminal do amido foram superados por tempos de ensilagem superiores a 60 dias (Fernandes, 2014).

Com o aumento do tempo de ensilagem, Arcari (2013) verificou na silagem de grãos de milho reidratados elevação na concentração de todos os principais ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, láctico) e álcool, que são produtos da fermentação. A curva de produção de ácidos orgânicos ao longo de período de ensilagem indicou que houve atividade contínua dos microrganismos fermentadores. Na avaliação da degradabilidade, o autor verificou que com o aumento do tempo de ensilagem houve aumento da fração A da matéria seca (rapidamente degradada no rúmen) e redução da fração B (fração lentamente degradável no rúmen). Esse resultado sugere um efeito deaminador proveniente da atividade microbiológica contínua na massa ensilada, além de um efeito de solubilização das proteínas do endosperma pelos ácidos orgânicos.

A ensilagem de grãos de milho e também de sorgo reidratados apresenta na literatura resultados positivos no desaparecimento ruminal da matéria seca e da proteína bruta quando comparada aos grãos secos, e normalmente este efeito está associado à hidrólise enzimática de proteínas, amido e outros carboidratos que ocorre decorrente da alta umidade de armazenamento dos grãos (Reis et al., 2013; Silva et al., 2014).

Estes resultados enfatizam o potencial do armazenamento dos grãos na forma de ensilagem no sentido de melhorar a degradabilidade ruminal do amido e conseqüentemente melhorar o aproveitamento dos nutrientes pelos ruminantes.

4. Reidratação e ensilagem de grãos de milho

A ensilagem de grãos úmidos de milho consiste na colheita dos grãos logo após a maturação fisiológica (formação da linha negra), ocasião em que se verifica teor de umidade em torno de 28 a 35% (Jobim et al., 2010a). Dentre as suas principais vantagens está a antecipação da colheita, o que permite liberar a área para a semeadura da cultura subsequente, otimizando o uso da terra; e também a redução das perdas a campo por condições climáticas adversas, ataque de insetos e fungos.

Já a reidratação consiste em devolver ao grão já seco (85 - 90% de MS) a umidade adequada para que o mesmo seja fermentado no silo, em torno de 30 – 35% de umidade. Esta técnica permite reduzir problemas com o pequeno intervalo para colheita do grão úmido, além de beneficiar produtores que não possuem equipamento ou área para cultivo do milho, e também como forma de armazenar os grãos na fazenda em períodos onde as condições de mercado estão favoráveis para a compra de grãos secos.

5. Adição de alimentos na ensilagem de grãos de milho

De acordo com Jobim & Reis (2001), uma desvantagem da utilização da ensilagem de grãos é a necessidade de mistura diária dos ingredientes para composição da dieta. Com a combinação de alimentos que elevem o valor nutricional, especialmente no que se refere ao teor de proteína bruta e energia, pode-se dispor de uma silagem de grãos com valor nutricional semelhante ao dos concentrados comerciais (Jobim et al., 2009), sem interferir na qualidade de fermentação durante o processo de ensilagem (Jobim et al., 2008).

5.1 Soja

A produção brasileira de soja na safra 2013/2014 foi de 85 milhões de toneladas, sendo o Brasil o segundo país de maior produção de soja em grãos, responsável por 29,8% da produção mundial (CONAB, 2013). O grão de soja é composto por alto teor de proteína (33,24 a 34,74%), lipídios (21,72 a 22,54%) e fibra bruta (26,64 a 27,13%) na matéria seca (Gonçalves et al., 2014).

De acordo com Peñalvo et al. (2004), o grão de soja e seus subprodutos estão entre os alimentos funcionais, por possuírem elevado percentual de ácidos graxos insaturados (em torno de 80% do total de lipídeos do grão). Entretanto, existe alteração no perfil dos principais ácidos graxos da soja em função do cultivar, sendo encontrados valores médios de 9,9 a 12,4% para o ácido palmítico, de 3,1 a 4,0% para o ácido esteárico, 21,7 a 28,3% para o ácido oleico, 44,3 a 56,2% para o ácido linoleico e de 6,0 a 8,2% para o ácido linolênico (VanToai et al., 2012).

A soja destaca-se também por possuir na sua constituição as isoflavonas, fitoestrógenos que possuem efeitos benéficos como mimetizadores de estrógenos, ação antioxidante e atividade anticancerígena. Na planta, as isoflavonas desenvolvem-se durante a fase de enchimento dos grãos (35 dias após florescimento), possuem diversas funções, entre elas a de proteção contra patógenos, resistência a artrópodes, nematoides e efeito antibacteriano (Santos, 2013). No entanto, o processamento térmico, hidrólise enzimática e fermentação podem alterar significativamente a distribuição dos componentes de isoflavonas na soja (Jackson et al., 2002). Suas concentrações também variam com as condições ambientais de cultivo da soja e com os diferentes cultivares, com valores de 82 a 865 mg/100 g (Panizzi et al., 1998; Gonçalves et al., 2014).

Na alimentação de vacas leiteiras, Vargas et al. (2002) avaliaram a adição de grãos de soja em 23% da ração total com um teor de extrato etéreo na dieta de 7%, e verificaram redução na ingestão de matéria seca na ordem de 20%, sem no entanto afetar a produção e a composição do leite.

A inclusão da soja em 20% na ensilagem de grãos úmidos de milho na alimentação de vacas em lactação não alterou a produção e composição química do leite (Tres et al., 2014).

A soja em grão pode ser utilizada em combinação com os grãos de milho na ensilagem, já que é um alimento rico em proteína, além de ser considerada boa fonte de

energia devido ao seu elevado teor de óleo. Paralelamente, em determinados períodos do ano, a soja apresenta-se disponível a preços mais acessíveis que o próprio farelo desengordurado, e pode tornar-se uma fonte de proteína de baixo custo, quando produzida na própria fazenda (Jobim et al., 2009).

5.2 Okara

O okara é o resíduo do processamento da soja para obtenção do extrato aquoso e do tofu. Nesse processo, os grãos de soja são lavados e macerados, posteriormente moídos e aquecidos (100° por cinco minutos) para, então, passarem por filtração que separa o extrato aquoso de seu subproduto (Lescano & Tobinaga, 2004). O okara apresenta boa qualidade nutricional e baixo custo, e pode ser utilizado como matéria-prima para alimentação humana e animal (Bowles & Demiate, 2006).

Quando se produz o extrato hidrossolúvel de soja, cerca de 3 a 5% da matéria seca é extraída, ou seja, a maior parte dos nutrientes permanece no subproduto da soja, que é o okara (Perussello, 2008). Como o processo de extração envolve uma etapa de moagem úmida da soja, o resíduo é constituído de uma massa com cerca de 72% de umidade. São gerados grandes volumes de resíduos sólidos, o que o torna difícil de manusear e eleva o custo de secagem (Cuenca et al., 2008). O destino dos produtos do processamento da soja representa um importante problema para a indústria, mas também são promissoras fontes de nutrientes que podem ser utilizados na alimentação humana e animal, devido à possível fonte de compostos funcionais (Aparicio et al., 2010a).

A composição química do okara depende dos procedimentos utilizados para a extração do extrato hidrossolúvel e da diferença entre cultivares de soja utilizadas (Cuenca et al., 2008; Pauletto & Fogaça, 2012). Vargas (2013) encontrou composição de: 12,67% de fibra em detergente neutro; 12,16% de fibra em detergente ácido; 35,64% de proteína bruta e 21,5% de lipídeos. Já Aparicio et al. (2010b) verificaram teores de proteína de 28,5 a 33,4%, de gordura de 9,8 a 19,8% e de cinzas de 3,5% com base na matéria seca.

Ma et al. (1997) verificaram valores menores de proteína bruta para o okara (26,8%), mas com bom perfil de aminoácidos essenciais, tendo como limitantes a metionina e a cistina. Durante o processamento do extrato aquoso de soja, os

tratamentos térmicos podem causar desnaturação da proteína e a proteína do okara pode apresentar-se com baixa solubilidade, o que limita a sua incorporação no sistema alimentar. Entretanto, a solubilidade e outras propriedades funcionais de produtos da proteína de soja podem ser melhoradas por modificações químicas como, por exemplo, a deaminação por hidrólise ácida, devido à ruptura de ligações peptídicas que podem resultar em maior exposição de grupos polares para a água circundante, e conseqüentemente aumento da sua solubilidade (Chan & Ma, 1999).

Quanto à fração lipídica do okara, em avaliação realizada por Aparicio et al. (2010a), o teor encontrado foi de 18 a 22%, sendo que destes, 17% eram de ácidos graxos saturados e a maior parte composta pelos ácidos graxos insaturados linoleico (54% do total) e linolênico (8,8%).

Trabalhos descritos na literatura científica têm demonstrado que a concentração e o perfil das isoflavonas podem ser alterados pelos diferentes tratamentos aplicados à soja na obtenção de diferentes produtos. Jackson et al. (2002) concluíram que aproximadamente um terço do conteúdo de isoflavonas da soja é transferida ao okara, com valores para a soja de 720 mg/g e do okara de 220 mg/g.

A maior barreira para o uso da okara em alimentos é a sua rápida degradação. Quando não-refrigerado, o okara fermenta em cerca de 8 horas, impossibilitando seu consumo para humanos. Deve-se, portanto, utilizar o produto imediatamente após a sua obtenção. Porém, devido aos grandes volumes gerados, a utilização imediata do okara em grandes plantas de fabricação de extrato hidrossolúvel de soja nem sempre é possível, sendo a melhor solução o seu processamento, possibilitando seu uso não-imediato (Perussello, 2008).

6. Silagem de grãos de milho e o desempenho de ruminantes

A fermentação do amido no rúmen depende de vários fatores, dentre os quais estão a textura do endosperma dos grãos de milho, seu processamento e o nível de ingestão associado à cinética ruminal (Donkin, 2014). O aumento da degradabilidade ruminal do amido tem se mostrado vantajoso no sentido de maximizar a capacidade fermentativa no rúmen, aumentando a síntese de proteína microbiana e a produção de AGV, particularmente o ácido propiônico, o principal precursor gliconeogênico em ruminantes. O resultado pode ser maior fluxo líquido de energia na veia porta, aumento na síntese de glicose pelo fígado e maior disponibilidade de aminoácidos para a síntese

de proteína nos tecidos musculares de bovinos de corte ou na glândula mamária de vacas leiteiras (Huntington, 1997).

A maior parte da digestão do amido ocorre no rúmen (55-85%), seguido pelo intestino delgado (15-25%), com a fração indigestível podendo variar de 0 – 20% do amido consumido (Giuberti et al., 2014). O processo de ensilagem pode aumentar a degradação do amido no rúmen, devido possivelmente aos ácidos produzidos durante a fase de fermentação anaeróbica ou a proteólise bacteriana que degrada as proteínas – prolaminas durante a ensilagem e deixa os grânulos de amido mais susceptíveis à degradação ruminal (Hoffman & Shaver, 2011). O aumento da degradabilidade do amido pode diminuir a degradação da fibra, e a razão acetato: propionato. No entanto, as respostas não são consistentes em todos os estudos (Huntington et al., 2006).

O amido que escapa da fermentação ruminal pode ser digerido no intestino delgado e absorvido como glicose ou então ser fermentado no intestino grosso a ácidos graxos voláteis, CO₂, metano, calor e proteína bacteriana (Donkin, 2014). A absorção e metabolismo de glicose no intestino delgado parecem ser mais eficientes energeticamente do que a fermentação e absorção de ácidos orgânicos no rúmen (Huntington, 1997). Entretanto, estudos indicam limitação na digestão do amido no intestino delgado devido à falta de atividade adequada da amilase pancreática (Huntington et al., 2006). Também devido à presença de inibidores dessas enzimas, da capacidade limitada de absorção de glicose secretada pela digestão do amido, do tempo insuficiente para a hidrólise completa do amido ou ainda devido à proteção física conferida pela matriz proteica (Antunes & Rodriguez, 2006).

Estudos demonstram que mais proteína disponível para a digestão no intestino delgado significa maior secreção de enzimas digestivas pelo pâncreas, incluindo as responsáveis pela digestão do amido. Sendo assim, nota-se um duplo benefício de digestão ruminal do amido: o aumento da produção de proteína microbiana no rúmen e o aporte deste tipo de proteína ao intestino delgado (Huntington, 1997).

Ao avaliar a silagem de grão úmido de milho com diferentes volumosos para tourinhos em terminação, Henrique et al. (2007) verificaram que o milho úmido não diferiu do milho seco quanto à ingestão de matéria seca e ao ganho de peso corporal, mas foi superior ($P < 0,01$) em 9,7% para a eficiência alimentar (ganho de peso/consumo de matéria seca), com a utilização da silagem de grãos de milho úmido. Reis et al. (2001) também encontraram melhor desempenho de cordeiros que receberam silagem de grãos de milho reidratado ou silagem de grãos úmidos de milho quando comparado

ao milho grão seco. Na alimentação de vacas leiteiras, alguns trabalhos não relatam diferença para a produção e composição do leite, mas de uma forma geral, a silagem de grãos mostra-se mais eficiente devido ao melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta total (Canizares et al., 2011; Panichi et al., 2012).

Na avaliação de níveis de substituição dos grãos secos de milho moídos por grãos de milho reidratados e ensilados para vacas leiteiras, Arcari (2013) verificou aumento linear na digestibilidade dos nutrientes com o aumento da inclusão de silagem de grãos reidratados na dieta, com aumento de 8% na digestibilidade do amido e de 2,31 kg na produção de leite, devido à maior disponibilidade de nutrientes e ao aumento da energia disponível para a produção de leite.

Bitencourt (2012) também encontrou aumento na digestibilidade da matéria orgânica com a substituição de grãos secos da dieta por grãos reidratados e ensilados. Este autor verificou queda no teor de N ureico no leite em vacas alimentadas com silagem de grãos de milho reidratados. Isso sugere que a ensilagem dos grãos foi mais efetiva em suprir carboidratos fermentáveis simultaneamente à degradação ruminal da proteína oriunda do farelo de soja, a fonte prevalente de nitrogênio dietético, otimizando a utilização dos nutrientes da dieta.

Alguns estudos com a utilização dos grãos de milho na forma de ensilagem têm demonstrado que com o aumento na proporção do amido sendo fermentado no rúmen, pode ocorrer significativa depressão da ingestão de alimentos (Allen, 2000; Bradford & Allen, 2007), sendo o consumo de matéria seca em função tanto do tamanho como da frequência de refeições, determinados pela saciedade e fome, e as respostas à ingestão de amido variáveis entre vacas (Allen, 2000). O aumento no teor de propionato com a inclusão de silagens de grãos de milho na dieta de vacas em lactação reflete da maior digestibilidade do amido quando comparada com o grão moído (Krause et al., 2002). Observa-se diminuição da ingestão em vacas leiteiras com a infusão intra-ruminal de propionato (Oba & Allen, 2003).

De acordo com Allen et al. (2009), a queda de consumo pode ser explicada pela Teoria da Oxidação Hepática. Com a maior fermentabilidade do amido da dieta, aumenta a produção de ácidos graxos voláteis por unidade de matéria orgânica fermentada no rúmen e a proporção de propionato dentre os AGV absorvidos. O propionato, assim como os ácidos graxos não esterificados, são substratos extensivamente utilizados pelo fígado de ruminantes. A oxidação desses substratos regula a ingestão de alimentos por meio de sinais enviados do fígado para o cérebro. Se

o fluxo de propionato para o fígado ultrapassa a capacidade de gliconeogênese, o propionato será oxidado. O propionato pode ser oxidado no ciclo do ácido tricarbóxico, bem como estimular a oxidação de acetil CoA derivado de outros metabólitos. A oxidação do propionato durante a ingestão aumenta o status energético hepático, gerando um sinal de saciedade para terminar a refeição.

7. Produção e composição química do leite

A composição média do leite de vacas é de 3,7% de gordura, 3,4% de proteína, 4,8% de lactose, 1,2% de cálcio, 0,9%, fósforo (McDonald et al., 2011). Dentre os componentes do leite, o teor de gordura é o que pode variar mais em concentração e composição (Palmquist, 2006) em função da alimentação, de modo geral, diminuindo com o aumento no volume de produção (Buccioni et al., 2012). Alterações no teor de gordura podem informar sobre a fermentação no rúmen, as condições de saúde da vaca e funcionamento do manejo alimentar (Lock et al., 2006).

Durante a lactação, a glândula mamária tem grande necessidade de glicose, que é utilizada principalmente na formação da lactose. A quantidade total de lactose sintetizada no úbere está intimamente associada com a quantidade de leite produzida por dia. A concentração de lactose no leite é relativamente constante e a água é adicionada à lactose até que sua concentração seja cerca de 4,5%. Portanto, a produção de leite de uma vaca é fortemente influenciada pela quantidade de glicose que pode ser produzida pelo propionato ruminal.

As principais proteínas do leite bovino incluem caseína, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, soroalbumina e imunoglobulinas. A caseína (α , β , e κ - caseínas) constitui aproximadamente 76 – 86% da proteína do leite. Da fração de nitrogênio não-proteico (NNP), a maior parte, em torno de 48%, é ureia, que passa livremente da corrente sanguínea para a glândula mamária (DePeters & Cant, 1992). As proteínas são sintetizadas por células epiteliais na glândula mamária, a partir de aminoácidos extraídos do sangue, sendo os aminoácidos considerados como mais importantes para síntese de proteína na glândula mamária a lisina e a metionina. Albuminas e imunoglobulinas são transferidas do sangue para o leite (Bionaz et al., 2012).

7.1 Perfil de ácidos graxos do leite

A gordura do leite consiste predominantemente de triglicerídeos (acima de 95%), dos quais em torno de 70% são ácidos graxos saturados, 25% monoinsaturados e apenas 2 a 5% poli-insaturados (Bauman & Griinari, 2003; Elgersma et al., 2006). Dentre os ácidos graxos saturados do leite o predominante é o ácido palmítico e entre os insaturados consiste principalmente em oléico, com pequenas contribuições do ácido linoléico e linolênico (McDonald et al., 2011).

Cerca de 50% dos ácidos graxos (AG) do leite são sintetizados na glândula mamária (GM), 40-45% é de origem dietética, e o restante provém do tecido adiposo (Palmquist & Jenkins, 1980). Ácidos graxos de cadeia curta (4 a 8 carbonos) e de cadeia média (10 a 14 carbonos) originam-se em maior parte devido à síntese *de novo*, tendo o acetato como maior fonte de carbono na síntese de gordura. Ácidos graxos de cadeia longa (> 16 carbonos) são obtidos dos lipídeos circulantes, e ácidos graxos de 16 carbonos originam-se de ambas as formas (Bauman & Griinari, 2003).

A síntese *de novo* tem como precursores o acetato e o β hidroxibutirato no citoplasma das células epiteliais da glândula mamária via malonil-CoA. Para a síntese de AG no leite, são necessários fontes de carbono e o equivalente redutor na forma de NADPH + H⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida). Em ruminantes, o acetato e o β hidroxibutirato são as principais fontes de carbono utilizadas, derivadas da circulação sanguínea. Para ser ativado, o acetato é convertido em acetil - CoA pela ação da enzima acetil - CoA sintetase. A conversão de acetil - CoA para malonil - CoA é catalizada pela acetil - CoA carboxilase. Inicialmente usando acetil CoA como substrato, a ácido graxo sintetase catalisa uma sequência de reações, com a adição de dois carbonos derivados do malonil CoA para a elongação da cadeia. Cada ciclo requer duas moléculas de NADPH, gerado da oxidação da glicose via ciclo da pentose fosfato e oxidação do isocitrato por isocitrato desidrogenase. A acil transferase está envolvida na terminação da cadeia de AG a serem incorporados na gordura do leite (Palmquist, 2006).

De acordo com Dewhurst et al. (2006), a maior proporção de AG saturados se deve à biohidrogenação microbiana no rúmen, sendo que os ácidos graxos C12:0; C14:0; C16:0, são os principais, e têm sido associados ao aumento do colesterol total e do LDL (*low density lipoprotein* - lipoproteína de baixa densidade) em humanos. O

ácido esteárico (C18:0) é considerado como neutro. O ácido oleico (C18:1) como o de maior teor dos AG monoinsaturados, os ácidos linoleico (C18:2) e o linolênico (C18:3) são os principais AG poli-insaturados do leite, mas presentes em menor quantidade.

A gordura do leite é a principal fonte alimentar de CLA (ácido linoleico conjugado), sendo que este tem importantes propriedades benéficas à saúde. Os isômeros de maior interesse são o cis 9 trans 11 - CLA e o cis 10 trans 12 - CLA, sendo que o isômero cis 9 trans 11 pode representar de 75 a 90% do total de CLA encontrado no leite (Bauman et al., 2008). Esses apresentam efeito benéfico na saúde humana como um potente anticarcinogênico natural, efeito na redução das doenças como obesidade, diabetes do tipo II, efeito positivo na modulação do sistema imune e na redução do desenvolvimento da aterosclerose humana, por diminuir a concentração plasmática de LDL e do colesterol total (Bauman et al., 2006; De Holanda et al., 2011).

Segundo dados revisados de Kalac & Samkova (2010), alterações em termos de gordura no leite podem ocorrer devido ao consumo de alimentos, composição da dieta e estágio de lactação, sendo que a inclusão de ácidos graxos poli-insaturados e de forragem verde nas dietas resultam em altas concentrações de ácido oléico, vacênico e CLA no leite.

Fica evidente que a dieta oferecida aos ruminantes exerce influência marcante sobre a qualidade do leite que será destinado ao consumidor. Estudos com alimentos alternativos como okara podem demonstrar além de um destino ambientalmente correto para este produto um alimento final de alta qualidade, visando um mercado cada vez mais competitivo e preocupado com a produção animal sustentável.

Citação Bibliográfica

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

ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J.; OBA, M. Board – invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v.87, p.3317-3334, 2009.

ANTUNES, R.C.; RODRIGUEZ, N.M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.229-253.

APARICIO, I.M.; CUENCA, A.R.; SUÁREZ, M.J.V.; REVILLA, M.A.Z.; SANZ, M.D.T. Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. **Food Science and Technology**, v.43, p.1467-1470, 2010a.

APARICIO, I.M.; PEINADO, C.M.; ESCRIG, A.J.; RUPÉREZ, P. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.245-250, 2010b.

ARCARI, M.A. **Produção, composição, consumo e digestibilidade em vacas recebendo milho reidratado e ensilado com silagem de cana de açúcar como volumoso**. 2013. 98p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Pirassunga.

BAUMAN, D.E.; GRINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203-227, 2003.

BAUMAN, D.E.; MATHER, I.H.; WALL, R.J.; LOCK, A.L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1235-1243, 2006.

BITENCOURT, L.L. **Substituição de milho moído por milho reidratado e ensilado ou melaço de soja em vacas leiteiras**. 2012. 131p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BIONAZ M.; HURLEY, W.; LOOR, J. **Milk protein synthesis in the lactating mammary gland: Insights from transcriptomics analyses**. 2012. Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/38826.pdf>> . Acesso em Janeiro de 2015.

BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico- química de okara e aplicação em pães do tipo Francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.652-659, 2006.

BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.2620-2629, 2010.

BRADFORD, B.J.; ALLEN, M.S. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3838-3845, 2007.

BUCCIONI, A.; DECANDIA, M.; MINIERI, S.; MOLLE, G.; CABIDDU, A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, p.1-25, 2012.

CANIZARES, G.I.L.; GONÇALVES, H.C.; COSTA, C.; RODRIGUES, L.; MENEZES, J.J.L.; GOMES, H.F.B.; MARQUES, R.O.; BRANCO, R.H. Use of high moisture corn silage replacing dry corn on intake, apparent digestibility, production and composition of milk of dairy goats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.860-865, 2011.

CHAN, W.M.; MA, C.Y. Acid modification of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 32, p.119-127, 1999.

CHELI, F.; CAMPAGNOLI, A.; ORTO, V.D. Fungal populations and micotoxins in silages: From occurrence to analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v.183, p.1-16, 2013.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura de soja 2013**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Soja/20RO/Apresentacao_Conjuntura_soja.pdf. Acesso em: 11 de jan de 2015.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; QUEIROZ, L.R. **Quatrocentas e sessenta e sete cultivares de milho estão disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2013/2014**. 2014. Acesso em 28 de Janeiro de 2014. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/>> .

CUENCA, R.A.; SUÁREZ, M.J.V.; APARICIO, I.M. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v.108, p.1099-1105, 2008.

DEFOOR, P.J.; BROWN, M.S.; OEWNS, F.N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In: CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma. **Proceedings**. Oklahoma: CGP, 2006. p.93-98.

DEPETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2043-2070, 1992.

DE HOLANDA, M.C.R.; DE HOLANDA, M.C.R.; MENDONÇA JR, A.F. Suplementação dietética de lipídios na concentração de ácido linoleico conjugado na gordura do leite. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, p.221-229, 2011.

DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.F.; SCOLLAN, N.D. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.168-206, 2006.

DONKIN, S.S. Metabolic response of dairy cows to ruminal starch digestion products. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM FORMULAÇÃO DE DIETAS PARA GADO LEITEIRO, 3., 2014, Lavras, **Anais**. Lavras: UFLA, Universidade Federal de Lavras, 2014, p.33-38.

ELGERSMA, A. TAMMINGA, S.; ELLEN, C. Modifying milk composition through forage. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.207-225, 2006.

FERNANDES, J. **Influência de genótipo, maturidade e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de grãos de milho com alta umidade**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GIUBERTI, G.; GALLO, A.; MASOERO, F.; FERRARETTO, L.P.; HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. **Starch/Starke Journal**, v.66, p.72-90, 2014.

GONÇALVES, L.C.; ANDRADE, A.P.C.; RIBEIRO, G.P.; SEIBEL, N.F. Composição química e propriedades tecnológicas de duas cultivares de soja. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.3, p.33-40, 2014.

HENRIQUE, W. BELTRAME FILHO, J.A.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; ALLEONI, G.F.; COUTINHO FILHO, J.L.V.; SAMPAIO, A.A.M. Avaliação da silagem de grãos de milho úmido com diferentes volumosos para tourinhos em terminação. Desempenho e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.183-190, 2007.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; SHAVER, R.D.; COBLENTZ, W.K.; SCOTT, M.P.; BODNAR, A.L.; SCHMIDT, R.J.; CHARLEY, R.C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.2465-2474, 2011.

HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Grain quality: A dairy cow's perspective. In: WISCONSIN CROP MANAGEMENT CONFERENCE, 2011, Madison. **Proceedings**. Madison: University of Wisconsin-Extension, 2011. p.51-73.

HUNTINGTON, G.B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v.75, p.852-867, 1997.

HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.84, p.E14-E24, 2006 (Suppl. E).

JACKSON, C.J.C.; DINI, J.P.; LAVANDIER, C.; RUPASINGHE, H.P.V.; FAULKNER, H.; POYSA, V. BUZZELL, D.; DEGRANDIS, S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. **Process Biochemistry**, v.37, p.1117-1123, 2002.

JOBIM, C.C.; BRANCO, A.F.; GAI, V.F.; CALIXTO JUNIOR, M.; SANTOS, G.T. Quality of high moisture corn grain silage with addition of raw soybean grains and parameters of partial and total digestibility in cattle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.107-115, 2010a.

JOBIM, C.C.; CALIXTO JUNIOR, M.; BUMBIERIS JUNOR, V.H.; OLIVEIRA, F.C.L. Chemical composition and quality of conservation of corn (*Zea mays* L.) grain silages with different levels of soy grains (*Glycine max* Merrill) **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.773-782, 2010b.

JOBIM, C.C.; LOMBARDI, L.; MACEDO, F.A.F.; BRANCO, A.F. Quality of corn grain silage added with soybean, sunflower or urea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.649-656, 2008.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G. Princípios básicos da fermentação na ensilagem. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. (Ed.) **Forragicultura, ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros**. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel – ME, 2013. p.649-660.

JOBIM, C.C.; REIS, R.A. Produção e utilização de silagem de grãos úmidos de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p.912-927.

JOBIM, C.C.; SILVA, M.S.; CALIXTO JUNIOR, M. Challenges in the utilization of high moisture grains silage for ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2009. p.91-108.

KALAC, P.; SAMKOVA, E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. **Czech Journal Of Animal Science**, v.55, p.521-537, 2010.

KRAUSE, K.M.; COMBS, D.K.; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II ruminal pH and chewing activity. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1947-1957, 2002.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2006. 1202p.

LESCANO, C.A.A.; TOBINAGA, S. Modelo codificado e real para a difusividade efetiva da secagem do resíduo do extrato hidrossolúvel de soja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.6, p.17-25, 2004.

LOCK, A. L.; OVERTON, T. R.; HARVATINE, K. J.; GIESY, J.; BAUMAN, D. E. Milk fat depression: impact of dietary components and their in interaction during rumen fermentation. In: PROC. CORNELL NUTR. CONF., **Proceedings**. 2006, p.75-85, 2006.

LOPES, J.C.; SHAVER, R.D.; HOFFMAN, P.C.; AKINS, M.S.; BERTICS, S.J.; GENCOGLU, H.; COORS, J.G. Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4541-4548, 2009.

MA, C.Y.; LIU, W.S.; KWOK, K.C.; KWOK, F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v.29, p.799-805, 1997.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D.; MORGAN, C.A.; SINCLAIR, L.A.; WILKINSON, R.G. **Animal Nutrition**. 7th ed. England: Pearson, 2011. 714p.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2ed. Marlow: Chalcombe Publications, 1991, 340p.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Dose-response effects of intraruminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or midlactation. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2922-2931, 2003.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; STEFANIE, J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p.31-94.

PALMQUIST, D.L. Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. (Ed.). **Advanced Dairy Chemistry**. New York, v. 2, 2006, p.43-92.

PALMQUIST, D.L.; JENKIS, T.C. Fat in lactation rations: Review. **Journal of Dairy Science**, v.6, p.1-14, 1980.

PANICHI, A.; COSTA, C.; ALMEIDA JUNIOR, G.A.; MEIRELLES, P.R.L.; SILVA, M.G.B.; SILVEIRA, J.P.F. Substituição dos grãos secos de milho pela silagem de grãos

úmidos de milho para vacas da raça holandesa em lactação. **Archives of Veterinary Science**, v.17, p.83-92, 2012.

PANIZZI, M.C.C.; KITAMURA, K.; BELÉIA, A.D.P.; OLIVEIRA, M.C.N. Influence of growth locations on isoflavone contents in Brazilian soybean cultivars. **Breeding Science**, v.48, p.409-413, 1998.

PAULETTO, F.B.; FOGAÇA, A.O. Avaliação da composição centesimal de tofu e okara. **Ciências da Saúde**, v.13, p.85-95, 2012.

PEÑALVO, J.L.; CASTILHO, M.C.; SILVEIRA, M.I.N.; MATAALLANA, M.C.; TORIJA, M.E. Fatty acid profile of traditional soymilk. **European Food Research and Technology**, v.219, p.251-253, 2004.

PERUSSELLO, C.A. **Estudo dos parâmetros de processo e modelagem numérica da secagem do resíduo sólido da produção do extrato hidrossolúvel de soja (okara)**. 2008. 127p. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

REIS, W.; COSTA, C.; MEIRELLES, P.R.L.; SILVA, M.G.B.; FACTORI, M.A.; HADLICH, J.C.; OLIVEIRA, K.; SANTANA, E.A.R.; PARIZ, C.M.; SILVA, J.A.V. Degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta de grãos secos e de silagens de grãos úmidos de híbridos de milho (*Zea mays*), submetidos a diferentes processamentos. **Boletim de Indústria animal**, v.70, p.269-280, 2013.

REIS, W.; JOBIM, C.C.; MACEDO, F.A.F.; MARTINS, E.N.; CECATO, U.; SILVEIRA, A. Desempenho de cordeiros terminados em confinamento, consumindo silagens de milho de grãos com alta umidade ou grãos de milho hidratados em substituição aos grãos de milho seco da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.596-603, 2001.

ROONEY, L.W.; PFLUGFELDER, R.L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1607-1623, 1986.

SANTOS, J.F.F. **Anticorpos policlonais para determinação de isoflavonas em leguminosas**. 2013. 51p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia, Nova Odessa.

SILVA, C.J. **Processamento de grãos de milho para uso na alimentação de vacas leiteiras**. 2012. 100p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, J.S.; BORGES, A.L.C.C.; LOPES, F.C.F.; SILVA, R.R.; VIEIRA, A.R.; DUQUE, A.C.A.; BORGES, I.; RODRIGUES, J.A.S.; GONÇALVES, L.C. Degradabilidade ruminal *in situ* do sorgo grão em diferentes formas de reconstituições. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.1822-1830, 2014.

TRES, T.T.; JOBIM, C.C.; ROSSI, R.M.; SILVA, M.S.; POPPI, E.C. Silagem de grãos de milho, com adição de soja: estabilidade aeróbia e desempenho de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v.15, p.248-260, 2014.

VANTOAI, T.T.; LEE, J.D.; GOULART, P.F.P.; SHANNON, J.G.; ALVES, J.D.; NGUYEN, H.T.; YU, O.; RAHMAN, M.; ISLAM, R. Soybean (*Glycine Max L. Merr.*) seed composition response to soil flooding stress. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v.10, p.795-804, 2012.

VARGAS, M.D. **Okara na alimentação de frangos de corte na fase inicial e de crescimento**. 2013, 83p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; SANTOS, F.L.; QUEIROZ, A.C.; MANCIO, A.B. Adição de lipídeos na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.522-529, 2002.

ZINN, R.A.; OWENS, F.N.; WARE, R.A. Flaking corn: Processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1145-1156, 2002.

II - OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da inclusão de okara em silagens de grãos de milho reidratados, sobre as características fermentativas e nutricionais das silagens; a estabilidade aeróbia da silagem, bem como sobre a produção, qualidade e perfil de ácidos graxos do leite; além dos parâmetros ruminais e eficiência de síntese microbiana.

III - Valor nutricional e estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho com adição de okara, subproduto do processamento do grão de soja

Resumo – Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da inclusão de quantidades de okara nas características fermentativas, no valor nutricional e na estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho. Foram avaliadas cinco quantidades (0, 20, 30, 40 e 50% com base na MS) de inclusão do okara na silagem de grão de milho reidratado. A ensilagem foi feita em silos experimentais de PVC (± 12 kg), arranjados em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Após abertura dos silos, foi feita a análise da composição nutricional, dos produtos da fermentação e a estabilidade aeróbia com exposição das silagens ao ar durante oito dias. Verificou-se diminuição do teor de MS com a inclusão do okara e o aumento dos teores de FDN, FDA, PB e EE para as silagens. A variação na concentração de ácido láctico foi de 1,01 a 2,68% na MS, para os tratamentos com 30 e 40% de okara, respectivamente. Para o ácido acético constatou-se efeito quadrático com a inclusão de okara, com valores de 0,34 a 3,75% para 0 e 40% de adição do okara, respectivamente. O teor de ácido butírico apresentou efeito quadrático nas silagens, com valores de 0,04 (20% de okara) a 2,48% (50% de okara) na MS. As silagens com 30, 40 e 50% apresentaram-se mais estáveis com tempo para a quebra da estabilidade de 99, 165 e 149 horas, respectivamente. A inclusão do subproduto okara na ensilagem de grãos aumenta o teor de PB e EE das silagens e a estabilidade aeróbia das silagens, entretanto, a utilização de quantidades maiores que 30% de okara na ensilagem deve ser condicionada ao teor de MS que o resíduo apresenta.

Termos para indexação: ácido acético, ácido láctico, ácido butírico, digestibilidade, produtos da fermentação, grãos reidratados

Nutritional value and aerobic stability of corn grain silages with addition of okara, byproduct of soybean processing

Abstract - The objective of this study was to evaluate the effect of including okara levels in the fermentation characteristics, nutritional value and aerobic stability of grain corn silage. For this, five amounts (0, 20, 30, 40 and 50% on a dry matter basis) of okara inclusion in rehydrated corn grain silage were evaluated. The silages were made

in experimental silos of PVC (± 12 kg), arranged in a completely randomized design with four replicates. After opening the silos, the analysis of nutritional composition was made of fermentation products and aerobic stability of silage, which remained exposed to air at controlled temperature room during eight days. There was decrease on DM content with the addition of okara and increase in NDF, ADF, CP and EE for the evaluated silages. The variation in the concentration of lactic acid was 1.01 to 2.68% in DM for treatments with 30 and 40% of okara, respectively. Acetic acid content showed quadratic effect with the inclusion of okara, with values from 0.34 to 3.75% for 0% and 40% addition of okara, respectively. The butyric acid content showed a quadratic effect on silage, with values of 0.04 (20% okara) to 2.48% (50% okara) in DM. The silage with 30, 40 and 50% had become more stable with time for breaking the stability of 99, 165 and 149 hours, respectively. The inclusion of the by-product okara in grain increases the nutritional value of silage and aerobic stability of silage, however to use larger amounts than 30% of okara in silages must be conditioned to the DM content in the residue.

Index terms: acetic acid, butyric acid, lactic acid, digestibility, fermentation products, rehydrated grains

Introdução

A ensilagem de grãos de milho reidratados pode beneficiar produtores que não possuem área para a produção do cereal, não dispõem de máquinas para colheita, ou ainda em casos de atraso do ponto de colheita para ensilagem do grão úmido. A ensilagem é uma forma de armazenamento de grãos capaz de evitar problemas causados por ação de insetos e de roedores, que podem comprometer a qualidade higiênica dos grãos. Além disso, é um sistema de armazenamento de grãos, mais simples e econômico do que o convencional em silos graneleiros, e atua positivamente na digestibilidade do amido dos grãos de milho (Jobim et al., 2009).

A combinação de alimentos no processo de ensilagem que elevem o valor nutricional do material, especialmente no que se refere ao teor de proteína bruta e energia, pode disponibilizar aos animais uma silagem com valor nutricional semelhante aos dos concentrados comerciais (Jobim et al., 2010).

O uso de subprodutos da agroindústria pode ser utilizado como forma de enriquecer o valor nutricional da silagem de grãos de milho, dentre os quais está o

okara. Este é um subproduto do processamento dos grãos de soja para a produção do extrato aquoso da soja e do tofu, sendo um material com baixo valor de mercado, mas que apresenta boa qualidade nutricional (Bowles & Demiate, 2006).

Para a obtenção do extrato aquoso da soja, os grãos são lavados e macerados, posteriormente são moídos e aquecidos para, então, passarem por um processo de filtração que separa o extrato aquoso de seu subproduto, o okara (Bowles & Demiate, 2006). De acordo com Perussello (2008), como o processo de extração envolve uma etapa de moagem úmida do grão de soja, o resíduo é constituído de uma massa com cerca de 72% de umidade, gerando grandes volumes de resíduos sólidos do processo de fabricação do extrato.

O processo industrial do qual resulta o okara faz com que a sua composição centesimal não seja uniforme para seus constituintes, podendo também esta diferença existir devido aos diferentes cultivares de soja utilizados (Cuenca et al., 2008; Pauletto & Fogaça, 2012). No okara, os teores de proteína podem variar de 24 a 37,5%, de lipídeos de 9,3 a 22,3% e de fibra bruta de 14 a 55% na matéria seca (Jiménez-Escrig et al., 2008; Aparicio et al., 2010b; Vargas, 2013).

Devido ao alto teor de umidade, que dificulta o manuseio do okara e eleva o seu custo de secagem (Cuenca et al., 2008), esse subproduto constitui-se em um problema para a indústria, ao mesmo tempo em que é uma promissora fonte de compostos que podem ser utilizados na alimentação animal, devido à suas propriedades nutricionais (Aparicio et al., 2010a). Assim, a ensilagem de grãos de milho reidratados com adição de okara pode ser uma alternativa interessante aos produtores, já que dispensa a etapa de secagem do subproduto. Esta tecnologia pode ser empregada tanto como forma de diminuir custos de produção, bem como de enriquecer o valor nutricional da silagem de grãos.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da inclusão de quantidades de okara nas características fermentativas, no valor nutricional e na estabilidade aeróbia de silagens de grãos de milho reidratados.

Material e Métodos

O experimento a campo foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi, e as análises químicas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, ambos pertencentes à Universidade Estadual de Maringá-Paraná.

Como tratamentos foram utilizados cinco teores (0, 20, 30, 40 e 50% com base na matéria seca) de inclusão do okara durante a ensilagem dos grãos de milho reidratados, arranjados em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

Para a produção das silagens, foi adquirido comercialmente o milho em grão seco (88% MS), que foi processado em moinho de peneira com crivo de 10 mm. O resíduo do extrato hidrossolúvel da soja (okara) foi cedido pela Cocamar Cooperativa Agroindustrial, unidade de Maringá - PR. No momento da ensilagem, foi avaliado o teor de matéria seca do okara, em micro-ondas, de acordo com metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002), para permitir a inclusão do aditivo nutricional nas quantidades estabelecidas. Para o tratamento com 0% de okara, após a moagem dos grãos secos, foi feita a adição de água destilada para permitir um teor de umidade em torno de 35%.

Na ensilagem, foi aplicado o inoculante microbiano à base de *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e *Propionibacterium acidipropionici* MA 26/4U (Lallemand Animal Nutrition), por meio de pulverizador costal buscando-se uma distribuição uniforme.

As silagens foram armazenadas em silos experimentais de PVC (40 cm de comprimento x 20 cm de diâmetro, 0,013 m³), usando-se uma densidade de 900 kg/m³. A vedação dos silos foi feita com lona plástica dupla face de polietileno e fita adesiva, permanecendo armazenados em local coberto durante 150 dias, momento em que ocorreu a abertura dos mesmos.

Após a abertura dos silos, foram retiradas amostras, que foram divididas em sub amostras. A primeira amostra foi submetida à secagem em estufa de ventilação forçada (55 °C por 72 horas) e, logo após, moídas em moinho martelo com peneira com crivo de 1 mm para posterior determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) obtidos conforme AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados de acordo com Van Soest et al. (1991). Também foi analisada a composição nutricional do okara e do milho antes da ensilagem, que está apresentada na Tabela 1.

A digestibilidade “*in vitro*” das silagens foi determinada de acordo com o método de Tilley & Terry (1963) adaptada para o uso do rúmen artificial, desenvolvido por Ankom®, conforme descrito por Holden (1999). O líquido ruminal (inóculo) foi coletado de um boi da raça Holandesa, com peso vivo médio de 480 kg com cânula ruminal e com alimentação adaptada para relação volumoso:concentrado de 60:40,

durante dez dias antes da coleta. Foi realizada a incubação “*in vitro*” com duração de 24 h. Posteriormente, as amostras foram lavadas e secas para a determinação da digestibilidade ruminal “*in vitro*” da matéria seca (DIVMS).

A segunda sub amostra “*in natura*” das silagens foi prensada utilizando-se de uma prensa hidráulica (Tecnal[®]), com capacidade de força de 16 toneladas, para extração do suco, onde foi determinado o nitrogênio amoniacal (N-NH₃, % do N - total), de acordo com método descrito por Detmann et al. (2012).

Também com a amostra “*in natura*” realizou-se o preparo do extrato aquoso, para a determinação dos produtos da fermentação. Para tanto, adicionou-se uma alíquota de 25 g de amostra diluída em 225 mL de água destilada, homogeneizada durante um minuto em liquidificador industrial. Após este procedimento, o extrato foi filtrado em gaze, obtidos os valores de pH e armazenado em eppendorf[®] de 2 mL a -20°C e posteriormente encaminhado à Universidade de São Paulo, onde a leitura dos produtos da fermentação foi realizada em cromatógrafo gasoso com detector de massas (GC-MS) (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu[®], Kyoto, Japan), usando coluna capilar (Stabilwax, Restek[®], Bellefonte, USA; 60 m, 0,25 mm \varnothing 0,25 μ m crossbond carbowax polyethylene glycol).

Para a avaliação da estabilidade aeróbia, procedeu-se a descompactação das silagens restantes nos silos, os quais foram mantidos em câmara climática a 25°C durante 8 dias. A estabilidade aeróbia das silagens foi avaliada com base em medidas de temperatura, do pH e perdas por gases por meio de pesagens.

As medidas de temperatura foram realizadas às 8 e 16 h, com uso de termômetro digital, modelo Gulterm 1001. A leitura dos valores de pH foi feita com pHmetro digital uma vez ao dia, às 8 h, conforme Cherney & Cherney (2003). Com a obtenção do banco de dados, foram geradas as seguintes variáveis: temperatura máxima alcançada (Tmax); tempo para alcançar a temperatura máxima (TTmax); horas para atingir temperatura 2°C acima da temperatura ambiente (HT>2°C); pH máximo (pHmax); tempo para pH máximo da massa (TpHmax).

As variáveis obtidas após abertura dos silos foram analisadas pelos procedimentos da análise de variância e regressão (P<0,05) (SAS, 2009).

Resultados e Discussão

Na avaliação das silagens, com a inclusão do okara, verificou-se efeito linear no teor de MS, com diminuição conforme aumentou a inclusão do okara (Tabela 2). Isso

ocorreu devido ao baixo teor de MS (19,36%) do okara, conforme apresentado na Tabela 1. Embora não tenha sido quantificado, observou-se perdas na forma de efluente para o tratamento com a inclusão de 50% do okara, o que ocorreu devido ao baixo teor de MS (29,35%) encontrado para esta silagem. Jobim & Nussio (2013) ressaltam que silagens com menos de 28% de MS podem apresentar perdas consideráveis por efluentes, além de favorecer a atuação de microrganismos indesejáveis.

A diminuição do teor de MS verificado pode representar uma limitação para a inclusão do okara na ensilagem de grãos de milho, devido aos problemas que podem ocorrer pelo excesso de umidade. Neste sentido, além da preocupação com as perdas por efluentes, outro ponto de grande relevância é a disponibilidade de água para a atividade de microrganismos indesejáveis (Jobim & Nussio, 2013). O alto teor de umidade favorece o crescimento de fungos, o que torna esses materiais com alto potencial para presença de micotoxinas, que comprometem a qualidade higiênica da silagem (Buchman-Smith et al., 2003).

Houve aumento linear nos teores de MM das silagens com aumento de 0,04% para cada unidade percentual de okara adicionado, e conseqüente diminuição para a MO. Isto ocorreu devido ao teor de matéria mineral do okara (4,79%) adicionado nas silagens.

Para as variáveis FDN e FDA observou-se efeito linear crescente com o aumento da inclusão de okara, devido aos altos teores de fibras no subproduto okara com valores de 27,67 e 17,59% para FDN e FDA respectivamente. O mesmo comportamento foi verificado para os teores de EE e de PB, devido ao alto teor de extrato etéreo (18,07%) e de proteína (29,85%) do okara. Isso resultou em aumento no valor nutricional da silagem de grãos de milho, proporcionando, na dependência do nível de okara adicionada, uma silagem com teores energético e proteico próximos dos concentrados comerciais para ruminantes.

O pH das silagens foi alterado com a inclusão dos níveis de okara. Na análise de regressão observou-se efeito quadrático, com valor máximo estimado de 4,49 de pH para o nível de 29,01% de okara na ensilagem de grãos de milho. O pH normalmente observado em silagens de grãos com adição de aditivos nutricionais está entre 4,0 – 4,5 (Jobim et al., 2010; Tres et al., 2014). O ácido lático é o principal produto da fermentação responsável pela redução do pH, entretanto, a sua combinação com os outros produtos da fermentação é que determina o pH final do material ensilado (Pahlow et al., 2003).

Os maiores valores encontrados para N amoniacal ($N-NH_3/\%N_{total}$) nas silagens foram nos tratamentos com 0% de okara (5,79%) e 30% de okara (5,26%). Em silagens de grãos de milho, normalmente são verificados teores de N amoniacal (% do N total) menores que 10% (Kung & Shaver, 2001), o que indica que nessas silagens a atividade proteolítica é baixa. O menor teor de $N-NH_3/\%N_{total}$ (2,85%) observado na silagem com 50% de okara pode ser resultado de perdas devido à produção de efluente verificada nesse tratamento. Rotz & Muck (1994) relatam que os componentes solúveis como a fração de nitrogênio não proteico está entre os principais constituintes dos efluentes.

Houve efeito quadrático para o teor de $N-NH_3$ (% do N – total) e para a digestibilidade “*in vitro*” em 24 horas da matéria seca, sendo que as silagens que apresentaram maior $N-NH_3/\%N_{total}$ (0 e 30% de okara) também apresentaram maior DIVMS. Existe coerência nesses resultados, uma vez que, segundo Fernandes (2014), há correlação entre N amoniacal e digestibilidade do amido, devido ao aumento do teor de proteínas solúveis. Vários estudos (Giuberti et al., 2014; Hoffman & Shaver, 2011) demonstram que as zeínas (proteínas do grupo prolaminas), se desenvolvem com o avançar da maturidade do grão, encapsulando o amido em uma matriz hidrofóbica. Durante a ensilagem ocorre a degradação das proteínas prolaminas-zeínas, que aumentam a acessibilidade dos grãos de amido aos microrganismos ruminais, assim, aumentando a digestibilidade do amido (Defoor et al., 2006; Hoffman et al. 2011; Fernandes 2014).

Os menores valores para a digestibilidade da MS obtidos com a inclusão do okara também relacionam-se aos constituintes finais destas silagens, já que o aumento da fração fibrosa correlaciona-se negativamente com a digestibilidade (Casler & Jung, 2006). Além do aumento em FDN e FDA com a inclusão do okara observa-se aumento no teor de EE, o que também pode diminuir a digestão ruminal dos nutrientes (NRC, 2001).

Na avaliação dos produtos da fermentação (Tabela 3), constatou-se efeito quadrático para o teor de ácido láctico das silagens, entretanto, o coeficiente de determinação foi baixo, indicando que apenas 39% da variação causada pela inclusão de okara nas silagens de grãos de milho pode ser explicada pela equação. A variação na concentração de ácido láctico foi de 1,01 a 2,68% na MS, estando dentro do normalmente observado para silagens de grãos úmidos, que é de 0,5 – 2,0% na MS (Kung & Shaver, 2001). Apesar de todos os ácidos formados durante a fermentação contribuírem para redução do pH da silagem, o ácido láctico é o principal responsável

nesse processo, por ser um ácido mais forte (pKa 3,86) que os demais (Rooke & Hatfield, 2003). Desta forma, silagens com maior teor de ácido lático diminuem o pH mais rapidamente e essa rápida queda de pH pode reduzir a atividade de enterobactérias, clostrídeos e bacilos, e minimizar os efeitos negativos destes microrganismos na qualidade da silagem (Muck, 2010).

O menor teor de ácido lático para a silagem com 30% de okara (1,01% na MS) pode explicar o seu maior pH (4,56), já que o pH elevado é indicativo de produção de ácidos mais fracos, como o butírico e o acético, que são oriundos de fermentações secundárias. Outra explicação para o menor teor de ácido lático em silagens pode ser devido a sua utilização como substrato para leveduras e clostrídeos (Rooke & Hatfield, 2003).

Constatou-se efeito quadrático para o teor de ácido acético nos níveis avaliados, com valores variando de 0,34 a 3,75% para 0 e 40% de adição do okara, respectivamente. Para as silagens que foram produzidas com a adição do subproduto okara, o teor de ácido acético foi maior do que o teor de ácido lático. O maior teor de ácido acético é um indicativo de que a fermentação heterolática dominou a fermentação no silo (Buchman-Smith et al., 2003). Segundo Li & Nishino (2011), silagens com alta umidade e período de estocagem prolongado podem apresentar intensa fermentação ácido acética (> 3 a 4% de MS). Nestas silagens, a recuperação de energia e de MS podem ser menores (Kung & Shaver, 2001). Embora a fermentação heterolática ocasione maiores perdas na fase de fermentação anaeróbica no silo, existe efeito positivo, uma vez que o aumento da concentração de ácido acético diminui a atividade de leveduras e fungos durante a fase de utilização da silagem (Jobim & Nussio, 2013). Estudos demonstram que não há efeitos negativos na utilização de silagens com concentrações moderadas de ácido acético para ruminantes (Kristensen et al., 2010; Krizsan et al., 2012).

O teor de ácido butírico apresentou efeito quadrático nas silagens, com valores de 0,04 (20% de okara) a 2,48% (50% de okara) na MS. Estes valores podem ser considerados altos, já que o teor desejável para ácido butírico de acordo com Mahanna & Chase (2003), em silagens de grãos, deve ser menor que 0,01% na MS. Este ácido é um indicador da extensão em que ocorreu a atividade dos clostrídeos, uma vez que é produzido apenas por essas bactérias (Jobim & Nussio, 2013). Estudos recentes têm demonstrado a maior presença de clostrídeos em silagens de grãos secos reidratados, possivelmente devido ao maior tempo de permanência da cultura no campo, o que pode

interferir na qualidade higiênica sanitária das silagens (Fernandes, 2014; Carvalho, 2014). Neste estudo, o alto teor de umidade do okara pode ter beneficiado o desenvolvimento de clostrídeos, já que, segundo Jobim & Nussio (2013), essas bactérias são favorecidas com a elevada atividade da água (A_w).

O ácido isobutírico apresentou aumento de 3,92 mg/kg de MS para cada unidade percentual de adição de okara, com variação de 10 mg/kg de MS (0% de okara) para 190 mg/kg de MS (50% de okara). O ácido isobutírico em silagens tem sido normalmente atribuído à deaminação de valina por clostrídeos, entretanto *L. brevis* também pode produzir ácido isobutírico sob condições anaeróbicas (Rooke & Hatfield, 2003).

A inclusão de okara nas silagens demonstrou efeito linear com aumento para o 2,3-butanodiol, o que indica favorecimento na atividade de enterobactérias. O 2,3-butanodiol pode ser produzido por enterobactérias e possivelmente bactérias lácticas (Muck, 2010). As enterobactérias também podem reduzir acetoína a 2,3-butanodiol, pela ação da acetoína redutase (Rooke & Hatfield, 2003).

Para o etanol, 1-propanol e 2-butanol houve efeito quadrático. De forma geral, observam-se os maiores valores com a maior inclusão de okara. O etanol é o principal produto da fermentação por leveduras, que podem produzir outros alcoóis, como 1-propanol, 2 - butanol (Kung & Shaver, 2001; Pahlow et al., 2003), entretanto, enterobactérias também são responsáveis pela produção de etanol em silagens (Rotz & Muck, 1994). Normalmente, a produção de etanol aumenta de forma linear com o aumento da umidade do material ensilado (Buchman-Smith et al., 2003), o que é considerado indesejável por causar perdas de MS como CO_2 (Rooke & Hatfield, 2003).

O ácido propiônico apresentou comportamento quadrático, sendo o maior teor verificado no nível de 40% de okara. O maior teor de ácido propiônico pode ocorrer com o maior desenvolvimento de bactérias do grupo *Propionibacterium*, caracterizadas por utilizarem principalmente açúcares como substrato para produção de ácido propiônico, e em menor extensão produtos como acetato, ácido fórmico ou isovalérico (Pahlow et al., 2003). O ácido propiônico também pode ser produzido por bactérias como *Clostridium propiônico*, *Selenomonas* além do *Lactobacillus diolivorans*, que tem sido associado à produção de ácido propiônico e do 1-propanol a partir de 1,2 – propanodiol (Krooneman et al., 2002).

A inclusão de okara demonstrou uma tendência a aumento para o ácido fórmico nas silagens, apresentando comportamento quadrático. Como o ácido fórmico pode ser

um produto da fermentação de açúcares por enterobactérias (Rotz & Muck, 1994; Pahlow et al., 2003) é possível inferir que a adição de okara favoreceu a atividade desses microrganismos.

A equação de regressão ajustada para o ácido valérico apresentou efeito quadrático, enquanto o ácido isovalérico apresentou comportamento linear positivo com o aumento da inclusão de okara. Estes ácidos podem indicar uma fermentação clostrídica já que são produtos da degradação de proteína por estas bactérias (Pahlow et al., 2003).

Para o 1,2 propanodiol, lactato de etila, álcool isopropílico, acetona, acetato de etila e acetato de propila foi verificado efeito quadrático, entretanto, o coeficiente de determinação obtido para estas equações foi baixo, devido ao alto coeficiente de variação encontrado para estas variáveis. O 1,2-propanodiol pode ocorrer da degradação do ácido láctico associada à atividade de *L. buchneri*, *L. parabuchneri*, que é influenciada pelo baixo pH. Ou, ainda, a degradação de açúcares por *Escherichia coli* ou *Clostridium shenoides* (Oude Elferink et al., 2001). A acetona provavelmente é um metabólito da atividade de clostrídeos nas silagens (Rooke & Hatfield, 2003).

A produção de ácidos orgânicos em silagem depende das práticas na ensilagem, do estágio de maturação dos grãos, dos genótipos avaliados e do teor de umidade (Carvalho, 2014). Além disso, depende da população epífita original das plantas (Jobim & Nussio, 2013) e também das condições presentes no interior do silo, que afetam a produção desses ácidos (Pahlow et al., 2003). Estes são alguns fatores que podem alterar a população de microrganismos no silo, e conseqüentemente os produtos da fermentação, sendo desta forma um processo muito dinâmico. Nesse contexto e considerando a ampla gama de produtos da fermentação observados nas silagens de grãos de milho reidratados e com adição de okara, fica evidente a ampla atividade microbiológica nas silagens. Isso implica em atenção especial ao manejo na ensilagem para que perdas sejam minimizadas, conservando a qualidade dos grãos.

Na avaliação da estabilidade aeróbia das silagens (Tabela 4), não houve efeito para as perdas de MS, com média de 6,08% durante os oito dias de exposição ao ar. Para a temperatura máxima das silagens, durante a exposição ao ar, observou-se efeito quadrático, sendo que a temperatura manteve-se menor para os tratamentos com 40% (26,8°C) e 50% (27,3°C) de inclusão de okara. Não houve efeito do nível de okara relativo ao tempo (em horas) para que as silagens atingissem a temperatura máxima, com média de 145,5 h.

Neste estudo, a quebra da estabilidade apresentou efeito quadrático, o que evidencia a maior estabilidade aeróbia das silagens com o aumento da inclusão de okara nos níveis de 30, 40 e 50%. O aumento da temperatura das silagens com 0 e 20% de inclusão do okara pode ser resultado da alta atividade de leveduras, principais microrganismos responsáveis por iniciar o processo de deterioração da silagem (Kung Jr., 2010).

A silagem com 40% de okara apresentou o maior valor para ácido propiônico (1,18% da MS) e para ácido acético (3,75% na MS). Também foi a que apresentou maior tempo para a quebra da estabilidade (165 horas). Os ácidos de cadeia curta indissociados podem entrar na célula das leveduras e diminuir o pH intracelular pela liberação de íons H^+ . Este processo causa morte da célula devido ao grande gasto de energia para manter o equilíbrio, desta forma ocasionando o aumento da estabilidade aeróbia da silagem (Pahlow et al., 2003).

A temperatura mais estável durante os oito dias de exposição ao ar foi para as silagens com 40 e 50% de okara (Figura 1), o que pode ser atribuído aos maiores teores de ácido acético e propiônico encontrados nestas silagens. Trabalhos têm demonstrado maior estabilidade aeróbia de silagens com maior teor de ácido acético (Hu et al. 2009; Muck, 2010; Schmidt & Kung, 2010), sendo esse efeito pronunciado com concentrações de ácido acético maior que 2% na MS (Li & Nishino, 2011).

Durante a exposição das silagens ao ar, o pH máximo observado e o tempo necessário para obter o pH máximo apresentaram efeito quadrático para as silagens avaliadas. Novamente, destacaram-se as silagens com maior inclusão de okara, apresentando menores variações no pH durante os oito dias de exposição aeróbia (Figura 2). As menores variações foram para as silagens com 40 e 50% de okara e valores intermediários para o nível de 30%. A estabilidade aeróbia das silagens é associada com a degradação do ácido láctico e elevação do pH (Jobim & Nussio, 2013). Em muitos casos, as leveduras são os primeiros microrganismos a se desenvolverem na silagem, consumindo ácido láctico aerobicamente e causando aumento do pH da silagem, o que favorece o desenvolvimento de outros microrganismos. A presença de fungos filamentosos é um indicador de perda de qualidade da silagem e ainda representa preocupação com a produção de micotoxinas (Borreani & Tabacco, 2010).

A silagem que demonstrou menor estabilidade determinada pelas alterações de temperatura e pH foi a silagem sem a inclusão de okara. Isso pode ser atribuído à maior

disponibilidade de substrato para microrganismos aeróbios após abertura dos silos, o que torna a silagem exclusiva de grãos mais propensa à deterioração aeróbia.

Conclusões

A inclusão do subproduto okara na ensilagem de grãos de milho aumenta os teores de PB, EE, FDN e FDA das silagens.

Silagens de grãos com 40 e 50% de okara apresentam alto teor de ácido butírico dentre os produtos da fermentação.

Silagem de grãos de milho com 40% de okara apresenta elevada estabilidade aeróbia.

A utilização de quantidades maiores que 30% de okara na ensilagem de grãos secos deve ser condicionada ao teor de MS em que o okara sai da indústria.

Referências

APARICIO, I.M.; CUENCA, A.R.; SUÁREZ, M.J.V.; REVILLA, M.A.Z.; SANZ, M.D.T. Pea pod, broad bem pod and okara, potencial sources of funcional compounds. **Food Science and Technology**, v.43, p. 1467-1470, 2010a.

APARICIO, I.M.; PEINADO, C.M.; ESCRIG, A.J.; RUPÉREZ, P. Multifuncional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.245-250, 2010b.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. 1995. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995, 2000p.

BORREANI, G.; TABACCO, E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.2620-2629, 2010.

BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico- química de okara e aplicação em pães do tipo Francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.652-659, 2006.

BUCHMAN-SMITH, J.; SMITH, T.K.; MORRIS, J. High moisture grain corn and grain by-product. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p.825-854.

CARVALHO, P.A. **Influencia do genótipo e maturidade na diversidade microbiológica em milho grão para silagem**. 2014. 96p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CASLER, M.D.; JUNG, H.J.G. Relationships of fibre, lignin, and phenolics to *in vitro* fibre digestibility in three perennial grasses. **Animal Feed Science and Technology**, v.125, p.151-161, 2006.

CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p.141-198.

CUENCA, R.A.; SUÁREZ, M.J.V.; APARICIO, I.M. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v.108, p.1099-1105, 2008.

DEFOOR, P.J.; BROWN, M.S.; OEWNS, F.N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In: CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma. **Proceeding**. Oklahoma: CGP, 2006. p.93-98.

DETMANN, E. **Métodos para análise de alimentos**: INCT - Ciência Animal. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2012, 214p.

FERNANDES, J. **Influência de genótipo, maturidade e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de grãos de milho com alta umidade**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GIUBERTI, G.; GALLO, A.; MASOERO, F.; FERRARETTO, L.P.; HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. **Starch/Starke Journal**, v.66, p.72-90, 2014.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; SHAVER, R.D.; COBLENTZ, W.K.; SCOTT, M.P.; BODNAR, A.L.; SCHMIDT, R.J.; CHARLEY, R.C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.2465-2474, 2011.

HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Grain quality: A dairy cow's perspective. In: WISCONSIN CROP MANAGEMENT CONFERENCE, 2011, Wisconsin. **Proceedings**. Wisconsin:University of Wisconsin-Extension, 2011. p.51-73.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for than feeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1791-1794, 1999.

HU, W.; SCHMIDT, R.J.; McDONELL, E.E.; KLINGERMAN, C.M.; KUNG JR, L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3907-3914, 2009.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; TENORIO, M.D.; MARTOS, I.E.; RUPÉREZ, P. Health Promoting effects of a dietary fiber concentrate from the soybean byproduct okara in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.7495-7501, 2008.

JOBIM, C.C.; CALIXTO JUNIOR, M.; BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; OLIVEIRA, F.C.L. Silagem de grãos de milho (*Zea mays* L.) com diferentes níveis de grãos de soja (*Glycine Max* Merrill). **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.773-782, 2010.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G. Principios basicos da fermentacao na ensilagem. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. (Ed.) **Forragicultura, ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros**. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel – ME, 2013. p.649-660.

JOBIM, C.C.; SILVA, M.S.; CALIXTO JUNIOR, M. Challenges in the utilization of high moisture grains silage for ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2009. p.91-108.

KRISTENSEN, N.B.; SLOTH, K.H.; HOJBERG, O.; SPLIID, N.H.; JENSEN, C.; THOGERSEN, R. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents aerobic stability, and milk production under field conditions. **Journal of Dairy Science**, v.93, 2010.

KRIZSAN, S.J.; RANDBY, A.T.; WESTAD, F. Effect of acetic acid, caproic acid and tryptamine on voluntary intake of grass silage by growing cattle. **Grass and Forage Science**, v.67, p.361-368, 2012.

KROONEMAN, J.; FABER, F.; ALDERKAMP, A.C.; OUDE ELFERINK, S.J.H.W.; DRIEHUIS, F.; CLEENWERCK, I.; SWINGS, J.; GOTTSCHAL, J.C.; VANCANNEYT, M. *Lactobacillus diolivorans* sp. Nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.52, p.639-646, 2002.

KUNG JR, L. Aerobic Stability of Silage. In: ALFALFA & FORAGE SYMPOSIUM AND CORN/CEREAL SILAGE CONFERENCE, 2010, California. **Proceedings**. Davis: Plant Sciences Department, University of California, 2010.

KUNG JR., L.; SHAVER, R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. **Focus on Forage**, v.3, p.1-5, 2001.

LI, Y.; NISHINO, N. Effects of inoculation of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and microbial communities in whole crop corn silage. **Grassland Science**, v.57, p. 184-191, 2011.

MAHANNA, B.; CHASE, L.E. Practical Applications and solutions to silage problems. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p. 855-895.

MUCK, R.E. Silage microbiology and its control through additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.183-191, 2010 (supl. especial).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle – NRC**. Washington, D.C.: National Academy Press. 2001. 157p.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; KROONEMAN, J.; GOTTSCHAL, J.C.; SPOELSTRA, S.F.; FABER, F.; DRIEHUIS, F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, p.125-132, 2001.

PAHLOW, G.; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F.; STEFANIE, J.W.H.; SPOELSTRA, S.F. Microbiology of ensiling. . In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p.31-94.

PAULETTO, F.B.; FOGAÇA, A.O. Avaliação da composição centesimal de tofu e okara. **Ciências da Saúde**, v.13, p.85-95, 2012.

PERUSSELLO, C.A. **Estudo dos parâmetros de processo e modelagem numérica da secagem do resíduo sólido da produção do extrato hidrossolúvel de soja (okara)**. 2008. 127p. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

ROOKE, J.A. HATFIELD, R.D. Biochemistry of ensiling. . In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Ed.). **Silage Science and Technology**. Madison, 2003. p.95-140.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forage quality during harvest and storage. In: FAHEY, G. C; Collins, M.; MERTENS, D.R.; MOSER, L.E. (Ed) **Conf. on Forage Quality, Evaluation, and Utilization**. Madinson: Univ. Nebraska, 1994.

SCHMIDT, R.J.; KUNG, L. JR. The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. **Journal of Dairy Science**, v.93, 2010.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide: statistics**. Version 9.2. Cary, NC: SAS Institute, 2009.

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

TRES, T.T.; JOBIM, C.C.; ROSSI, R.M.; SILVA, M.S.; POPPI, E.C. Silagem de grãos de milho, com adição de soja: estabilidade aeróbia e desempenho de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v.15, p.248-260, 2014.

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

VARGAS, M.D. **Okara na alimentação de frangos de corte na fase inicial e de crescimento**. 2013. 83p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

Tabela 1. Composição química do okara (subproduto do processamento da soja) e do milho antes da ensilagem.

Nutriente (%)	Okara	Milho
Matéria seca	19,36	88,00
Matéria orgânica	95,21	98,77
Proteína bruta	29,85	8,86
Extrato etéreo	18,07	3,95
Fibra em detergente neutro	27,67	7,99
Fibra em detergente ácido	17,59	2,65
Matéria mineral	4,79	1,23

Tabela 2. Composição nutricional (% da MS), pH, N – amoniacal (% do N total) e digestibilidade “*in vitro*” da matéria seca (DIVMS) de silagens de grãos de milho com adição de okara.

	Teores de okara					Regressões	R ²	P
	0%	20%	30%	40%	50%			
MS	59,39	50,81	41,09	34,4	29,35	$y_i = 60,5771 - 0,6274x_i$	0,95	<0,0001
MO	98,79	98,17	97,61	97,29	96,77	$y_i = 98,8545 - 0,0403x_i$	0,95	<0,0001
MM	1,21	1,83	2,39	2,7	3,23	$y_i = 1,1455 + 0,0403x_i$	0,95	<0,0001
FDN	7,98	10,53	12,34	15,1	17,43	$y_i = 7,3519 + 0,1901x_i$	0,93	<0,0001
FDA	2,24	4,11	7,01	10,4	11,99	$y_i = 1,3425 + 0,2074x_i$	0,90	<0,0001
EE	3,95	6,65	9,49	11,15	13,67	$y_i = 3,5041 + 0,1957x_i$	0,93	<0,0001
PB	8,91	13,6	17,38	20,94	25,18	$y_i = 8,0904 + 0,3254x_i$	0,94	<0,0001
pH	3,92	4,43	4,56	4,31	4,23	$y_i = 3,9281 + 0,0387x_i - 0,000667x_i^2$	0,55	0,0011
N-NH ₃	5,79	4,46	5,26	4,25	2,85	$y_i = 5,6267 - 0,001999x_i - 0,000970x_i^2$	0,63	0,0002
DIVMS	83,05	75,48	76,39	75,32	73,08	$y_i = 82,6424 - 0,3396x_i + 0,003268x_i^2$	0,70	<0,0001

Tabela 3. Produtos da fermentação de silagens de grãos de milho com adição de okara.

	Teores de okara					Regressões	R ²	P
	0%	20%	30%	40%	50%			
Ác. Lático (%)	1,27	1,04	1,01	2,68	1,97	$y_i = 1,1786 - 0,0141x_i - 0,000749x_i^2$	0,39	0,0143
Ác. Acético (%)	0,34	1,61	2,67	3,75	3,22	$y_i = 0,2179 + 0,1043x_i - 0,000762x_i^2$	0,74	<0,0001
Ác. Butírico (%)	0,08	0,04	0,36	0,61	2,48	$y_i = 0,1467 - 0,0540x_i + 0,0019x_i^2$	0,71	<0,0001
Ác. isobutírico*	10	46,5	111,25	169	190,75	$y_i = -4,1351 + 3,9155x_i$	0,29	0,0144
2,3-Butanodiol (%)	0,02	0,09	0,29	0,476	0,42	$y_i = -0,01445 + 0,0097x_i$	0,70	<0,0001
Etanol (%)	0,19	0,13	0,36	0,66	0,69	$y_i = 0,1589 - 0,002599x_i + 0,000292x_i^2$	0,64	0,0002
1-Propanol*	69,25	421,5	2418,75	5264	4642,75	$y_i = -210,9127 + 54,4028x_i + 1,1582x_i^2$	0,66	0,0001
2-Butanol*	6	10,25	123,25	296	546	$y_i = 5,7533 - 6,6671x_i + 0,3493x_i^2$	0,85	<0,0001
Ác. Propiônico (%)	0,01	0,13	0,60	1,19	0,98	$y_i = -0,0545 + 0,0177x_i + 0,000130x_i^2$	0,66	0,0001
Ác. Fórmico (%)	0,003	0,02	0,10	0,18	0,14	$y_i = -0,0079 + 0,0030x_i + 0,000010x_i^2$	0,65	0,0001
Ác. valérico*	7,25	25,25	305,25	615,25	2081,25	$y_i = 58,6108 - 40,3052x_i + 1,5526x_i^2$	0,63	0,0002
Ác. isovalérico*	12,25	42,25	148,75	257,25	254	$Y_i = -13,9662 + 5,6024x_i$	0,23	0,0311
Metanol*	17	41,5	94	131	125	$y_i = 11,6797 + 2,4985x_i + 0,000059x_i^2$	0,75	<0,0001
1,2-Propanodiol (%)	0,10	0,92	0,68	1,08	0,72	$y_i = 0,1118 + 0,0481x_i - 0,000700x_i^2$	0,37	0,0193
Lactato de etila*	42,5	8,75	9,5	26,75	17	$y_i = 40,4212 - 1,8897x_i + 0,0309x_i^2$	0,31	0,0417
Álcool isopropílico*	9,5	10	39	162	466,50	$y_i = 21,1384 - 10,0688x_i + 0,3687x_i^2$	0,42	0,0088
Acetona*	6,25	29,50	59,75	32,75	42,75	$y_i = 5,5074 + 2,1897x_i - 0,0302x_i^2$	0,47	0,0043
Acetato de etila*	11	3,50	10	66	34,75	$y_i = 6,9157 - 0,0445x_i + 0,0170x_i^2$	0,32	0,0378
Acetato de propila*	1	3,75	23,75	118,75	53,25	$y_i = 6,9963 + 1,4448x_i + 0,0061x_i^2$	0,36	0,0215

* mg/kg de matéria seca corrigida.

Tabela 4. Estabilidade aeróbia das silagens de grãos de milho com adição de okara.

	Teores de okara					Regressões	R ²	P
	0%	20%	30%	40%	50%			
Perdas (%)	6,29	7,33	6,55	4,97	5,26	-	-	ns
Tmax (°C)	41,4	40,4	33,9	26,8	27,3	$y_i = 42,1533 - 0,1496x_i - 0,0037x_i^2$	0,72	<0,0001
TTmax (h)	139,8	159	155	135	139	-	-	ns
HT>2°C (h)	27	17	99	165	149	$y_i = 16,6701 + 1,1618x_i + 0,0390x_i^2$	0,72	<0,0001
pHmax	7,95	7,81	6,76	4,74	4,72	$y_i = 8,0943 - 0,00879x_i - 0,00134x_i^2$	0,64	0,0002
TpHmax (h)	132,8	168	180	186	186	$y_i = 132,5511 + 2,3033x_i - 0,0245x_i^2$	0,42	0,0105

ns = não significativo Tmax = temperatura máxima alcançada; TTmax = tempo em horas para alcançar a temperatura máxima; HT>2°C = horas para atingir a temperatura maior que 2 °C da temperatura ambiente; pHmax = pH máximo alcançado; TpHmax = tempo em horas para o pH máximo das silagens.

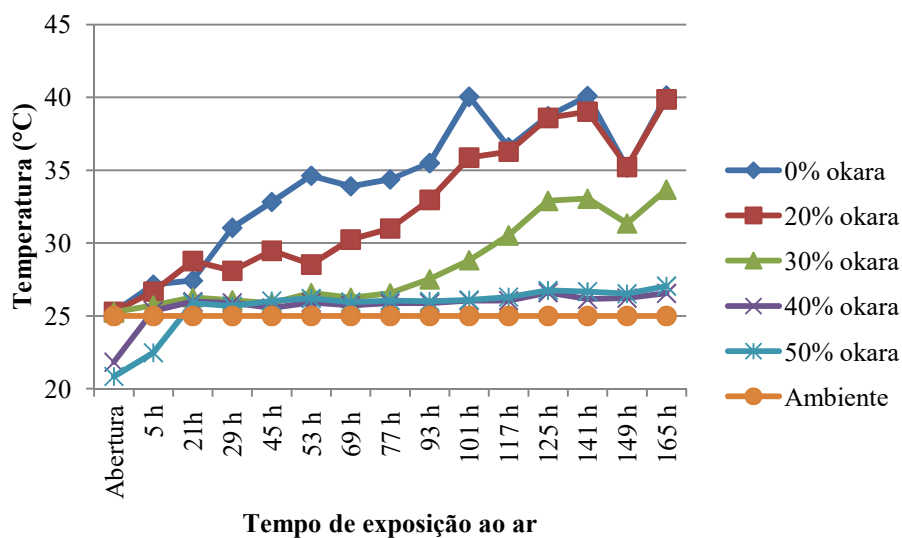


Figura 1. Valores observados de temperatura para as silagens de grãos de milho com adição de 0, 20, 30, 40 e 50% de okara durante a exposição aeróbia.

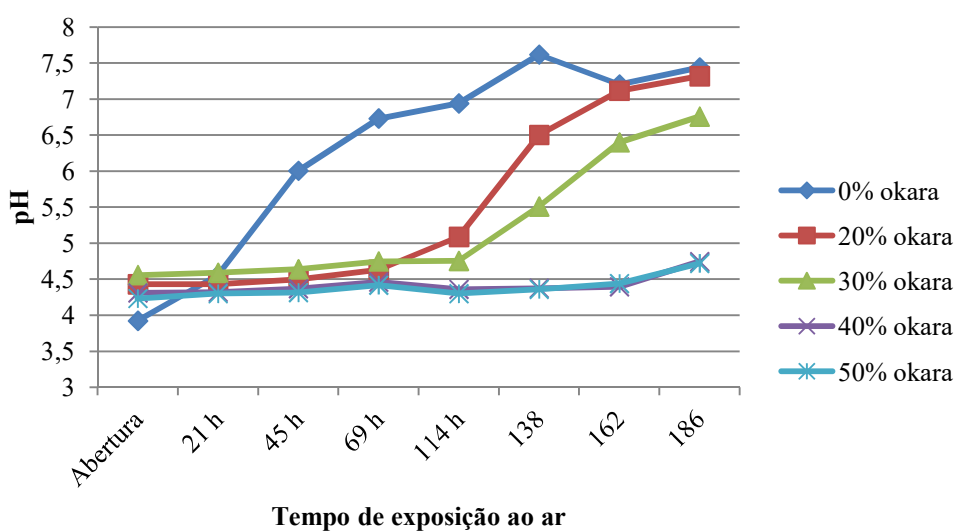


Figura 2. Valores de pH observados para as silagens de grãos de milho com adição de 0, 20, 30, 40 e 50% de okara durante a exposição aeróbia.

IV – Valor alimentício de grãos de milho reidratados e ensilados com a inclusão do subproduto okara ou da soja em grão no desempenho de vacas em lactação

Resumo – Objetivou-se avaliar a ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade dos nutrientes, a produção e composição do leite e a eficiência alimentar de vacas alimentadas com silagens de grãos de milho com adição de okara ou de soja em grãos. Foram utilizadas 6 vacas da raça Holandesa, distribuídas em um duplo quadrado latino 3 x 3. Foram avaliados os seguintes tratamentos: concentrado formulado à base de silagem de grãos de milho com adição de 30% de okara na matéria seca; concentrado com silagem de grãos de milho com adição de 20% de soja crua e concentrado à base de grãos secos de milho, em uma proporção volumoso:concentrado de 60:40. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias, sendo os últimos sete dias de cada período destinados à coleta de dados. A análise estatística foi realizada por meio de Inferência Bayesiana. As dietas formuladas com as silagens diminuíram o consumo de matéria seca em 2,13 kg e 1,78 kg, respectivamente, para as dietas com silagem de grãos de milho com soja e silagem de grãos de milho com okara em relação à dieta com concentrado à base de grãos secos. Foi verificada maior digestibilidade da MS, MO, CNF e EE para as dietas com a inclusão da silagem de grãos. Não houve efeito na produção e na composição do leite. Houve aumento do CLA (cis 9 trans 11) para a dieta com silagem de grãos de milho com adição de soja (0,44%). A ensilagem de grãos de milho reidratados com adição de soja ou do subproduto okara diminui o consumo de matéria seca, aumenta a digestibilidade dos nutrientes e mantém a mesma produção de leite, o que demonstra superioridade na eficiência das dietas com a inclusão das silagens.

Palavras chave: ácidos graxos, dienos conjugados, eficiência alimentar, subproduto da agroindústria, ingestão de matéria seca, produção de leite

Food value of rehydrated corn grain silage with the addition of okara or soybean grain and performance of lactating cows

Abstract – The objective was to evaluate the dry matter intake, digestibility, the milk composition and the production of cows fed corn grain silage with addition of okara or

soybeans. For that, six Holstein cows were distributed in a double latin square 3 x 3. The following treatments were evaluated: concentrate formulated based on corn grain silage with 30% of okara addition in dry matter; concentrate of corn grain silage with 20% of raw soybean and concentrate based on dried corn, in a forage: concentrate ratio of 60:40. The experimental periods lasted 21 days and the last seven days of each period were used for data collection. Statistical analysis was performed by means of Bayesian Inference. Diets formulated with silage decreased dry matter intake in 2.13 and 1.78 kg for silage with soybean and silage with okara, respectively, in relation to concentrated based on dry grains. Higher digestibility for DM, OM, NFC and EE for diets with the inclusion of grain silage was found. There was no effect on milk production and composition. An increase of CLA (cis 9 trans 11) for silage with added soybean diet (0.44%) was similar to silage with okara (0.37%) and decrease for concentrated with dry grains (0.31%). The rehydrated corn grain silage with added soybean or okara by-product decreases the dry matter intake and increases digestibility of nutrients, which keeps the same production and milk composition, which shows the superiority of feed efficiency in diets that include silages.

Keywords: fatty acids, conjugated dienes, by-product of agribusiness, feed efficiency, dry matter intake, milk production,

Introdução

A degradabilidade do amido no rúmen depende de vários fatores, como a textura do grão de milho, seu processamento, nível de ingestão e a cinética ruminal (Donkin, 2014). O processamento na forma de ensilagem dos grãos de milho atua positivamente sobre a digestibilidade dos grânulos de amido (Defoor et al., 2006; Fernandes, 2014). De acordo com Jobim et al. (2009), além da melhor conversão alimentar em relação aos grãos secos, a ensilagem dos grãos destaca-se também pelo menor custo de produção (entre 7 e 15%), que é determinado pela eliminação de etapas como transporte do milho para os silos graneleiros, limpeza, secagem, expurgo e diminuição de perdas por quebra devido ao excesso de umidade.

Sabe-se que a composição e a qualidade nutritiva da silagem de grãos podem ser alteradas consideravelmente com o uso de diversos alimentos no momento da ensilagem. No entanto, o seu uso deve ser estratégico, dependendo de cada caso. Por exemplo, a soja grão adicionada em 20% na silagem de grãos de milho tem apresentado

resultados positivos, tanto em termos de qualidade nutricional e fermentação no silo (Jobim et al., 2010), quanto em resposta animal (Calixto Jr, 2010; Tres et al., 2014).

Outros produtos podem ser utilizados no momento da ensilagem, como o okara, subproduto do processamento da soja para obtenção do extrato aquoso e do tofu. Para sua obtenção, os grãos de soja são lavados, macerados, posteriormente moídos e aquecidos a 100°C por cinco minutos, para então passarem por filtração que separa o extrato aquoso do okara (Bowles & Demiate, 2006). Este subproduto apresenta boa qualidade nutricional, com teor (com base na matéria seca) de proteínas de 24 a 37,5%, lipídeos de 9,3 a 22,3% e fibra bruta de 14 a 55% (Jiménez-Escrig et al., 2008; Aparicio et al., 2010; Vargas, 2013). Este subproduto ainda apresenta baixo custo de mercado e pode ser utilizado como matéria-prima em vários produtos, tanto na alimentação humana quanto animal (Bowles & Demiate, 2006). No entanto, seu alto teor de umidade (em torno de 75%), torna difícil seu manuseio de secagem. Na sua forma úmida, apresenta-se como um alimento promissor para a ensilagem com grãos secos de milho.

Objetivou-se avaliar a ingestão de matéria seca, digestibilidade da dieta, a composição e a produção do leite e a eficiência alimentar de vacas alimentadas com silagens de grãos de milho reidratados, com adição de okara ou de soja em grãos.

Material e Métodos

Para a avaliação do desempenho de vacas leiteiras, o experimento foi conduzido no setor de Bovinocultura de Leite, na Fazenda Experimental de Iguatemi, e as análises químicas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, pertencente à Universidade Estadual de Maringá, na região Noroeste do Paraná.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: Concentrado formulado com silagem de grãos de milho com adição de 30% de okara (SGMO); concentrado formulado com silagem de grãos de milho com adição de 20% de soja crua (SGMS) e concentrado à base de grãos secos de milho (GS), em uma proporção volumoso:concentrado de 60:40. Foi utilizada a silagem de milho planta inteira como volumoso.

Para a produção da silagem de milho com adição de okara, o grão seco de milho foi moído e posteriormente feita a inclusão do okara (subproduto do extrato aquoso da soja) na quantidade de 30% na matéria seca. O subproduto (okara) foi cedido pela Cocamar Cooperativa Agroindustrial, unidade de Maringá - PR. No momento da ensilagem, foi determinado o teor de matéria seca do okara, em forno micro-ondas de acordo com metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002), de forma a ajustar a

inclusão do subproduto na quantidade estabelecida. Após mistura homogênea do milho e do okara foi feita a ensilagem.

Para a ensilagem do milho seco com a inclusão de 20% de soja em grão na matéria natural, os grãos foram moídos em peneiras com crivo de 10 mm. No momento da ensilagem, foi feita a adição de água para atingir um teor de umidade de 35% para permitir uma adequada fermentação no silo, que após mistura homogênea foi ensilado.

Em ambas silagens foi utilizado o inoculante microbiano à base de *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U, *Propionibacterium acidipropionici* MA 26/4U (Lallemand Animal Nutrition), aplicado por meio de pulverizador costal, buscando-se uma distribuição uniforme.

Como silos experimentais, foram utilizados tambores de plástico com capacidade para cerca de 200 kg (5 tambores para cada silagem). Os silos foram armazenados em área coberta e permaneceram vedados por um período de 104 dias. Parte do milho em grão seco utilizado na produção das silagens foi armazenado para posterior formulação do concentrado, considerado como tratamento controle.

Para as avaliações de desempenho e digestibilidade, foram utilizadas 6 vacas da raça Holandesa, com peso corporal médio de 596 ± 44 kg, com tempo de lactação médio de 110 ± 37 dias, que foram agrupadas em dois quadrados latinos 3 x 3, simultâneos. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias cada, sendo os 14 primeiros dias de adaptação às rações e 7 dias de coletas.

Os animais foram alimentados com as dietas experimentais, formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1), conforme recomendação do NRC (2001). Na Tabela 2, estão apresentados os produtos da fermentação das silagens de grãos de milho com soja e de grãos de milho com okara.

Os animais foram manejados em baias individuais tipo “Tie Stall”, com comedouro individual e bebedouro para duas baias. A alimentação foi fornecida *ad libitum*, duas vezes ao dia, sendo permitidas sobras de 10% do fornecido. A distribuição da ração foi realizada após os períodos de ordenha (7:30 h e 15:30 h). Durante a noite, os animais permaneciam em um piquete devidamente roçado (sem oferta de forragem) para descanso. Foi feito o controle diário durante todo período experimental da oferta e das sobras de alimentos, bem como da produção de leite individualizada.

Para a avaliação da digestibilidade “*in vivo*”, do décimo quinto ao décimo nono dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de fezes diretamente da ampola retal de cada vaca, na seguinte distribuição: 15º dia (6 h), 16º dia (9 h), 17º dia

(12 h), 18º dia (15 h), 19º dia (18 h). Também foram coletadas amostras de alimentos e sobras, que foram identificadas e congeladas a -20°C. Posteriormente, foram descongeladas e secas em estufa de circulação forçada de ar, a 55°C por 72 h, e moídas em moinhos tipo Willey, utilizando peneira com crivo de 1 mm. Em seguida, as amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, e obtida uma amostra composta de fezes, alimentos e sobras por animal/período. As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, e de fezes foram analisadas determinando-se os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com Van Soest et al. (1991).

O indicador interno utilizado para estimar a produção fecal foi a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Foram analisadas amostras de alimentos, sobras e fezes por intermédio de procedimento de incubação “*in situ*”, por 288 h, sendo as amostras processadas em peneira de crivo de 2 mm e incubadas no rúmen em bolsas F57.

A percentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada segundo equação descrita por Sniffen et al. (1992): $NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED \times 2,25)$, em que: NDT = nutrientes digestíveis totais; PBD = proteína bruta digestível; FDND = fibra em detergente neutro digestível; CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis; EED = extrato etéreo digestível. Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados: $CNF (\%) = 100 - ((\%) PB + (\%) FDN + (\%) EE + (\%) cinzas)$.

Para a avaliação da produção de leite, foram utilizados os dados coletados nos últimos cinco dias de cada período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura por meio da fórmula de Sklan et al. (1992), onde: $kg \text{ de leite corrigido a } 3,5\% \text{ de gordura} = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura}) \times \text{produção de leite (kg/dia)}$. Com o valor da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, foi calculada a eficiência alimentar, que correspondeu à razão entre a produção de leite (kg) e o consumo de alimentos (kg).

Para a determinação dos constituintes do leite (gordura, lactose, proteína, caseína, sólidos totais, nitrogênio ureico no leite e a Contagem de Células Somáticas- CCS), foram feitos três dias de coletas de leite com amostras compostas nas ordenhas da manhã e da tarde. Em cada ordenha, foram coletados 40 mL de leite, os quais foram armazenados em potes de polietileno com um comprimido de conservante Bronopol®, e encaminhadas ao Laboratório do Programa de Análises do Leite da Associação

Paranaense de Criadores Bovinos da Raça Holandesa - APCBRH, Curitiba – PR para análise.

Para determinar a composição de ácidos graxos da gordura do leite, foram coletados 50 mL de amostra, que imediatamente após a coleta foi conservado a -20°C em frascos de polietileno. As amostras (50 mL) foram coletadas proporcionalmente na ordenha da manhã e da tarde, com base na produção individual diária de cada animal. A gordura presente no leite foi extraída por centrifugação (Murphy et al., 1995) e esterificada de acordo com o método 5509 da ISO (1978) com KOH/metanol e n-heptano.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa (Cromatógrafo Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) auto amostrador, equipado com detector de ionização de chama a 235°C e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 μm , Restek 2560). O fluxo de gases foi de 1,4 mL/min de H_2 (gás de arraste), 30 mL/min para N_2 (gás auxiliar) e 30 e 300 mL/min, respectivamente, para o H_2 e ar sintético (gases para chama). A temperatura inicial da coluna foi estabelecida em 65°C , mantida por 4 minutos, elevada até 185°C a uma taxa de $16^{\circ}\text{C}/\text{min}$, mantida por 12 minutos, por até 235°C de temperatura final, elevada a taxa de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e mantida por 14 minutos. A quantificação dos ácidos graxos da amostra foi efetuada por comparação com o tempo de retenção de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras padrões (Sigma Aldrich).

Outra amostra de 50 mL de leite foi coletada em frascos de polietileno com conservante azida sódica e preservado a -20°C , para as medidas da oxidação de lípideos, com a medida dos produtos formados na reação de oxidação ou hidroperóxidos dieno conjugado (DC), seguindo o protocolo descrito por Kiokias et al. (2006). Amostras de leite (50 μL) foram adicionadas à mistura de 2,5 mL de iso octano/2-propanol (2:1 v/v) e agitadas em vórtex durante 10 segundos. A filtração (PTFE) foi realizada antes da medição no espectrofotômetro de UV-Vis nas absorvâncias de 232, 235, 245 nm.

Coletas de sangue foram realizadas no último dia de cada período experimental, após a ordenha da manhã, por punção da veia mamária. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (vacutainer) de 10 mL para dosagem dos parâmetros sanguíneos glicose, colesterol total e triglicerídeos. Imediatamente após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 2.500 g, durante 15 minutos, para a obtenção do plasma, que foi transferido para eppendorfs®, identificados e armazenados a -20°C , até o procedimento

das análises laboratoriais, por meio de kits comerciais (Analisa®), sendo que as leituras foram feitas em espectrofotômetro.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio de Inferência Bayesiana descrita em Rossi (2011). Foi considerado que a resposta (Y_{ij}) segue distribuição normal, isto é, $Y_{ij} \sim N(\mu_j, \sigma_j^2)$, $i = 1, 2, \dots, n_j$ para os j -ésimos níveis de tratamento. Para cada μ_j e σ_j^2 foram consideradas *a priori* distribuições não-informativas, respectivamente, $\mu_j \sim N(0, 10^{-6})$ e $\sigma_j^2 \sim \text{Gamma}(10^{-3}, 10^{-3})$ conforme parametrização OpenBUGS. Foram realizadas comparações múltiplas entre as distribuições *a posteriori* das médias dos indicadores *versus* controle. Consideraram-se como diferentes, em nível de 5% de significância, os níveis de tratamento cujos intervalos de credibilidade para as diferenças médias não contemplam o valor zero.

Foram utilizadas como valores iniciais para cada μ_j , respectivamente, a média amostral do j -ésimo tratamento. A obtenção das distribuições marginais *a posteriori*, para todos os parâmetros envolvidos do modelo, foi por meio do pacote *BRugs* do programa *R* (R Development Core Team, 2015). Foram gerados 10.000 valores em um processo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), e, considerando um período de descarte amostral de 1.000 valores iniciais, assim a amostra final, retirada em saltos de tamanho igual a 1, conteve 10.000 valores gerados. Para o perfil de ácidos graxos do leite, foram gerados 60.000 valores em um processo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), e, considerando um período de descarte amostral de 10.000 valores iniciais, assim a amostra final, retirada em saltos de tamanho igual a 1 (ausência de autocorrelação) conteve 50.000 valores gerados. A convergência das cadeias foi verificada por meio do critério de Heidelberg & Welch no pacote *coda* do *R*.

Resultados e Discussão

Foi verificado efeito do concentrado na ingestão de matéria seca (IMS). A maior IMS (17,59 kg de MS) foi para o concentrado com milho em grãos secos, cuja dieta apresentou as menores digestibilidades dos nutrientes (Tabela 3). A redução na IMS da dieta foi de 2,13 kg e 1,78 kg de MS, respectivamente, para SGMS e SGMO em relação à dieta com concentrado à base de grãos secos. Redução na ingestão também foi encontrada por Oba & Allen (2003a) para grãos úmidos de milho (1,7 kg de MS), quando comparados à dieta com grãos secos. A diminuição da IMS para silagem pode ser atribuída ao amido mais fermentável no rúmen, que aumenta a produção de AGV, especialmente a proporção de propionato (Krause et al., 2002; Allen et al., 2009).

O propionato está envolvido na regulação do consumo, fazendo com que vacas alimentadas com silagem de grãos úmidos de milho apresentem maior número de refeições por dia, entretanto, com menor tempo de IMS nestas alimentações (Oba & Allen, 2003a). No fígado, onde parte do propionato é absorvido, quando isso ocorre em uma taxa maior do que aquela que pode ser convertida em glicose, ele é então oxidado, gerando ATP, que tem função de enviar sinais de saciedade para o cérebro e, assim, reduzir a IMS (Bradford & Allen, 2007; Allen et al., 2009).

Houve efeito do concentrado na digestibilidade da matéria seca e da matéria orgânica das dietas (Tabela 3), sendo os maiores valores encontrados para o tratamento com silagem de grãos de milho+soja, porém, semelhante ao concentrado à base de silagem de grãos de milho+okara. A maior disponibilidade dos nutrientes pode ser atribuída ao efeito da ensilagem dos grãos de milho, que devido às fermentações no silo tem demonstrado diminuição no teor das proteínas prolaminas-zeínas (Hoffman et al., 2011; Fernandes, 2014). As zeínas são proteínas responsáveis por encapsular os grânulos de amido, formando uma matriz de proteínas hidrofóbicas. Essa matriz (proteína-amido) tem sido definida como um impedimento para a digestão do amido em ruminantes (Hoffman & Shaver, 2011).

A dieta com SGMS proporcionou maiores valores de digestibilidade da PB (80,31%), possivelmente devido à maior proteólise durante as fermentações ocorridas no silo para esta silagem. A digestibilidade da PB para a dieta à base de SGMO (75,70%) e GS (71,89%) foi semelhante.

A maior digestibilidade dos CNF foi observada para as dietas com grãos ensilados, com valores de 96,99% para SGMS e 95,02% para SGMO, superior ao concentrado à base de milho grão seco (91,69%), o que evidencia a maior disponibilidade do amido dos grãos ensilados.

Não houve efeito do concentrado para a digestibilidade da fibra em detergente neutro das dietas, com maior valor numérico para a SGMS (49,73%), seguida da SGMO (46,66%) e do concentrado com grãos secos (42,80%). Da mesma forma, Taylor & Allen (2005) não verificaram alteração para a digestibilidade da FDN quando vacas foram alimentadas com amido de alta ou baixa degradabilidade ruminal (milho com endosperma vítreo ou farináceo), mas verificaram correlação positiva entre digestibilidade da FDN e do amido, atribuído à interação entre microrganismos ruminais. Também Mourino et al. (2001), no estudo de culturas de bactérias

celulolíticas e não celulolíticas, verificaram aumento no desaparecimento “*in vitro*” da celulose, sugerindo interações entre as populações microbianas no rúmen.

Houve efeito da dieta para o teor de NDT calculado, com os maiores valores encontrados para as dietas com SGMS (75,04%) e SGMO (72,12%). Devido à menor digestibilidade dos nutrientes, o concentrado formulado com grãos secos resultou em menor NDT (67,04%). O maior NDT encontrado para as silagens também está relacionado ao maior teor de EE das dietas com concentrados à base de SGMS e SGMO, devido à maior disponibilidade de energia para os animais.

Em relação aos parâmetros sanguíneos avaliados, não foram encontradas alterações significativas, exceto para a concentração de glicose. Observa-se (Tabela 4) que houve aumento na concentração de glicose sanguínea das vacas alimentadas com concentrados à base de silagem SGMS (73,87 mg/dL) e SGMO (73,16 mg/dL), em relação àquelas que receberam grãos secos (65,27 mg/dL). Outros autores (Oba & Allen, 2003a; Bradford & Allen, 2004) também verificaram maiores teores de glicose plasmática para vacas alimentadas com dietas com grãos de alta fermentação ruminal. O alto teor de amido aumenta a produção de propionato no rúmen, que provavelmente irá promover maiores taxas de gliconeogênese (Huntington et al., 2006). Isto se deve ao fato do propionato ser o principal precursor para glicose em ruminates, seguido por aminoácidos e lipídeos (Allen et al., 2009).

Os concentrados não influenciaram a produção de leite (Tabela 5), com valores de 19,57; 18,13 e 17,78 litros para os tratamentos com grãos secos, SGMS e SGMO, respectivamente. Esta diferença numérica na produção de leite pode estar relacionada, entre outros fatores, ao consumo que foi menor nas dietas com grãos ensilados.

A diminuição da IMS observada para as silagens com adição de okara (129,9 g/kg PV^{0,75}) e de soja (127,6 g/kg PV^{0,75}) é compensada pelo aumento da digestibilidade encontrada para MS, MO, CNF e EE nestas silagens. A diminuição da ingestão e o aumento da digestibilidade demonstra eficiência alimentar (expressa como produção de leite corrigida para 3,5%/ingestão de matéria seca) superior para os tratamentos com a inclusão das silagens.

Não houve efeito do concentrado na composição química do leite. Os teores encontrados para proteína no leite foram em média de 3,5%, valores próximos do normalmente observado ($3,2 \pm 0,2\%$) para a raça holandesa (Peres, 2001). A contagem de células somáticas observada foi de 388.600; 231.500 e 203.000 células/mL para as vacas alocadas nos tratamentos SGMS; SGMO e GS, respectivamente. A CCS está

dentro do previsto pela IN n. 62 de dezembro de 2011, que determina a contagem de células somáticas em até 500.000 células/mL (Brasil, 2011).

As dietas não influenciaram os teores de lactose, caseína e sólidos do leite. Também não houve efeito para o teor de NUL, com valores de 17,43 mg/dL para SGMS; 18,55 mg/dL para SGMO e 19,61 mg/dL para GS, os quais estão um pouco acima dos valores considerados como normais por Jerszurki & Almeida (2011), com variação de 10 a 15 mg/dL, o que é um indicativo de excesso de proteína prontamente disponível.

Para a concentração de DC (mmol/kg de gordura) no leite houve um aumento ($P < 0,05$) de 45,6% para os animais alimentados com SGMO e 25,4% para os animais alimentados com a SGMS, quando comparados à dieta com grãos de milho seco. O equilíbrio entre as concentrações de antioxidantes e ácidos graxos poli-insaturados é o principal determinante do início da oxidação no leite (Granelli et al., 1998). Assim, com o aumento no teor de ácidos graxos insaturados, benéficos a saúde humana, pode ocorrer alteração da estabilidade oxidativa do leite (Kalac & Samkova, 2010).

Não houve efeito ($P > 0,05$) da dieta para o teor de gordura no leite, com valores dentro do normalmente observado ($3,6 \pm 0,2\%$) para a raça Holandesa, segundo Peres (2001). No entanto, o tratamento com o concentrado à base de SGMS apresentou tendência à diminuição no teor de gordura no leite (3,09%). Alguns trabalhos (Oba & Allen, 2003a; Bradford & Allen, 2004; Bitencourt, 2012) demonstram este efeito quando vacas são alimentadas com silagem de grãos úmidos de milho. No presente estudo, como a proporção da inclusão dos alimentos soja e okara na silagem de grãos de milho não foi a mesma (20% para a soja e 30% para o okara), o tratamento com a SGMS apresentou maior participação de milho na ensilagem, que pode ter proporcionado maior disponibilidade de amido no rúmen devido ao efeito da ensilagem nos grãos. A alteração da proporção de AGV produzidos no rúmen, com redução na proporção molar de acetato devido ao aumento na taxa de produção de propionato com a maior disponibilidade do amido, pode resultar em inadequado suprimento de precursores de lipídeos para a síntese *de novo* na glândula mamária diminuindo a gordura no leite (Bauman & Griinari, 2003).

A participação da soja em grão na silagem também pode favorecer a diminuição da gordura do leite. O aumento do teor de ácido linoleico em dietas com soja pode ocasionar o aumento da produção de CLA. Dois isômeros são propostos por causar a depressão na gordura do leite, sendo o de maior efeito o trans 10 cis 12, e com menores

efeitos o cis 9 trans 11- CLA (Bauman & Griinari, 2003; Bauman & Lock, 2006). De acordo com Bauman et al. (2008), o CLA pode inibir a síntese *de novo* resultando em diminuição no nível de ácidos graxos saturados no leite.

O aumento no CLA cis 9 trans 11 foi verificado neste estudo para o tratamento com SGMS (Tabela 6). No entanto, na literatura observa-se que trabalhos com a adição de soja em grãos ou óleo de soja não demonstram depressão na gordura do leite desde que adicionada a níveis de até 7% na MS (Santos et al., 2001; Barletta et al., 2012). Como os teores de EE nas dietas avaliadas foram baixos, 2,57% para GS, 3,70% para SGMO e 3,79% para SGMS, a tendência na depressão na gordura do leite das vacas no tratamento com soja pode ter ocorrido por interação entre a composição de ácidos graxos da soja e o amido de maior disponibilidade no rúmen. O aumento na concentração de CLA no leite mostra-se benéfico à saúde humana, devido principalmente a suas propriedades anticarcinogênicas e a redução do colesterol total (Bauman et al., 2008).

Não houve efeito para os demais ácidos graxos avaliados no leite. Neste estudo verificam-se teores médios de AG saturados de 61,29%, monoinsaturados de 32,20% e poli-insaturados de 7,51% da gordura do leite (Tabela 6). Na análise do leite de fazendas comerciais, com dietas à base de forragem conservada, Butler et al. (2008) relatam que o teores encontrados para a composição de ácidos graxos do leite foi de 66 a 69% para AG saturados, de 27 – 30,5% para monoinsaturados, e de 5 – 8% para poli-insaturados, o que demonstra que com a manipulação da dieta pode-se alcançar a superioridade na qualidade do produto final para o consumidor.

Conclusões

A ensilagem de grãos de milho reidratados com adição de soja ou do subproduto okara diminui a IMS e aumenta a digestibilidade dos nutrientes.

A utilização da combinação milho com soja em grãos ou com o subproduto okara pode ser utilizada na dieta de vacas leiteiras sem alterar a produção e composição do leite.

A silagem de grãos de milho com soja aumenta os teores de CLA no leite.

Referências

- ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J.; OBA, M. Invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v.87, p.3317-3334, 2009.
- APARICIO, I.M.; PEINADO, C.M.; ESCRIG, A.J.; RUPÉREZ, P. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.245-250, 2010.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. 1995. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995. p.2000.
- BARLETTA, R.V.; RENNO, F.P.; GANDRA, J.R.; FREITAS JUNIOR, J.E.; VERDURICO, L.C.; MINGOTI, R.D.; VILELA, F.G. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de Zootecnia**, v.61, p. 483-492, 2012.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v.23, p.203-227, 2003.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v.70, p.15-29, 2001.
- BAUMAN, D.E.; LOCK, A.L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2006, West Lafayette. **Proceedings**. West Lafayette: Cornell University, 2006. 14p.
- BAUMAN, D.E.; PERFIELD, J.W.; HARVATINE, K.J.; BAUMGARD, L.H. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. **The Journal of Nutrition**, p.403-409, 2008.
- BITENCOURT, L.L. **Substituição de milho moído por milho reidratado e ensilado ou melaço de soja em vacas leiteiras**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2012, 131p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- BRADFORD, B.J.; ALLEN, M.S. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.87, p. 3800-3807, 2004.
- BRADFORD, B.J.; ALLEN, M.S. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. **Journal of Dairy Science**, v.10, p.3838-3845, 2007.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 62 de 29 de Dezembro de 2011. Alteração do caput da Instrução Normativa MAPA n.51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 29 dez. 2011.
- BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo Francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.652-659, 2006.

BUTLER, G. NIELSEN, J.H.; SLOTS, T.; SEAL, C.; EYRE, M.D.; SANDERSON, R.; LEIFERT, C. Fatty acid and fat soluble antioxidant concentrations in milk from high and low input conventional and organic systems: seasonal variation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1431-1441, 2008.

CALIXTO JUNIOR, M. **Aditivos nutricionais na ensilagem de grãos úmidos de milho**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2010. 84p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

DEFOOR, P.J.; BROWN, M.S.; OEWNS, F.N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In: CATTLE GRAIN PROCESSING SYMPOSIUM, 1., 2006, Oklahoma. **Proceedings**. Oklahoma: CGP, 2006. p.93-98.

DONKIN, S.S. Metabolic response of dairy cows to ruminal starch digestion products. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM FORMULAÇÃO DE DIETAS PARA GADO LEITEIRO, 2014, Lavras, **Anais**. Lavras, 2014, p.33-38.

FERNANDES, J. **Influência de genótipo, maturidade e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de grãos de milho com alta umidade**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GRANELLI, K.; BARREFORS, P.; BJORCK, L.; APPELQVIST, L-A. Further studies on lipid composition of bovine milk in relation to spontaneous oxidized flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, p.161-171, 1998.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; SHAVER, R.D.; COBLENTZ, W.K.; SCOTT, M.P.; BODNAR, A.L.; SCHIMIDT, R.J.; CHARLEY, R.C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.2465-2474, 2011.

HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Grain quality: A dairy cow's perspective. In: WINCONSIN CROP MANAGEMENT CONFERENCE, 2011, Madison. **Proceedings**. Winconsin:University of Wisconsin-Extension, 2011. p.51-73.

HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.84, p.E14-E24, 2006 (Suppl. E).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO 5509). (1978) **Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids**. International Organization for Standardization – ISO, 1-6.

JERSZURKI, D.; ALMEIDA, R. Adequação da nutrição proteica visando a excreção mínima de resíduos no meio ambiente. In: IV SUL LEITE, 2011, Maringá. **Anais**. Maringá: Sthampa, 2011. p.9-26.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; TENORIO, M.D.; MARTOS, I.E.; RUPÉREZ, P. Health Promoting effects of a dietary fiber concentrate from the soybean byproduct okara in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.7495-7501, 2008.

JOBIM, C.C.; CALIXTO JUNIOR, M.; BUMBIERIS JUNOR, V.H.; OLIVEIRA, F.C.L. Chemical composition and quality of conservation of corn (*Zea mays* L.) grain silages with different levels of soy grains (*Glycine max* Merrill) **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.773-782, 2010.

JOBIM, C.C.; SILVA, M.S.; CALIXTO JUNIOR, M. Challenges in the utilization of high moisture grains silage for ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2009. p.91-108.

KALAC, P.; SAMKOVA, E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. **Czech Journal of Animal Science**, v.55, p.521-537, 2010.

KIOKIAS, S.N.; DIMAKOU, C.P.; TSAPROUNI, I.V. Effect of compositional factors against the thermal oxidative deterioration of novel food emulsion. **Food Biophysics**, v.3, p.115-123, 2006.

KRAUSE, K.M.; COMBS, D.K.; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II Ruminant pH and chewing activity. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1947-1957, 2002.

LOURINO, F.; AKKARAWONGSA, R.; WEIMER, J. Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.848-859, 2001.

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. **Production Science**, v.44, p.1-11, 1995.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle – NRC**. Washington, D.C.: National Academy Press. 2001. 157p.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.174-183, 2003.

PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.V.; FONTANELI, R.S. (Eds.) **Uso do leite como ferramenta do monitoramento nutricional**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.30-45.

R Development Core Team (2015). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em <<http://www.R-project.org>>.

ROSSI, R. M. **Introdução aos métodos Bayesianos na análise de dados zootécnicos com uso do WinBUGS e R**. Eduem, 2011. 191p.

SANTOS, F.L.; LANA, R.P.; SILVA, M.T.C.; BRANDAO, S.C.S.; VARGAS, L.H. Producao e composiçao do leite de vacas submetidas a dietas contendo diferentes níveis e formas de suplementação de lipídeos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.4, p.1376-1380, 2001.

SKLAN, D.; KEIM, M.; MOALLEM, U.; FOLMAN, Y. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, bodyweight, reproductive hormones and fertility in first parity and older cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1652-1660, 1994.

SILVA, J.F.C. Mecanismos reguladores do consumo. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.57-78.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX D.G.; RUSSEL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

TAYLOR, C.C.; ALLEN, M.S. Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: site of digestion and ruminal digestion kinetics in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1413-1424, 2005.

TRES, T.T.; JOBIM, C.C.; ROSSI, R.M.; SILVA, M.S.; POPPI, E.C. Silagem de grãos de milho, com adição de soja: estabilidade aeróbia e desempenho de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção animal**, v.15, p.248-260, 2014.

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

VARGAS, M.D. **Okara na alimentação de frangos de corte na fase inicial e de crescimento**. 2013. 83p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

Tabela 1 - Composição química e percentual das dietas experimentais avaliadas.

Alimento (%)	SGMO	SGMS	GS
Silagem de grão com 20% de soja	0,00	21,85	0,00
Silagem de grão com 30% de okara	20,88	0,00	0,00
Milho grão	0,59	0,00	18,51
Farelo de soja	16,03	15,42	18,76
Calcário	0,24	0,44	0,39
Bicarbonato de sódio	0,25	0,25	0,30
Premix*	2,00	2,03	2,00
Silagem de milho	60,00	60,00	60,00
Nutriente (%)			
PB	15,10	15,80	15,10
NDT	70,00	70,00	70,00
FDN	38,5	37,5	37,8
FDA	22,5	22,04	21,99
EE	3,70	3,79	2,57
Cálcio	0,53	0,60	0,60
Fósforo	0,33	0,33	0,39

SGMO = dieta com silagem de grãos de milho + 30% de okara; SGMS = dieta com silagem de grãos de milho + 20% de soja crua; GS = dieta com grãos secos de milho. *Composição: Cálcio 145,00 g/kg; Fósforo 51,00 g/kg; Enxofre 20,00 g/kg; Magnésio 33,00 g/kg; Potássio 28,00 g/kg; Sódio 93,00 g/kg; Cobalto 30,00 mg/kg; Cobre 400,00 mg/kg; Cromo 10,00 mg/kg; Ferro 2.000,00 mg/kg; Iodo 40,00 mg/kg; Manganês 1.350,00 mg/kg; Selênio 15,00 mg/kg; Zinco 1.700,00 mg/kg; Vitamina A 135.000,00 UI/kg; Vitamina D3 68.000,00 UI/kg; Vitamina E 450,00 UI/kg; Monensina sódica 480,00 mg/kg; Flúor 510,00 mg/kg

Tabela 2 – Produtos da fermentação das silagens de grãos de milho avaliadas.

	Silagem de grãos com okara	Silagem de grãos com soja
Ác. láctico (%)	6,91	4,12
Ác. acético (%)	0,80	0,34
Ác. butírico (%)	0,02	0,00
2,3-Butanodiol (%)	0,08	0,03
Etanol (%)	0,25	0,60
Ác. propiônico (%)	0,02	0,01
1,2-Propanodiol (%)	0,14	0,00
Ác. fórmico (%)	0,02	0,02
1-Propanol*	124,14	5,42
Ác. valérico*	3,45	7,17
Ác. iso-butírico*	26,06	8,70
Lactato de etila*	127,19	185,30
Ác. iso-valérico*	17,68	9,58
2-Butanol*	29,17	0,11
Metanol*	124,21	38,53
Álcool iso-propílico*	3,31	1,66
Acetona*	6,54	11,33
Acetato de etila*	30,39	56,18
Acetato de propila*	1,74	0,00
pH	3,90	4,02

*mg/kg de matéria seca

Tabela 3. Estimativas Bayesianas para ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade aparente dos nutrientes e nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas avaliadas.

Variável		Dieta		
		SGMO	SGMS	GS
IMS (kg)	Média (dp)	15,81 ^b (0,42)	15,46 ^b (0,58)	17,59 ^a (0,29)
	σ	0,95	1,34	0,66
IMS g/kg de PV ^{0,75}	Média (dp)	129,90 ^b (4,36)	127,60 ^b (6,83)	144,30 ^a (4,14)
	σ	9,89	15,83	9,48
DMS (%)	Média (dp)	71,20 ^{ab} (2,39)	74,89 ^a (1,88)	67,48 ^b (2,36)
	σ	5,41	4,36	5,41
DMO (%)	Média (dp)	73,12 ^{ab} (2,31)	76,61 ^a (1,56)	69,40 ^b (2,27)
	σ	5,23	3,62	5,20
DPB (%)	Média (dp)	75,70 ^b (1,46)	80,31 ^a (1,76)	71,89 ^b (3,21)
	σ	3,30	4,07	7,34
DCNF (%)	Média (dp)	95,02 ^a (0,78)	96,99 ^a (0,79)	91,69 ^b (0,91)
	σ	1,76	1,84	2,07
DEE (%)	Média (dp)	91,56 ^a (0,78)	92,25 ^a (0,81)	83,33 ^b (2,01)
	σ	1,76	1,88	4,59
DFDN (%)	Média (dp)	46,66 ^a (6,46)	49,73 ^a (4,84)	42,80 ^a (5,20)
	σ	14,64	11,22	11,90
NDT (%)	Média (dp)	72,12 ^{ab} (2,45)	75,04 ^a (1,57)	67,04 ^b (2,28)
	σ	5,56	3,64	5,21

SGMO = dieta com a inclusão da silagem de grãos de milho com 30% de okara; SGMS = dieta com a inclusão de silagem de grãos de milho com 20% de soja crua; GS = dieta com grãos secos de milho. Médias seguidas por diferentes letras nas linhas diferem entre si por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$). dp e σ : Desvio-padrão, respectivamente, da média a posteriori e populacional estimados.

Tabela 4. Estimativas Bayesianas para os parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa alimentadas com dietas contendo silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos (GS).

Variável		Dieta		
		SGMO	SGMS	GS
Glicose (mg/dL)	Média (dp)	73,16 ^a (1,85)	73,87 ^a (4,61)	65,27 ^b (2,57)
	σ	4,19	10,69	5,88
Colesterol (mg/dL)	Média (dp)	89,73 (9,46)	90,48 (10,42)	92,74 (11,95)
	σ	21,45	24,16	27,35
Triglicerídeos (mg/dL)	Média (dp)	13,12 (2,61)	11,66 (1,76)	12,26 (2,39)
	σ	5,90	4,07	5,47

Médias seguidas por diferentes letras nas linhas diferem entre si por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$). dp e σ : Desvio-padrão, respectivamente, da média a posteriori e populacional estimados.

Tabela 5. Estimativas Bayesianas para produção e composição do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com dietas à base de silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos (GS).

Variável		Dieta		
		SGMO	SGMS	GS
PL (kg/dia)	<i>Média (dp)</i>	17,78 (3,66)	18,13 (3,01)	19,57 (2,94)
	σ	8,29	6,96	6,73
PLC (kg/dia)	<i>Média (dp)</i>	17,44 (3,10)	17,08 (3,31)	18,84 (2,31)
	σ	7,03	7,66	5,28
EAC	<i>Média (dp)</i>	1,10 (0,19)	1,13 (0,26)	1,07 (0,12)
	σ	0,42	0,60	0,28
EA	<i>Média (dp)</i>	1,12 (0,21)	1,20 (0,24)	1,11 (0,16)
	σ	0,47	0,56	0,36
Gordura (%)	<i>Média (dp)</i>	3,46 (0,42)	3,09 (0,40)	3,35 (0,23)
	σ	0,96	0,92	0,53
Proteína (%)	<i>Média (dp)</i>	3,56 (0,29)	3,49 (0,28)	3,44 (0,23)
	σ	0,66	0,65	0,52
Lactose (%)	<i>Média (dp)</i>	4,42 (0,07)	4,37 (0,12)	4,54 (0,45)
	σ	0,16	0,29	0,34
Caseína	<i>Média (dp)</i>	2,84 (0,26)	2,80 (0,24)	2,74 (0,20)
	σ	0,58	0,55	0,45
Sólidos (%)	<i>Média (dp)</i>	12,33 (0,64)	12,14 (0,46)	12,30 (0,55)
	σ	1,45	1,05	1,25
CCS	<i>Média (dp)</i>	231,50 (137,30)	388,60 (305,60)	203,20 (125,20)
	σ	317,00	771,50	291,10
NUL (mg/dL)	<i>Média (dp)</i>	18,55 (1,95)	17,43 (1,92)	19,61 (1,60)
	σ	4,42	4,45	3,66
DC	<i>Média (dp)</i>	41,73 ^a (5,71)	35,93 ^{ab} (3,78)	28,66 ^b (2,00)
	σ	12,93	8,76	4,53

Médias seguidas por diferentes letras nas linhas diferem entre si por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$). dp e σ . Desvio-padrão, respectivamente, da média a posteriori e populacional estimados. PL = produção de leite; PLC = produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; EA = eficiência alimentar (produção de leite/ingestão de matéria seca); EAC = eficiência alimentar corrigida para produção de leite a 3,5% de gordura (PLC/ingestão de matéria seca); CCS = contagem de células somáticas; NUL = Nitrogênio ureico no leite; DC = Hidroperóxidos dienos conjugados (mmol/kg de gordura).

Tabela 6 – Estimativas Bayesianas para o perfil de ácidos graxos do leite (% do total da gordura do leite) de vacas da raça Holandesa alimentadas com dieta à base de silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dieta com grãos secos de milho (GS).

	SGMO			SGMS			GS		
	média	dp	σ	média	dp	σ	média	dp	σ
C4:0	0,25	0,04	0,09	0,24	0,02	0,05	0,23	0,04	0,09
C6:0	0,63	0,10	0,22	0,62	0,08	0,18	0,63	0,08	0,18
C8:0	0,52	0,06	0,14	0,56	0,04	0,09	0,60	0,06	0,13
C10:0	3,20	0,44	1,00	3,08	0,22	0,50	3,03	0,27	0,61
C11:0	0,02	0,01	0,03	0,05	0,02	0,05	0,02	0,01	0,03
C12:0	4,07	0,69	1,56	4,21	0,55	1,25	4,42	0,41	0,92
C13:0	0,39	0,08	0,18	0,34	0,04	0,10	0,30	0,03	0,07
C14:0	2,74	0,50	1,13	2,27	0,53	1,20	1,76	0,21	0,47
C15:0	2,14	0,41	0,94	2,59	0,25	0,58	2,20	0,19	0,43
C16:0	29,34	1,27	2,88	29,63	0,75	1,68	31,24	1,47	3,30
C17:0	0,90	0,09	0,20	1,01	0,06	0,14	1,05	0,06	0,13
C18:0	16,05	0,81	1,84	16,14	0,82	1,85	16,14	0,76	1,72
C20:0	0,17	0,04	0,09	0,18	0,02	0,05	0,17	0,03	0,06
C23:0	0,28	0,05	0,10	0,24	0,04	0,10	0,20	0,02	0,05
C16:1	2,67	0,25	0,58	2,82	0,19	0,43	2,85	0,30	0,68
C17:1	0,47	0,13	0,28	0,37	0,02	0,05	0,33	0,05	0,11
C18:1n9c	28,72	1,48	3,37	28,55	1,53	3,45	29,40	1,54	3,46
C22:1n9	0,16	0,04	0,09	0,13	0,02	0,06	0,10	0,03	0,06
C18:2n6t	0,40	0,03	0,06	0,46	0,05	0,11	0,35	0,05	0,11
C18:2n6c	0,62	0,05	0,11	0,61	0,07	0,15	0,59	0,08	0,19
c9,t11- CLA	0,37 ^{ab}	0,06	0,13	0,44 ^a	0,05	0,119	0,31 ^b	0,03	0,07
C20:2	0,97	0,14	0,33	0,84	0,11	0,25	0,79	0,07	0,15
C18:3n6	4,84	0,62	1,40	5,10	0,53	1,19	4,60	0,63	1,41
C18:3n3	0,31	0,04	0,08	0,30	0,06	0,14	0,25	0,03	0,06
C20:3n6	0,03	0,01	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	0,01	0,03
C20:3n3	0,03	0,01	0,03	0,02	0,01	0,03	0,01	0,01	0,03
C20:4n6	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
C20:5n3	0,04	0,01	0,03	0,04	0,01	0,03	0,03	0,01	0,03
C22:6n3	0,03	0,02	0,04	0,05	0,01	0,03	0,02	0,02	0,04
AGS	60,69	1,64	3,74	61,17	1,29	2,91	62,00	1,50	3,38
AGM	32,03	1,39	3,17	31,87	1,45	3,28	32,69	1,31	2,94
AGP	7,67	0,79	1,79	7,89	0,42	0,95	6,99	0,52	1,16
omega 6	5,91	0,63	1,43	6,21	0,45	1,02	5,57	0,56	1,25
omega 3	0,42	0,05	0,11	0,41	0,07	0,15	0,32	0,04	0,08
n6:n3	14,73	2,44	5,56	17,08	4,11	9,29	18,51	4,08	3,86

Letras distintas, na linha, indicam médias de tratamentos diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$); dp e σ : Desvio-padrão, respectivamente, da média a posteriori e populacional estimados.

V - Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com silagem de grãos de milho com a adição de soja em grão ou okara

Resumo - Objetivou-se avaliar a digestibilidade parcial e total dos nutrientes, a eficiência de síntese microbiana os parâmetros ruminais e a degradabilidade “*in situ*” de silagens de grãos de milho reidratados com a inclusão do subproduto okara ou da soja em grãos. Para isso, foram avaliados três tratamentos: concentrado com grãos secos de milho, concentrado com silagem de grãos de milho com adição de okara e concentrado com silagem de grãos de milho com adição de soja em grãos. Como volumoso foi utilizada a silagem de milho planta inteira. Foram utilizados três novilhos da raça Holandesa distribuídos em delineamento quadrado latino 3 x 3. Foram avaliadas a digestibilidade da MS, MO, FDN, CNF, EE, também o nitrogênio ureico no plasma, a eficiência de síntese microbiana, pH e N-amoniaco do conteúdo ruminal, além da degradabilidade “*in situ*” da MS e da PB dos concentrados. A digestibilidade ruminal dos CNF aumentou com a inclusão das silagens nas dietas, sendo maior para a silagem com okara (88,34%) e grãos de soja (87,87%) quando comparada ao concentrado com grãos secos (63,48%). A digestibilidade total do EE aumentou para o tratamento com silagem de grãos com soja (91,02%), e este apresentou-se semelhante ao concentrado com silagem de grãos com okara (89,91%). Não houve alteração para a digestibilidade dos demais nutrientes e a eficiência de síntese microbiana. Houve efeito para o pH com menores valores estimados para o tratamento com as silagens. Os maiores teores de N-amoniaco foram verificados para os tratamentos com silagem de grãos. Os concentrados formulados à base de silagem de grãos com adição de soja ou okara aumentaram a fração A na avaliação da degradabilidade e também a degradabilidade potencial. A substituição dos grãos secos da ração por silagem de grãos de milho com adição de soja ou okara demonstram melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais.

Termos para indexação: digestibilidade, degradabilidade “*in situ*”, pH, reidratados, rúmen

Ruminal parameters of cattle fed corn grain silage with addition of soy beans or okara

Abstract - The objective was to evaluate the partial and total digestibility of nutrients, microbial efficiency and ruminal parameters of cattle fed rehydrated corn grain silage with the addition of okara sub-product or soybeans. Three treatments were evaluated: concentrate with dried corn, concentrated with corn grain silage with addition of okara and concentrated with corn grain silage with added soybeans. As forage the whole plant silage corn was used. Three Holstein steers were distributed in 3 x 3 latin square design. The DM, OM, NDF, NFC, EE were evaluated, as well as the urea nitrogen plasma, the efficiency of microbial synthesis, pH and ammonia-N of rumen contents, in addition to the *in situ* degradability of DM and CP concentrates. The ruminal digestibility of NFC increased with the inclusion of silage in the diet, being higher for silage with okara (88.34%) and soybeans (87.87%) when compared to concentrate with dried corn (63.48%). The total digestibility of EE increased to treatment with corn grain silage with soybean (91.02%), and this presented itself similar to concentrate with corn grain silage added okara (89.91%). There was no change to the digestibility of other nutrients and microbial efficiency. There was effect with lower pH values estimated for the treatment with corn grain silage. The largest N-ammonia levels were checked for the treatments of grain silage. Concentrates formulated based on corn grain silage with soybean or okara have increased nutritional fraction A in the evaluation of *in situ* degradability, and also increase of potential degradability. The replacement of dry grain ration of corn grain silage with added soy or okara demonstrate better use of nutrients by the animals.

Index terms: digestibility, *in situ* degradability, pH, rehydrated, rumen,

Introdução

A ensilagem de grãos de milho reidratados consiste em devolver ao grão já seco (85 - 90% de MS) a umidade adequada (30 – 35%) para que o mesmo seja fermentado no silo. Esta técnica permite flexibilizar o momento da ensilagem além de beneficiar produtores que não possuem equipamento para colheita do milho ou área para o cultivo.

Para eliminar a necessidade de misturas diárias da silagem de grãos de milho com outros ingredientes da dieta, trabalhos foram realizados e demonstram efeito positivo na

adição da soja em grãos. Assim, o valor nutricional do milho ensilado é elevado, sem interferir na qualidade de fermentação dos grãos durante o processo de ensilagem (Jobim et al., 2008; Jobim et al., 2009).

Outro ingrediente que pode ser adicionado na ensilagem de grãos de milho para elevar o seu valor nutricional é o okara, subproduto do processamento da soja para obtenção do extrato aquoso e do tofu. No seu processamento, os grãos de soja são lavados, moídos e aquecidos (100°C por cinco minutos) para, então, passarem por filtração que separa o extrato aquoso do subproduto (Bowles & Demiate, 2006).

O maior interesse na inclusão de subprodutos da agroindústria na nutrição animal ocorre devido ao baixo preço em relação aos ingredientes utilizados em dietas animais, como milho e o farelo de soja, por exemplo. Entretanto, a desvantagem na sua utilização refere-se à sazonalidade de oferta pelas agroindústrias e a variações na composição nutricional (Mirzaei-Aghsaghli & Maheri-Sis, 2008). O okara apresenta variação na composição nutricional para proteína de 24 a 37,5%, lipídeos de 9,3 a 22,3% e fibra bruta de 14 a 55% na matéria seca (Jiménez-Escrig et al., 2008; Aparicio et al., 2010; Vargas, 2013).

Quando se produz o extrato aquoso dos grãos de soja cerca de 3 a 5% da matéria seca é extraída, ou seja, a maior parte dos nutrientes permanece no subproduto, o okara (Perussello, 2008). Como o processo de extração envolve uma etapa de moagem úmida da soja, o resíduo é constituído de uma massa com cerca de 72% de umidade, gerando grandes volumes de subproduto sólido, o que torna difícil de manusear e de alto custo de secagem (Cuenca et al., 2008). Desta forma, o okara úmido pode ser adicionado aos grãos secos de milho para ser armazenado na forma de ensilagem.

Objetivou-se avaliar a digestibilidade parcial e total dos nutrientes, a degradabilidade “*in situ*”, a eficiência de síntese microbiana e os parâmetros ruminais de bovinos alimentados com silagens de grãos de milho reidratados com a inclusão de soja em grão ou okara.

Material e métodos

O experimento de campo foi conduzido no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi e as análises no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, ambos pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Foram avaliadas três formulações de concentrados: concentrado à base de grãos secos de milho (GS), concentrado à base de silagem de grãos de milho reidratados com adição de okara (SGMO) e concentrado com silagem de grãos de milho reidratados com adição de soja em grãos (SGMS).

Para a produção da silagem de milho + okara, os grãos secos de milho foram moídos (10 mm) e posteriormente feita a inclusão do okara no nível de 30% na matéria seca. O subproduto (okara) foi cedido pela Cocamar Cooperativa Agroindustrial, unidade de Maringá - PR. No momento da ensilagem, foi determinado o teor de matéria seca do okara, em forno micro-ondas de acordo com metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002), de forma a ajustar a inclusão do subproduto no nível estabelecido.

Para a ensilagem do milho com a inclusão de 20% de soja em grão (com base na matéria natural), os grãos de milho e da soja foram moídos em peneiras de crivo de 10 mm. Após, foram homogeneizados e feita a adição de água de forma a reidratar os grãos para um teor de umidade de 35%, para permitir adequada fermentação no silo.

Em ambas ensilagens foi utilizado o inoculante microbiano à base de *Lactobacillus plantarum* MA 18/5U e *Propionibacterium acidipropionici* MA 26/4U (Lallemand Animal Nutrition), por meio de pulverizador costal, buscando-se uma distribuição uniforme. Como silos foram utilizados tambores de plástico com capacidade para 200 kg (5 tambores para cada silagem).

Os silos foram armazenados em área coberta e permaneceram vedados por um período de 217 dias. Parte do milho em grão seco utilizado na produção das silagens foi armazenado para posterior formulação do concentrado, considerado como tratamento controle.

Como volumoso, foi utilizada a silagem de planta inteira de milho em uma razão volumoso:concentrado de 60:40. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas, conforme apresentado na Tabela 1.

Para as avaliações foram utilizados três novilhos da raça Holandesa, pesando em média 477 ± 76 kg, providos de cânula ruminal e duodenal, distribuídos em delineamento quadrado latino 3 x 3. Os animais foram alojados em uma instalação de alvenaria, coberta, com baias individuais de 8,75 m² de área útil, dotadas de comedouro e bebedouro automático.

A alimentação foi fornecida *ad libitum*, duas vezes ao dia (8 h e 16 h), sendo permitidas sobras de 10% do fornecido. Os períodos experimentais tiveram duração de

quatorze dias, sendo os três últimos dias de cada período utilizados para coleta de alimento, líquido ruminal, digesta duodenal, fezes e sangue.

Para a avaliação da digestibilidade aparente dos nutrientes a partir do décimo dia, as amostras de digesta duodenal e de fezes foram coletadas, durante três dias, em horários alternados. Ao final, os horários de coletas foram: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 e 22 horas após a primeira alimentação, totalizando doze amostras de digesta duodenal e doze amostras de fezes por tratamento/período. Também foram coletadas amostras de alimento e sobras que foram identificadas e congeladas (-20°C). Posteriormente, foram descongeladas e secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72 h e moídas em moinhos tipo Willey, utilizando peneira com crivo de 1 mm. As amostras foram misturadas, com base no percentual do peso seco, e obtida uma amostra composta de fezes, duodeno, alimentos e sobras por animal/período.

As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, fezes e da digesta duodenal foram analisadas determinando-se os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com Van Soest et al. (1991).

O indicador interno utilizado para estimar o fluxo duodenal e a produção fecal foi a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), tendo sido analisadas amostras de alimentos, sobras, digesta duodenal e fezes por intermédio de procedimento de incubação “*in situ*”, por 288h, sendo as amostras processadas em peneira de crivo de 2 mm e incubadas no rúmen em bolsas F57 (Ankom®).

A percentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada segundo equação descrita por Sniffen et al. (1992): $NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED \times 2,25)$, em que: NDT = nutrientes digestíveis totais; PBD = proteína bruta digestível; FDND = fibra em detergente neutro digestível; CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis; EED = extrato etéreo digestível. Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados: $CNF (\%) = 100 - ((\%) PB + (\%) FDN + (\%) EE + (\%) cinzas)$.

O líquido ruminal foi coletado via cânula para determinação do pH e da concentração de N amoniacal (N-NH₃), nos tempos 0, 2, 4 e 6 h após a alimentação em dois dias de coleta. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH foi medido com peagâmetro digital. Para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), alíquotas de 50 mL de líquido ruminal foram acidificadas com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e armazenadas a -20°C, para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente e

posteriormente centrifugado a 3.000 g por 15 minutos. A concentração de N-NH₃ das amostras foi determinada pelo método de Fenner (1965), modificada por Vieira (1980).

Para a determinação do N ureico no plasma (NUP), foram coletadas amostras de sangue em tubos de vacutainer, com adição de anticoagulante, por meio de punção da veia jugular. Para obtenção do plasma, as amostras foram centrifugadas a 2.500 g por 15 minutos. No plasma, determinou-se a concentração de ureia, por meio de kits comerciais (Analisa®), e as leituras foram feitas em espectrofotômetro. O NUP foi obtido por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,4667; correspondente ao teor de N na ureia.

Para a eficiência de síntese microbiana, no décimo quarto dia de cada período experimental e 4 h após cada alimentação, foram feitas duas coletas de 1,5 kg de conteúdo ruminal de cada animal, sendo homogeneizados com 500 mL de solução salina (9 g de NaCl L⁻¹) por um minuto em liquidificador industrial e, posteriormente, filtrado em gaze. Após esse procedimento, as amostras foram congeladas a -20°C. Ao final do experimento, as amostras foram descongeladas e as bactérias foram separadas por centrifugação diferencial (500 g e 27.000 g), de acordo com os procedimentos descritos por Cecava et al. (1990). Os peletes bacterianos resultantes das centrifugações foram secos a 55°C durante 48 h e macerados para a determinação de MS, N total e eficiência de síntese microbiana, de acordo com Ushida et al. (1985).

No ensaio de degradabilidade ruminal “*in situ*” da matéria seca e da proteína bruta, foram utilizados os três concentrados apresentados na Tabela 1. Foram utilizados três animais, que foram adaptados à alimentação durante 10 dias antes da incubação, sendo alimentados duas vezes ao dia, às 8:00 e 16:00 h. As amostras foram incubadas em sacos de náilon de porosidade de 50 micras, medindo 10 x 19 cm (Forrage Bag Ankom®), com conteúdo de aproximadamente 6 g de amostras, durante 0, 2, 6, 12, 24 e 64 horas. Após a retirada do rúmen, os sacos foram lavados em máquina de lavar em 5 ciclos de um minuto, de acordo com o descrito por Vanzant et al. (1998).

Para os dados de digestibilidade total e parcial dos nutrientes, a análise estatística foi realizada por meio de Inferência Bayesiana, descrita em Rossi (2011). Foi considerado que a resposta (Y_{ij}) segue distribuição normal, isto é, $Y_{ij} \sim N(\mu_j, \sigma_j^2)$, $i = 1, 2, \dots, n_j$ para os j -ésimos níveis de tratamento. Para cada μ_j e σ_j^2 foram consideradas *a priori* distribuições não-informativas, respectivamente, $\mu_j \sim N(0, 10^{-6})$ e $\sigma_j^2 \sim \text{Gamma}(10^{-3}, 10^{-3})$ conforme parametrização OpenBUGS. Foram realizadas comparações múltiplas entre as distribuições *a posteriori* das médias dos indicadores *versus* controle.

Consideraram-se como diferentes, em nível de 5% de significância, os níveis de tratamento cujos intervalos de credibilidade para as diferenças médias não contemplam o valor zero.

Foram utilizadas como valores iniciais para cada μ_j , respectivamente, a média amostral do j -ésimo tratamento. A obtenção das distribuições marginais *a posteriori*, para todos os parâmetros envolvidos do modelo, foi por meio do pacote *BRugs* do programa *R* (R Development Core Team, 2015). Foram gerados 11.000 valores em um processo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), e, considerando um período de descarte amostral de 1.000 valores iniciais, assim a amostra final, retirada em saltos de tamanho igual a 1 (ausência de autocorrelação), conteve 10.000 valores gerados. A convergência das cadeias foi verificada por meio do critério de Heidelberger & Welch no pacote *coda* do *R*.

Para o pH e o N amoniacal, a análise estatística foi realizada por meio de Inferência Bayesiana descrita em Souza (2014). Foi considerado que a resposta (y) univariada, observada de pH e N amoniacal (mg/dL) ($i = 1, 2, \dots, n$) em um experimento quadrado latino 3×3 , segue distribuição normal, isto é, $y_i \sim N(f(\beta, X); \sigma_e^2)$, assumindo $\varepsilon_i \sim N(0; \sigma_e^2)$, para o modelo linear múltiplo:

$$y_i = X\beta + \varepsilon_i = \mu + p + a + H + T + T^2 + \varepsilon_i$$

[1]

X : matriz incidência para o

p : período (variável considerada como fator, $p=1,2,3$),

a : animal (variável considerada como fator, $a=1,2,3$),

H : efeito de tratamento (Diets: SGMO, SGMS e GS, variável considerada como fator, $k=1,2,3$),

T : efeito cúbico de tempo (0, 2, 4 e 6 h) corrigido pela média.

Por simplicidade, operacionalidade e com objetivo de comparações entre níveis de tratamentos, considerou-se o modelo [1], na forma:

$$y_{ik} = X\beta + \varepsilon_i = \mu + p + a + (T + T^2)_k + \varepsilon_{ik}$$

[2]

k : efeito dentro do k -ésimo tratamento ($k=1,2,3$).

No procedimento Bayesiano, descrito por Rossi (2011), foram consideradas na modelagem que o vetor de parâmetros de regressão, β_p é não correlacionado. Assumiu-

se *a priori* distribuições não-informativas para todos os parâmetros do modelo, isto é, para $c = 1.000$, de acordo com a parametrização OpenBugs: $\beta_p | \sigma_e^2 \sim N\left(0, \frac{1}{c^2}\right)$. Como $\sigma_e^2 = \tau_e^{-1}$, foi assumida uma distribuição não-informativa Gama para τ_e , isto é, $\tau_e \sim Gama\left(\frac{1}{c}, \frac{1}{c}\right)$.

Utilizou-se como valores iniciais, para os coeficientes de regressão, estimativas frequentistas, valor um para τ . A obtenção das distribuições marginais *a posteriori* para todos os parâmetros foi por meio do pacote *BRugs* do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2015). Foram gerados 1.100.000 valores em um processo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), e, considerando um período de descarte amostral de 100.000 valores iniciais, assim a amostra final retirada em saltos, de tamanho igual a 100, conteve 10.000 valores gerados. A convergência das cadeias foi verificada por meio dos critérios de Heidelberger e Welch (1983) do pacote *coda* do R. Consideraram-se como significativos, em nível de 5% de significância, os parâmetros cujos intervalos de credibilidade não contemplam o valor zero. Dentro do processo iterativo, foram obtidas as distribuições *a posteriori* dos pontos críticos, isto é, pontos de mínimo e máximo (T_{\min} e T_{\max} , e seus respectivos valores preditos, pH_{\min} e $N\text{-Amoniacal}_{\max}$), das equações quadráticas ajustadas para a resposta pH e N-amoniacal, respectivamente. A partir dessas distribuições, foram realizadas comparações múltiplas e consideraram-se como diferentes, em nível de 5% de significância, os níveis de tratamento cujos intervalos de credibilidade para as diferenças médias não contemplam o valor zero

Os dados de desaparecimento de matéria seca e de proteína bruta (MS e PB) foram ajustados por regressão não-linear, que prediz a degradabilidade potencial ($y = DP$) dos alimentos por meio do modelo proposto por Mehez & Orskov (1977), da seguinte forma:

$$y_{ijk} = a_{ik} + b_{ik} (1 - e^{-c_{ik}t_j}),$$

[1]

i-animal : 1, 2, ... , N;

j-tempo : 1, 2, ... , J;

k-tratamento : 1, 2, ... , K;

y é a fração (%) do nutriente degradado após o tempo t (em horas);

a é a fração (%) solúvel do material contido no saco de náilon (o intercepto da curva);

b é a fração (%) potencialmente degradável do material contido no saco de náilon após o tempo zero;

c é a taxa fracional (%) constante de degradação da fração potencialmente degradável;

t é o tempo de incubação no rumem, em horas.

Para estimar a degradabilidade efetiva (DE) foi usado o modelo de Orskov & McDonald (1979):

$$DE = a + \frac{bc}{c + taxa},$$

[2]

em que *taxa* de passagem de sólidos no rúmen possui valores fixados em 2, 5 e 8% por hora.

A modelagem segue a sugestão de um procedimento Bayesiano (ROSSI et al., 2010; ROSSI, 2011), em que foi considerado que as observações seguem distribuição normal, isto é, $y_i \sim N(f(t_i); \sigma_e^2)$, onde $f(t_i)$ é a função não-linear proposta em (1). Para os parâmetros a e b , foram consideradas *a priori* distribuições normais não-informativas, isto é: $a, b \sim N(0, 10^{-6})I_{(0,100)}$ (parametrização OpenBugs tal que a variância é inversa à precisão). Foi considerado no modelo para c , uma distribuição Gamma também não-informativa restrita no intervalo (0,1), isto é: $c \sim \text{Gama}(10^{-3}, 10^{-3})I_{(0,1)}$. Para σ_e^2 foi assumida uma distribuição Gamma, isto é, $\sigma_e^2 \sim \text{Gama}(10^{-3}, 10^{-3})$. A obtenção das distribuições marginais *a posteriori* para os parâmetros, foi por meio do pacote *BRugs* do programa R (R Development Core Team, 2015).

Foram utilizadas como valores iniciais para os parâmetros a , b e c , estimativas frequentistas e, em seguida, via um processo iterativo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*), foram gerados 220.000 valores em um processo, considerando um período de descarte amostral de 20.000 valores iniciais, assim a amostra final, obtida em saltos a cada 20 valores, conteve 10.000 valores gerados. A convergência das cadeias foi verificada por meio do pacote *coda* do programa R, pelo critério e de Heidelberger & Welch (1983).

Foram realizadas comparações múltiplas entre as distribuições *a posteriori* das médias dos parâmetros de interesse. Consideraram-se como diferentes, ao nível de 5%

de significância, os tratamentos cujos intervalos de credibilidade para as diferenças médias não contemplam o valor zero.

Resultados e discussão

Não houve efeito da dieta para a IMS, com média dos tratamentos de 9,57 kg. A digestibilidade ruminal e total da MS e da MO também não apresentaram diferença para dietas avaliadas, embora tenha se apresentado numericamente superior para os tratamentos com a inclusão das silagens (Tabela 2).

A digestibilidade ruminal dos CNF aumentou com a inclusão das silagens nas dietas, sendo maior para a silagem com okara (88,34%) e grãos de soja (87,87%) quando comparada ao concentrado com grãos secos (63,48%), o que demonstra a maior disponibilidade para degradação ruminal do amido dos grãos ensilados. Isso ocorre devido às fermentações no silo, que têm demonstrado diminuição no teor das proteínas prolaminas-zeínas (Hoffman et al., 2011; Fernandes, 2014). As zeínas são proteínas responsáveis por encapsular os grânulos de amido, formando uma matriz de proteínas hidrofóbicas, definida como um impedimento para a digestão do amido em ruminantes (Hoffman & Shaver, 2011).

A menor digestibilidade ruminal dos CNF no tratamento com grãos secos de milho foi, em parte, compensada pela digestão no intestino, já que na avaliação da sua digestibilidade no trato total não foi verificada diferença para as dietas avaliadas. Os valores médios foram de 97,32; 94,16 e 87,36% para os tratamentos com SGMS; SGMO e GS, respectivamente. A digestibilidade ruminal e total da FDN não mostrou influência das dietas, assim como a digestibilidade total da PB.

A digestibilidade total do EE apresentou efeito da dieta, sendo maior para o tratamento com SGMS (91,02%) e este, semelhante ao concentrado com SGMO (89,91%), o que pode ser atribuído aos maiores teores de EE nestas dietas, que foram de 4,19 e 3,65%, respectivamente.

O teor de NDT não foi alterado em função da dieta, embora numericamente superior para os concentrados à base de silagem de grãos com soja (74,57%) e okara (72,52%) em relação ao concentrado com grãos secos (63,74%). Esse resultado pode ser em função do maior teor de EE das dietas com concentrados à base de SGMS e SGMO, proporcionando maior disponibilidade de energia para os animais, além da maior digestibilidade na fração dos CNF.

A síntese de proteína microbiana depende, em grande parte, da disponibilidade de carboidratos e de N no rúmen, de modo que o crescimento microbiano é maximizado pela sincronização entre a disponibilidade da energia fermentável e o nitrogênio degradável no rúmen (NRC, 1996). Ainda assim, neste estudo não houve efeito para eficiência de síntese microbiana, cuja média para os tratamentos foi de 31,32 g de N microbiano/kg de MODR.

Não houve efeito para o NUP, cujo valor médio foi de 9,17 mg dL⁻¹, estando um pouco abaixo do considerado adequado por Swenson & Reece (1996) para bovinos, que seria entre 10 a 30 mg/dL. Como o teor de proteína e energia da ração foi formulado de acordo com as exigências dos animais, o baixo teor de NUP para as dietas avaliadas são um indicativo da sincronização entre estes dois nutrientes já que, de acordo com Powell et al. (2011), a ureia é a principal forma de excreção de nitrogênio e a sua menor excreção para o ambiente indica a maior eficiência em utilização pelo ruminante.

O valor mínimo do pH do líquido ruminal foi de 6,01, observado 4,13 horas após a alimentação na dieta com SGMO, seguido pela dieta com SGMS, com pH de 6,02 em um tempo de 3,88 h. O tratamento com GS apresentou valor mínimo de pH de 6,03, observado em um tempo de 3,54 h. De forma geral, demonstra-se que as dietas experimentais proporcionaram ambiente ruminal adequado para a digestão da fração fibrosa. Segundo Hoover & Stockes (1991), reduções moderadas no pH ruminal para valores até 6,2 causam pouco efeito sobre a digestão de carboidratos fibrosos, no entanto, reduções mais severas são (<6,0) passíveis de inibirem a população de microrganismos celulolíticos (Tabela 3).

A variação do pH ruminal em função do tempo após a alimentação apresentou-se de forma quadrática para todos os tratamentos (Figura 1). Os menores valores foram encontrados para os animais alimentados com as silagens. Esse comportamento pode estar relacionado à maior digestibilidade dos CNF, o que indica a maior liberação de amido para digestão devido ao efeito da ensilagem nos grãos. De acordo com Vargas Junior et al. (2011), a diminuição do pH ruminal ocorre com a maior concentração dos produtos da fermentação com a alta atividade de bactérias no rúmen.

O N amoniacal no líquido ruminal apresentou maior valor (15,25 mg/dL) no tempo de 2,45 h após alimentação na dieta SGMS, seguido do tratamento com SGMO (15,07 mg/dL), observado no tempo de 2,61 h, e do tratamento com GS (15,03 mg/dL), no tempo de 2,66 h (Tabela 4). Nos diferentes tempos de avaliação demonstrados na Figura 2, observa-se que as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), para todas

as dietas, estão dentro do recomendado como mínimo (5 mg/dL) por Satter & Slyter (1974) para proporcionar adequada fermentação ruminal.

Na avaliação da degradabilidade da MS (Tabela 5), os concentrados que apresentavam as silagens com adição de okara e de soja na sua composição demonstraram maior fração A. O concentrado com grãos secos apresentou maior degradação da fração B. A degradabilidade potencial foi maior na silagem com okara seguida da silagem com adição de soja, sendo os menores valores para o concentrado formulado com grãos secos de milho. Na Figura 3, observa-se a maior taxa de degradação da matéria seca para as silagens, porém com o aumento do tempo de incubação essa diferença foi eliminada (60 h).

A maior degradação ruminal devido ao processo de ensilagem tem sido atribuída à maior degradação do amido no rúmen. O efeito na digestibilidade do amido se deve aos ácidos oriundos da fermentação ou a proteólise bacteriana que degrada as proteínas – prolaminas durante a ensilagem e deixa os grânulos de amido mais susceptíveis à degradação ruminal (Hoffman & Shaver, 2011).

O efeito da ensilagem na degradação das proteínas que envolvem a matriz proteica dos grânulos de amido também fica evidente na análise da degradabilidade “*in situ*” da proteína bruta, com comportamento semelhante ao verificado para a degradação da MS, onde ocorre um aumento na fração A para o concentrado com SGMS, seguido do concentrado com SGMO e conseqüente menor degradação da fração B para estes concentrados, quando comparado ao tratamento com grãos secos de milho. A degradabilidade potencial da PB também mostra-se maior para as silagens. Na Figura 4, observa-se a maior degradabilidade da proteína bruta para as silagens com valores semelhantes ao final do período de incubação (60 horas). Os melhores resultados encontrados para a degradabilidade das silagens também são verificados em outros estudos com silagens de grãos devido à hidrólise enzimática de proteínas, amido e outros carboidratos que ocorrem decorrentes da fermentação nos silos (Reis et al., 2013; Silva et al., 2014).

Conclusões

A substituição dos grãos secos de milho da ração por grãos ensilados, com adição de soja ou okara, aumenta a digestibilidade ruminal dos CNF e a digestibilidade total do EE.

As dietas com inclusão de silagem de grãos de milho com soja ou okara não alteram a eficiência de síntese microbiana.

Os concentrados formulados com silagem de grãos de milho com adição de okara ou soja demonstram aumento na fração A na avaliação da degradabilidade “*in situ*” e na degradabilidade efetiva da matéria seca e da proteína bruta.

Referências

APARICIO, I.M.; PEINADO, C.M.; ESCRIG, A.J.; RUPÉREZ, P. Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.245-250, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. 1995. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995, p.2000.

BOWLES, S.; DEMIATE, I.M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo Francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.652-659, 2006.

CECAVA, M.J., MERCHEN, N.R., GAY L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2480-2488, 1990.

CUENCA, R.A.; SUÁREZ, M.J.V.; APARICIO, I.M. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v.108, p.1099-1105, 2008.

FERNANDES, J. **Influência de genótipo, maturidade e tempo de armazenamento na qualidade de silagens de grãos de milho com alta umidade**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HEIDELBERGER, P.; WELCH, P. Simulation run length control in the presence of an initial transient. **Op. Res.**, Maryland, v. 31, p.1109-44, 1983.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; SHAVER, R.D.; COBLENTZ, W.K.; SCOTT, M.P.; BODNAR, A.L.; SCHIMIDT, R.J.; CHARLEY, R.C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.2465-2474, 2011.

HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Grain quality: A dairy cow’s perspective. In: WINCONSIN CROP MANAGEMENT CONFERENCE, Wisconsin, 2011. **Proceedings**. Winconsin: University of Wisconsin-Extension 2011. p.51-73.

HOOVER, W.H., STOCKES, S.R. . Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; TENORIO, M.D.; MARTOS, I.E.; RUPÉREZ, P. Health Promoting effects of a dietary fiber concentrate from the soybean byproduct okara in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.7495-7501, 2008.

JOBIM, C.C.; LOMBARDI, L.; MACEDO, F.A.F.; BRANCO, A.F. Quality of corn grain silage added with soybean, sunflower or urea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.649-656, 2008.

JOBIM, C.C.; SILVA, M.S.; CALIXTO JUNIOR, M. Challenges in the utilization of high moisture grains silage for ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2009. p.91-108.

MEHREZ, A.Z., ORSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Obregon, v.88, p.645-50, 1977.

MIRZAEI-AGHSAGHLI, A.; MAHERI-SIS, N. Nutritive value of some agroindustrial by-products for ruminants: a review. **World Journal of Zoology**, v.3, p.40-46, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Obregon, v. 92, p 499-503, 1979.

PERUSSELLO, C.A. **Estudo dos parâmetros de processo e modelagem numérica da secagem do resíduo sólido da produção do extrato hidrossolúvel de soja (okara)**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Pontificia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

POWELL, J.M.; WATTIAUX, M.A.; BRODERICK, G.A. Short communication: Evaluation of Milk urea nitrogen as a management tool to reduce ammonia emissions from dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.4690-4694, 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2015). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em <<http://www.R-project.org>>.

REIS, W.; COSTA, C.; MEIRELLES, P.R.L.; SILVA, M.G.B.; FACTORI, M.A.; HADLICH, J.C.; OLIVEIRA, K.; SANTANA, E.A.R.; PARIZ, C.M.; SILVA, J.A.V. Degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta de grãos secos e de silagens de grãos úmidos de híbridos de milho (*Zea mays*), submetidos a diferentes processamentos. **Boletim de Indústria animal**, v.70, p.269-280, 2013.

ROSSI, R. M. **Introdução aos métodos Bayesianos na análise de dados zootécnicos com uso do WinBUGS e R**. Eduem, 2011. 191p.

ROSSI, R. M.; GUEDES, T. A.; MARTINS, E. N.; JOBIM, C. C. Bayesian analysis for comparison of nonlinear regression model parameters: na application to ruminal degradability data. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.419-24, 2010.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

SOUZA, O. M. **Aplicação de procedimentos bayesianos para a análise de dados experimentais na produção animal**. 2014. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014. 52p.

SILVA, J.S.; BORGES, A.L.C.C.; LOPES, F.C.F.; SILVA, R.R.; VIEIRA, A.R.; DUQUE, A.C.A.; BORGES, I.; RODRIGUES, J.A.S.; GONÇALVES, L.C. Degradabilidade ruminal *in situ* do sorgo grão em diferentes formas de reconstituições. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.1822-1830, 2014.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX D.G.; RUSSEL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

SWENSON, M.J.; REECE, W. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. 856p.

USHIDA, K., LASSALAS, B., JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry: Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, p.1037-1046, 1985.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VANZANT, E.S.; COCHRAN, R.C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.

VARGAS, M.D. **Okara na alimentação de frangos de corte na fase inicial e de crescimento**. 2013. 83p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

VARGAS JUNIOR, F.M.; SANCHEZ, L.M.B.; WECHSLER, F.S.; BIANCHINI, W.; OLIVEIRA, M.V.M.; SCHMIDT, P. Influence of corn processing provided in the diet on the ruminal dynamics of dairy steer. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.433-440, 2011.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes.** 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais utilizadas.

Alimento (% na MS)	SGMO	SGMS	GS
Silagem de grãos de milho com 20% de soja	0,00	33,00	0,00
Silagem de grãos de milho com 30% de okara	32,00	0,00	0,00
Milho grão	0,00	0,00	27,09
Farelo de soja	7,22	5,00	11,00
Calcário	0,70	0,80	0,80
Caulim	0,00	1,12	1,00
Sal comum	0,08	0,08	0,11
Silagem de milho	60,00	60,00	60,00
Nutriente (% na MS)			
PB	12,20	12,30	12,20
EE	3,65	4,19	2,46
FDN	39,32	38,89	39,33
FDA	23,28	23,06	22,68
NDT	71,70	71,10	71,60
Fósforo	0,28	0,27	0,26
Sódio	0,08	0,08	0,08

SGMO = dieta com a inclusão da silagem de grãos de milho com 30% de okara; SGMS = dieta com a inclusão de silagem de grãos de milho com 20% de soja crua; GS = dieta com grãos secos de milho.

Tabela 2. Estimativas Bayesianas para ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade aparente ruminal e total dos nutrientes, nutrientes digestíveis totais (NDT), eficiência de síntese microbiana (Ef. Mic) e nitrogênio uréico do plasma (NUP) de bois da raça Holandesa alimentados com dietas à base de silagem de grãos de milho com adição de okara (SGMO), silagem de grãos de milho com adição de soja em grão (SGMS) ou dietas a base de grãos secos de milho (GS).

Variável		Dieta		
		SGMO	SGMS	GS
IMS (kg)	<i>Média (dp)</i>	9,66 (3,84)	9,11 (2,87)	9,95 (4,7)
	σ	4,07	2,83	3,73
IMS (g/kg PV ^{0,75})	<i>Média (dp)</i>	93,95 (23,60)	89,97 (11,33)	96,26 (14,15)
	σ	26,62	11,5	13,05
CDR MS (%)	<i>Média (dp)</i>	44,49 (2,25)	46,79 (6,25)	38,64 (6,37)
	σ	2,38	6,22	5,14
CDT MS (%)	<i>Média (dp)</i>	65,83 (5,97)	66,79 (2,65)	61,44 (8,05)
	σ	6,371	2,61	6,70
CDR MO (%)	<i>Média (dp)</i>	49,79 (2,03)	51,86 (5,62)	44,51 (5,85)
	σ	2,15	5,59	4,66
CDT MO (%)	<i>Média (dp)</i>	67,93 (5,61)	68,82 (2,51)	63,81 (7,64)
	σ	5,98	2,48	6,29
CDR CNF (%)	<i>Média (dp)</i>	88,34 ^a (6,70)	87,87 ^a (5,29)	63,48 ^b (9,42)
	σ	7,16	5,25	8,07
CDT CNF (%)	<i>Média (dp)</i>	94,16 (0,68)	97,32 (3,04)	87,36 (12,13)
	σ	0,72	3,00	10,85
CDR FDN (%)	<i>Média (dp)</i>	25,96 (7,82)	32,35 (12,23)	33,19 (4,38)
	σ	8,37	12,45	3,38
CDT FDN (%)	<i>Média (dp)</i>	37,44 (10,25)	37,38 (2,33)	35,89 (11,20)
	σ	11,06	2,30	10,03
CDT EE (%)	<i>Média (dp)</i>	89,91 ^{ab} (8,23)	91,02 ^a (3,54)	73,34 ^b (12,59)
	σ	8,867	3,50	11,41
CDT PB (%)	<i>Média (dp)</i>	63,48 (8,25)	62,60 (7,80)	58,30 (12,30)
	σ	8,85	7,80	11,15
NDT (%)	<i>Média (dp)</i>	72,52 (5,82)	74,57 (1,74)	63,74 (8,70)
	σ	6,20	1,71	7,34
Ef. Mic.(g N microbiano/kg MODR)	<i>Média (dp)</i>	30,93 (13,60)	30,59 (9,24)	32,46 (21,01)
	σ	14,84	9,28	21,18
NUP (mg dL ⁻¹)	<i>Média (dp)</i>	10,31 (2,31)	8,67 (1,78)	8,55 (2,27)
	σ	2,44	1,75	1,70

Letras distintas, na linha, indicam médias de tratamentos diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$); dp e σ . Desvio-padrão, respectivamente, da média a posteriori e populacional estimados.

Tabela 3. Estimativas (Média±DP) dos pontos críticos das regressões quadráticas ajustadas para valores de pH ruminal em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano para as dietas avaliadas.

Parâmetro	SGMO	SGMS	GS
T _{mín} (h)	4,13 ^a ±0,66	3,88 ^b ±0,43	3,54 ^c ±0,24
pH _{mín}	6,01 ^c ±0,04	6,02 ^b ±0,04	6,03 ^a ±0,03

SGMO = dieta com a inclusão da silagem de grãos de milho com 30% de okara; SGMS = dieta com a inclusão de silagem de grãos de milho com 20% de soja crua; GS = dieta com grãos secos de milho. Letras distintas, na linha, indicam médias de tratamentos diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$).

Tabela 4. Estimativas (Média±DP) dos pontos críticos das regressões quadráticas ajustadas para valores de N Amoniacal (mg/dL) no rúmen em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano para as dietas avaliadas.

Parâmetro	SGMO	SGMS	GS
T _{máx} (h)	2,61 ^{ab} ±3,61	2,45 ^b ±8,37	2,66 ^a ±1,39
N amoniacal _{máx} (mg/dL)	15,07 ^b ±3,00	15,25 ^a ±5,45	15,03 ^c ±2,17

SGMO = dieta com a inclusão da silagem de grãos de milho com 30% de okara; SGMS = dieta com a inclusão de silagem de grãos de milho com 20% de soja crua; GS = dieta com grãos secos de milho. Letras distintas, na linha, indicam médias de tratamentos diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$).

Tabela 5. Estimativas Bayesianas (médias (desvios-padrão)) para os parâmetros dos modelos (1) e (2) para dados de degradabilidade “*in situ*” da matéria seca e da proteína Bruta (MS e PB) com taxas de passagem, respectivamente, 2, 5 e 8% dos concentrados avaliados.

Parâmetros	MS			PB		
	SGMO	SGMS	GS	SGMO	SGMS	GS
<i>a</i>	29,51 ^a (4,54)	28,18 ^a (3,45)	15,91 ^b (1,34)	45,88 ^b (2,16)	46,79 ^a (2,38)	14,41 ^c (3,53)
<i>b</i>	63,19 ^c (4,69)	66,31 ^b (3,83)	82,32 ^a (1,81)	52,31 ^b (2,54)	51,32 ^c (2,81)	82,98 ^a (5,04)
<i>c</i>	0,27 ^a (0,07)	0,14 ^b (0,03)	0,05 ^c (0,01)	0,076 ^a (0,01)	0,070 ^b (0,01)	0,073 ^{ab} (0,01)
DE <i>k</i> =2%	88,16 ^a (2,16)	86,05 ^b (1,85)	74,14 ^c (0,81)	86,77 ^a (1,07)	86,62 ^a (1,18)	79,13 ^b (2,30)
DE <i>k</i> =5%	82,49 ^a (1,76)	76,84 ^b (1,51)	56,40 ^c (0,81)	76,72 ^a (1,15)	76,65 ^a (1,28)	63,18 ^b (1,89)
DE <i>k</i> =8%	77,86 ^a (1,78)	70,19 ^b (1,57)	46,94 ^c (0,81)	70,64 ^a (1,21)	70,68 ^a (1,34)	53,58 ^b (1,93)
σ_e^2	55,51	40,56	11,19	25,75	31,71	63,76

SGMO = concentrado com a inclusão da silagem de grãos de milho com 30% de okara; SGMS = concentrado com a inclusão de silagem de grãos de milho com 20% de soja crua; GS = concentrado com grãos secos de milho. Letras distintas, na linha, indicam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, por meio de comparações Bayesianas, em nível de 95% de credibilidade.

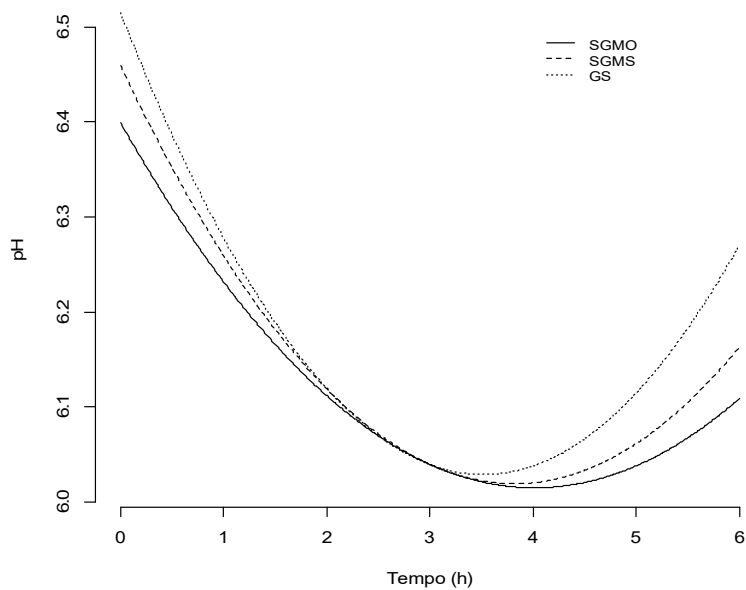


Figura 1. Equações ajustadas do pH ruminal em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano, por dieta.

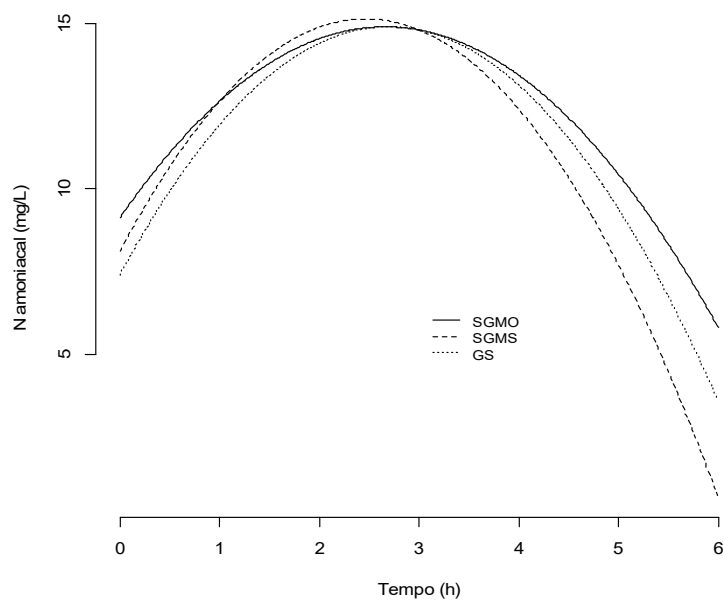


Figura 2. Equações ajustadas do N amoniacal (mg/dL) do rúmen em função do tempo (h) após a alimentação, obtidas pelo método Bayesiano, por dieta avaliada.

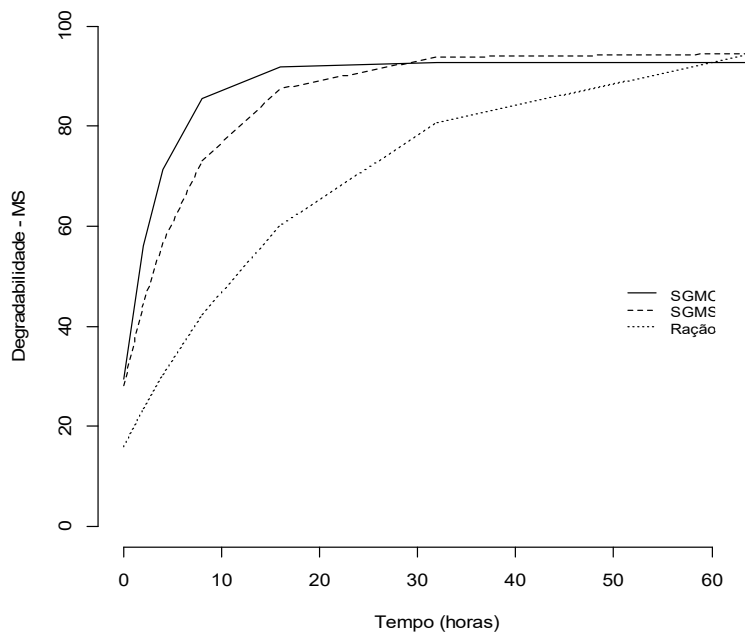


Figura 3. Comparação entre as curvas de degradabilidade “*in situ*” da matéria seca ajustadas, respectivamente, para os concentrados com SGMO, SGMS e ração com GS.

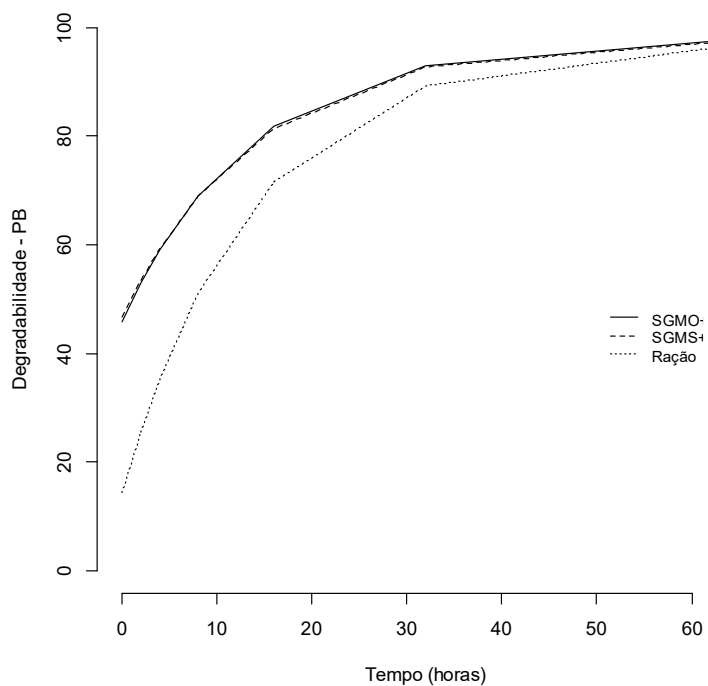


Figura 4. Comparação entre as curvas de degradabilidade “*in situ*” da proteína bruta (PB) ajustadas, respectivamente, para os concentrados com SGMO, SGMS e ração com GS.

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O okara pode ser adicionado na ensilagem em combinação com o milho, uma vez que a sua umidade permite a reidratação dos grãos secos de milho e a fermentação no silo. No entanto, recomendam-se níveis de inclusão de até 30% com base na matéria seca, já que altos teores de inclusão do okara demonstraram uma fermentação clostrídica.

A utilização da combinação milho + okara ou milho + soja pode ser utilizada na alimentação de vacas leiteiras sem prejudicar a produção e a composição do leite.

O efeito da ensilagem nos grãos de milho pode ser observado na avaliação da degradabilidade “*in situ*” que evidencia o maior aproveitamento do alimento devido a esse processamento, e também nos parâmetros ruminais como pH e N amoniacal, que demonstram a maior velocidade de degradação ruminal dos nutrientes devido ao efeito da ensilagem no material.

A utilização de subprodutos da agroindústria na alimentação animal permite diminuir custos de produção, já que estes normalmente apresentam-se a um valor de mercado inferior ao dos principais ingredientes utilizados na alimentação animal, como o milho e o farelo de soja. Também permite um destino ambientalmente correto para este subproduto, ainda na sua forma úmida. Ainda assim, sua utilização em propriedades deve ser analisada em função de condições de logística de obtenção e transporte do produto até a fazenda.