

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**FERMENTAÇÃO RUMINAL E DIGESTIBILIDADE
EM BOVINOS RECEBENDO DIETAS COM OU SEM
ADIÇÃO DE EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Suélen Capa de Ávila

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

**FERMENTAÇÃO RUMINAL E DIGESTIBILIDADE EM
BOVINOS RECEBENDO DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE
EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

Suélen Capa de Ávila

**Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em
Produção Animal/Nutrição de Ruminantes, da Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia**

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Capa de Ávila, Suélen
FERMENTAÇÃO RUMINAL E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS
RECEBENDO DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE EXTRATO TANÍFERO
DE *Acacia mearnsii* / Suélen Capa de Ávila.-2013.
59 f.; 30cm

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2013

1. Fermentação ruminal 2. Digestibilidade 3. Uso do
tanino na dieta 4. Nutrição de ruminantes I. Vilmar
Kozloski, Gilberto II. Título.

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**FERMENTAÇÃO RUMINAL E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS
RECEBENDO DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE EXTRATO
TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

elaborada por
Suelen Capa de Ávila

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:


Gilberto Vilmar Kerschke, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho, Dr. (UDESC)


José Duarte Nürnberg, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 01 de março de 2013.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me abençoar e me dar força para seguir na busca por meus objetivos.

À minha família, em especial aos meus pais Edon e Cleide, que não mediram esforços em me apoiar, agradeço todo o carinho e dedicação e peço desculpas, por muitas vezes, estar ausente da família. Agradeço a minha irmã Quelen e meu cunhado Luis Carlos, por toda a ajuda e carinho, mas agradeço principalmente pelo melhor presente que essa Tia/Dinda poderia ganhar que é o meu amado Luis Henrique.

À minha Vó Maria, por todo amor transmitido a mim, desde o abraço bem apertado até as orações incessantes a Deus, pedindo a minha proteção e a minha benção, minhas conquistas são também graças a você Vozinha!

Ao Patric Paludett Flores, pelo amor, atenção e companheirismo. Por estar sempre ao meu lado em todos os momentos. Pela paciência e pelo apoio na busca dos meus sonhos. Te Amo!!

Ao professor Gilberto pela confiança a mim depositada, pela orientação, por todos os ensinamentos, pela paciência.

As minhas queridas Mariana Mezzomo, Carla Härter, Fernanda Hentz, Roberta Farenzena, Lisandre Oliveira, Andressa Martins, Simone Stefanello e Thais Regina Longo pela amizade, companheirismo e momentos de descontração!

Ao meu colega Tiago Orlandi, pelo companheirismo durante a condução do experimento e todos os outros momentos “tensos” durante o mestrado.

A toda equipe do Labrumen: Pablo Castagnino, Leandro Kunkel, Filipe Zanferari, Marcelo Gindri, Diego Zeni, Cristiano Stefanello, Carol Fernandes, Elissandra Zilio, Bruno Diniz, Gisele Martins, Laís Felipetto, Flaiane Campos, pois esse trabalho também é de vocês!

Agradecimento em especial a uma pessoa que tive o privilégio de conviver, e que por motivos acima de nossa compreensão, partiu muito jovem para junto de Deus, Vinícius Greff, sua alegria contagiante será sempre lembrada e ficará guardada em nossos corações, vai em paz e nos proteja daí de cima!

A Universidade Federal de Santa Maria pela infraestrutura disponível.

A CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

A todos o meu Muito Obrigada!

*Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará.
Direi do SENHOR: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.*

*Porque ele te livrará do laço do passarinho, e da peste perniciosa.
Ele te cobrirá com as suas penas, e debaixo das suas asas te confiarás; a sua verdade será o
teu escudo e broquel.*

*Não terás medo do terror de noite nem da seta que voa de dia,
Nem da peste que anda na escuridão, nem da mortandade que assola ao meio-dia.*

*Mil cairão ao teu lado, e dez mil à tua direita, mas não chegará a ti.
Somente com os teus olhos contemplarás, e verás a recompensa dos ímpios.
Porque tu, ó SENHOR, és o meu refúgio. No Altíssimo fizeste a tua habitação.*

*Nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará à tua tenda.
Porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito, para te guardarem em todos os teus
caminhos.*

*Eles te sustentarão nas suas mãos, para que não tropeces com o teu pé em pedra.
Pisarás o leão e a cobra; calcarás aos pés o filho do leão e a serpente.
Porquanto tão encarecidamente me amou, também eu o livrarei; pô-lo-ei em retiro alto,
porque conheceu o meu nome.*

*Ele me invocará, e eu lhe responderei; estarei com ele na angústia; dela o retirarei, e o
glorificarei.
Fartá-lo-ei com longura de dias, e lhe mostrarei a minha salvação.*

(Salmo 91:1-16)

RESUMO
Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

**FERMENTAÇÃO RUMINAL E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS
RECEBENDO DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE EXTRATO
TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

AUTOR: SUÉLEN CAPA DE ÁVILA
ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI
Data e local da Defesa: Santa Maria, 01 de Março de 2013.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a adição de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na MS da dieta total de bovinos sobre a fermentação ruminal, digestão e retenção de N. Utilizou-se quatro bovinos da raça Holandês, machos castrados (263 ± 57 kg de peso corporal), em um delineamento Quadrado Latino 4×4, com quatro períodos experimentais de quinze dias, sendo dez dias para adaptação às dietas e cinco dias para coleta de amostras. A dieta foi constituída de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado (base matéria seca (MS)), que incluiu como fonte proteica farelo de soja (FS) ou farelo de canola (FC), com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*. A silagem de milho e o concentrado foram oferecidos misturados, duas vezes ao dia (08:00 e 17:00h). O consumo de MS da dieta foi restrito a 2,5% do peso vivo dos animais. A inclusão do extrato tanífero não teve efeito sobre as concentrações ruminais de N amoniacal, N α -amino, açúcares redutores e pH ruminal. A digestibilidade total aparente e verdadeira da matéria orgânica da dieta foram afetadas negativamente pelos tratamentos. A retenção de N e a excreção urinária de N foi similar entre os tratamentos (P<0,05). A digestibilidade ruminal da matéria orgânica diminuiu com a inclusão de extrato tanífero (P<0,05). A síntese e eficiência de proteína microbiana não foi afetada pela inclusão de extrato tanífero (P<0,05). Mais estudos devem ser conduzidos com a finalidade de determinar um nível adequado de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* a fim de aumentar a oferta de proteína metabolizável sem reduzir a digestibilidade da dieta.

Palavras chave: Digestibilidade; Excreção de nitrogênio; Fermentação ruminal; Fluxo Duodenal; Tanino.

ABSTRACT
Master os Science Thesis
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

RUMINAL FERMENTATION AND DIGESTIBILITY IN CATTLE AND RECEIVING DIETS WITH OR WITHOUT ADDED TO *Acacia mearnsii* TANNIFEROUS EXTRACT

AUTHOR: SUÉLEN CAPA DE ÁVILA
ADVISER: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI
Defense's Place and Date: Santa Maria, March, 01, 2013.

This study was conducted to evaluate the addition of 1.5% *Acacia mearnsii* tannin extract in the total diet of cattle on ruminal fermentation, digestion and retention of N. The experiment was conducted in a 4 x 4 Latin Square design with four steers (263 ± 57 kg of body weight (BW)) housed in metabolism cages. Steers were adapted to diets for 10 d followed by a 5-d collection period. The diet consisted of 70% corn silage and 30% concentrate (dry matter basis (DM)), which included protein source such as soybean meal (SBM) or canola meal (FC) with or without addition of *Acacia mearnsii* tannin extract. Corn silage and concentrate were mixed offered twice daily (8:00 and 17:00). Feed was offered in an amount restricted to 2,5% of BW. The inclusion of tannin extract had no effect on ruminal concentrations of ammonia N, N α -amino, sugars and ruminal pH. The true and apparent total tract digestibility of OM in the diet were negatively affected by treatments. N retention and urinary excretion was similar between treatments ($P < 0.05$). The rumen digestibility of organic matter decreased with the addition of tannin extract ($P < 0.05$). The synthesis and efficiency of microbial protein were not affected by the inclusion ($P < 0.05$). More studies are conducted in order to determine an appropriate level of *Acacia mearnsii* tannin extract of in order to increase the supply of metabolizable protein without reducing the digestibility of the diet.

Keywords: Digestibility; Excretion of N; Ruminal fermentation; Duodenal flow; Tannin.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (% na matéria seca) nos concentrados.....	26
Tabela 2 - Composição química dos alimentos utilizados no experimento	28
Tabela 3 - Consumo diário de matéria seca, matéria orgânica e compostos não nitrogenados por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de <i>Acacia meansii</i>	35
Tabela 4 - Digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e da fração fibrosa da dieta de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	36
Tabela 5 - Consumo, digestibilidade, balanço do nitrogênio em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	37
Tabela 6 - Digestibilidade ruminal, fluxo duodenal, e síntese de proteína microbiana ruminal em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura química do tanino hidrolisável 19
- Figura 2 – Estrutura química do tanino condensado 19
- Figura 3 - Concentração de amônia (N-NH₃) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* 39
- Figura 4 - Concentração de aminoácidos totais (N_α - amino) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.....40
- Figura 5 - Concentração de açúcares redutores (CHO) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.....41
- Figura 6 - Variação do pH, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementado com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*42

LISTA DE APÊNDICES

- Apêndice A** – Dados relativos ao peso corporal médio, peso metabólico, consumo de matéria seca e matéria orgânica, consumo de nitrogênio, consumo de fibra em detergente neutro.54
- Apêndice B** – Dados relativos ao consumo de fibra em detergente ácido, consumo de lignina, consumo de nitrogênio insolúvel em detergente neutro, consumo de nitrogênio insolúvel em detergente ácido, consumo de extrato etéreo e consumo de carboidratos em gramas.56
- Apêndice C** – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), de fibra em detergente neutro (FDN), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) em gramas.57
- Apêndice D** – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), N α -amino , N amoniacal (N-NH₃), N microbiano (Nm) estimado por purinas57
- Apêndice E** – Dados relativos ao fluxo de N não amoniacal e não microbiano (NANMN) em gramas por dia, digestibilidade ruminal da matéria orgânica (DRMO), proteína degradável no rúmen estimado por purinas (PDRp), proteína degradável no rúmen estimado por derivados de purinas (PDRd), eficiência da síntese de proteína microbiana estimado por purinas (ESPMp) e por derivados de purinas (ESPMd)57
- Apêndice F** – Dados relativos ao consumo de N (CN), excreção fecal de nitrogênio (Nf), excreção urinária de N (NU) e retenção de nitrogênio (RN) em gramas57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Degradação da proteína no rúmen	14
2.2 Suplementos proteicos vegetais	15
2.2.1 Farelo de soja	15
2.2.2 Farelo de canola	16
2.3 Modulação da degradação ruminal da proteína	16
2.4 Taninos: Propriedades Químicas e Nutricionais	17
2.4.1 Definição e ocorrência	17
2.4.2 Classificação e Estrutura Química	18
2.4.3 Deposição de tanino nas plantas.....	20
2.4.4 Efeito dos taninos na nutrição de ruminantes.....	20
2.4.5 Aspectos ambientais.....	23
2.5 Extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	23
3 HIPÓTESE	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Local e época	27
4.2 Animais, Dietas e Delineamento Experimental	27
4.3 Descrições dos procedimentos experimentais	29
4.3.1 Coleta de dados e amostras	29
4.4 Análises Laboratoriais	30
4.5 Cálculos	31
4.6 Análise Estatística	32
5 RESULTADOS	35
5.1 Digestibilidade	35
5.2 Fermentação ruminal	39
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICES	54

1 INTRODUÇÃO

As exigências proteicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal de aminoácidos provenientes principalmente da proteína de origem microbiana ruminal e de proteína dietética não degradada no rúmen.

A oferta de proteína microbiana é diretamente relacionada à quantidade disponível de matéria orgânica degradável no rúmen, desde que não haja deficiência de proteína degradável (VAN SOEST, 1994). Quando há falta de amônia no rúmen, as bactérias diminuem sua taxa de crescimento, o que provoca a redução da atividade fermentativa e do consumo de alimento pelos animais. No entanto quando a quantidade de proteína degradável no rúmen excede a exigência dos microorganismos ruminais, parte considerável do nitrogênio (N) ingerido é absorvido pelo epitélio ruminal, metabolizado a ureia no fígado e excretado na urina.

Em muitas das situações dietéticas e produtivas há um excesso de proteína degradável e a oferta de proteína microbiana não é suficiente para permitir máximo desempenho animal (ORSKOV, 1979). Isso ocorre porque as principais fontes proteicas disponíveis e utilizadas na alimentação dos ruminantes são farelos de origem vegetal, como de soja e de canola, que possuem alta degradabilidade ruminal (i.e. >65%, NRC, 2001).

Uma alternativa para diminuir a degradabilidade ruminal dos farelos de oleaginosas seria submetê-los a tratamento pelo calor. No entanto, este processo pode provocar a formação de complexos proteicos (reações de Maillard) que afetam negativamente a digestão, tanto a nível ruminal como no intestino delgado (VAN SOEST, 1994).

Outra possibilidade seria a utilização de componentes naturais de plantas como os taninos, que possuem a propriedade de se complexar com proteínas e reduzir sua degradação ruminal, com potencial de aumentar a oferta de proteína metabolizável a partir de proteína não degradável no rúmen (MAKKAR, 2003; MIN et al., 2003; PATRA e SAXENA, 2010).

O extrato tanífero de *Acacia mearnsii* é disponível no mercado brasileiro e poderia ser utilizado na alimentação dos ruminantes com este propósito.

A inclusão deste extrato na dieta de ruminantes foi previamente avaliada em ensaios de digestibilidade com bovinos (Alves (2012) e Grainger et al., (2009)) e ovinos (Carulla et al., (2005) e Kozloski et al., (2012)). No entanto, os resultados foram variáveis e não está claramente estabelecido o impacto desse extrato sobre as variáveis da digestão independente do tipo de fonte proteica vegetal presente na dieta.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o uso do extrato tanífero de *Acacia mearnsii* como modulador da fermentação ruminal em bovinos alimentados com dietas contendo farelo de soja ou farelo de canola como principal fonte proteica vegetal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Degradação da proteína no rúmen

A aderência bacteriana às partículas do alimento, seguida da atividade de proteases microbianas é o primeiro passo para a degradação da proteína no rúmen (BROCK et al., 1982). A proteína de origem alimentar pode ser dividida em proteína degradável (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR), com a proteína degradável no rúmen sendo então composta de proteína verdadeira e nitrogênio não proteico (BACH et al., 2005).

A degradação extracelular das proteínas resulta na liberação de peptídeos e aminoácidos, estes então são transportadas para dentro das células dos microorganismos. Os peptídeos dentro do citoplasma celular são degradados por peptidases a aminoácidos, e depois são incorporados na proteína microbiana ou desaminados, formando ácidos graxos voláteis, CO₂ e amônia (TAMMINGA, 1979).

O destino dos aminoácidos dentro da célula microbiana depende da disponibilidade de energia, sendo que a disponibilidade de energia para os microorganismos ruminais variam com a quantidade de alimento fermentável disponível no rúmen (THOMAS, 1973).

O conhecimento sobre a degradação da proteína dos alimentos é fundamental para que se chegue a níveis ideais de PDR, o que otimizaria o crescimento microbiano e levaria a encontrar quantidades de PNDR que complementaria as exigências nutricionais dos ruminantes (NRC, 2001). Um melhor equilíbrio na oferta de PDR levaria uma menor perda de compostos nitrogenados, evitando a produção em excesso de amônia e sua liberação na forma de ureia pela urina, reduzindo assim o impacto ambiental.

O máximo uso da amônia produzida pela degradação proteica ocorre quando a fermentação dos carboidratos ingeridos acontece na mesma taxa da produção de amônia (THOMAS, 1973).

A manipulação da degradação proteica e (ou) da eficiência da utilização do nitrogênio no rúmen são as estratégias mais eficientes para reduzir as perdas de nitrogênio (TAMMINGA, 1999). O modo mais comum de avaliar a eficiência da síntese microbiana é pela determinação da quantidade em gramas de nitrogênio microbiano produzido por unidade

de energia disponível no rúmen, geralmente expressa como matéria orgânica ou carboidratos fermentáveis (BACH et al., 2005).

O tipo de proteína, interações com outros nutrientes (principalmente carboidratos) e a população microbiana predominante (dependente do tipo de dieta, taxa de passagem e pH) no rúmen são os principais fatores que influenciam na degradação microbiana da proteína (BACH et al., 2005).

O efeito combinado do pH e do substrato fermentado no rúmen, também podem afetar a degradação e pode ser explicado pelo seu efeito na população microbiana resultante. Dessa forma, uma redução do pH, causado por uma maior quantidade de amido, pode levar a uma menor população de bactéria celulolíticas, e conseqüentemente a uma redução na degradação da fibra, reduzindo o acesso das bactéria proteolíticas ao nitrogênio ligado a fração fibrosa e indiretamente reduzindo a degradação proteica (BACH et al., 2005). O tamanho da partícula alimentar que influencia a taxa de passagem ruminal também é um fator que pode influenciar a degradação proteica no rúmen.

2.2 Suplementos proteicos vegetais

2.2.1 Farelo de soja

Diversas fontes de proteína estão disponíveis no mercado, destacando-se o farelo de soja (FS), um dos principais alimentos disponíveis para a alimentação de ruminantes, com excelente composição nutricional. A proteína da soja é uma boa fonte de lisina e histidina digestível podendo ser extensivamente degradada pelos microorganismos ruminais (i.e >0,64) (NRC, 2001).

Baseado nessa característica nutricional, muitos métodos foram desenvolvidos com a finalidade de diminuir a degradabilidade ruminal da proteína presente no farelo de soja. Os principais métodos com essa finalidade envolvem o uso controlado do calor ou tratamento com ácido tânico (tanino hidrolisável). Os métodos que envolvem o uso do calor, na maior parte deles pode ocorrer reações de Maillard (VAN SOEST, 1994), reduzindo a digestibilidade intestinal da proteína.

De acordo com Borucki Castro et al., (2007), o tratamento do farelo de soja pode aumentar a oferta de aminoácidos para o duodeno de ruminantes de 40 a 70%, porém Ipharraguerre et al. (2005), afirmam que pesquisas relacionadas a cinética de degradação ruminal e disponibilidade intestinal de aminoácidos do farelo de soja protegido são bastante limitadas.

2.2.2 Farelo de canola

O farelo de canola pode conter até 40% de proteína bruta (PB), sendo que o conteúdo desse nutriente na matéria seca é influenciado pelo ajuste do teor de óleo residual no farelo. É amplamente utilizado na formulação de rações concentradas para vacas em lactação devido ao perfil de aminoácidos em sua composição.

Esse farelo apresenta uma extensiva degradação da fração proteica no rúmen (i. e. >0,70) (NRC, 2001). Devido a essa característica de alta degradabilidade ruminal, muitos pesquisadores passaram a processar o farelo de canola, esse processamento tem por objetivo minimizar a excessiva liberação de amônia no rúmen e aumentar a oferta intestinal de aminoácidos.

Brito e Broderick (2007) ao suplementar vacas leiteiras com farelo de canola não tratado, observaram uma maior produção de gordura e proteína verdadeira no leite comparado a animais suplementados com farelo de soja e farelo de algodão.

2.3 Modulação da degradação ruminal da proteína

O estudo dos microorganismos ruminais é considerada uma ferramenta de extrema importância no campo da pesquisa, pois nos permite um melhor entendimento sobre como são os mecanismos de ação desses microorganismos no rúmen e também para se obter melhor eficiência da fermentação ruminal resultando em maior desempenho animal.

A manipulação dos microorganismos ruminais é vista como uma nova linha de produção que vem sendo desenvolvida na moderna produção animal. Diversos estudos

apontam soluções inovadoras que tem por base o conhecimento da dinâmica e da bioquímica ruminal, como por exemplo, a utilização de produtos que escapem da degradação ruminal, bem como novas formas de alimentação mais eficazes que busquem promover um aumento da síntese de proteína microbiana e reduzir produtos de excreção, como o metano.

Um dos objetivos na nutrição de ruminantes é otimizar a utilização da proteína dietética, proporcionando maior eficiência na utilização do nitrogênio alimentar e aumentar o fluxo duodenal de aminoácidos, a fim de maximizar o desempenho animal ou a produção de leite.

Dessa forma, o uso de técnicas que visam reduzir a degradação ruminal tem ganhado bastante espaço na nutrição de ruminantes. Muitos métodos de processamento influenciam na degradação de proteína. Tratamento térmicos tem por objetivo reduzir a solubilidade da proteína (KAMALAK et al., 2005), no entanto o tratamento térmico, por tempo ou intensidade excessiva, pode ocasionar uma diminuição na digestibilidade do nitrogênio (McNIVEN et al., 2002). Também são utilizados aditivos, como antibióticos, ionóforos, entre outros com a finalidade de melhorar a utilização de alimentos pelos ruminantes (PATRA e SAXENA, 2010).

Outra alternativa seria a utilização de compostos naturais presentes nas plantas que promoveriam um máximo desempenho animal, como os taninos. Os taninos, presentes na dieta, poderiam proteger as proteínas dietéticas impedindo a degradação ruminal. (FRUTOS et al., 2004). Hérvás et al., (2000) e Frutos et al., (2000) utilizaram o farelo de soja tratado com ácido tânico ou extrato comercial de tanino condensado de quebracho nas doses de 0,1, 4, 7, 9, 13 e 20% e observaram que a extensão da degradação da proteína bruta no rúmen foi reduzida significativamente.

2.4 Taninos: Propriedades Químicas e Nutricionais

2.4.1 Definição e ocorrência

Os taninos pertencem a um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas (BUTLER et al., 1984), com variado peso molecular, são

solúveis em solução polar e se distinguem de outros compostos polifenólicos pela sua habilidade de precipitar proteínas (SILANIKOVE et al., 2001).

Como são metabólicos secundários, são polifenóis de ocorrência natural nas plantas, acredita-se que estas moléculas estariam relacionadas a defesa destas, exercendo grande influência no valor nutritivo de forragens.

Apresentam peso molecular de 500 a 3000 Da (MANGAN, 1988) e seus múltiplos grupos hidroxilas permitem a sua complexação principalmente com proteínas, mas também em menor grau com polissacarídeos (celulose, hemicelulose, pectina, entre outros), íons metálicos, aminoácidos, ácidos nucleicos e minerais (MAKKAR, 2003 ; FRUTOS et al., 2004). Estes compostos também são considerados potentes inibidores de enzimas devido à complexação com proteínas enzimáticas (NACZK et al., 1994).

Os taninos são amplamente distribuídos dentro do reino vegetal, sendo comuns tanto em espécies gimnospermas como angiospermas. Dentro das angiospermas, os taninos são mais comuns nas dicotiledôneas do que nas monocotiledôneas. Um exemplo da família das dicotiledôneas é a *Leguminosae*.

São encontrados principalmente nos vacúolos das plantas. Nestes locais, eles não interferem no metabolismo das plantas, porém após uma lesão, como o processo de mastigação ou morte da planta, o metabolismo do tanino pode agir de maneira eficiente (CANNAS, 1999).

2.4.2 Classificação e Estrutura Química

Os taninos se diferenciam por sua estrutura química e podem ser classificados em dois grupos (REED, 1995): taninos hidrolisáveis e taninos condensados.

Os taninos hidrolisáveis (Figura 1) são poliésteres de ácidos fenólicos (ácido gálico e ácido elágico) e apresentam em sua estrutura central uma molécula de açúcar (MIN et al., 2003), são caracterizados por serem passíveis de hidrólise em ambiente ruminal.

São encontrados em folhas, frutos ou galhos, sendo raramente encontrados em monocotiledôneas.

O tipo mais comum de tanino são os taninos condensados (Figura 2), também conhecidos como proantocianidinas, são polímeros de flavan 3-ol unidas através de ligações

de carbono (PATRA & SAXENA, 2010). O grupo flavonol é a unidade básica dos taninos condensados, apresentando monômeros conhecidos como catequinas. Os flavóis apresentam três radicais ou grupos substitutos. Esses grupos podem ser H ou OH e estão diretamente relacionados com a atividade da moléculas e com a capacidade de formar ligações com outras moléculas (SCHOEFIELD et al., 2001).

Os taninos condensados não são passíveis de hidrólise em ambiente ruminal (MUELLER-HARVEY; McALLAN, 1992), podem ser encontrados tanto em gimnospermas quanto em angiospermas.

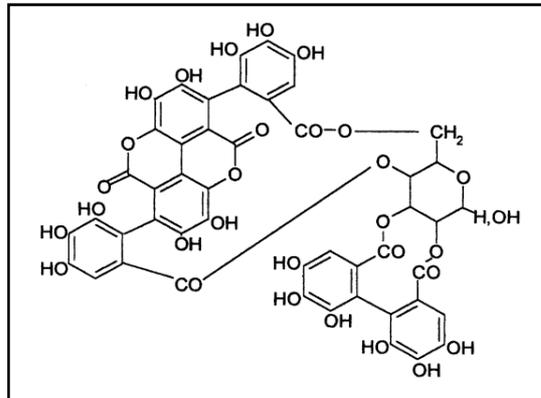


Figura 1 – Estrutura química do tanino hidrolisável (McSWEENEY et al., 2001)

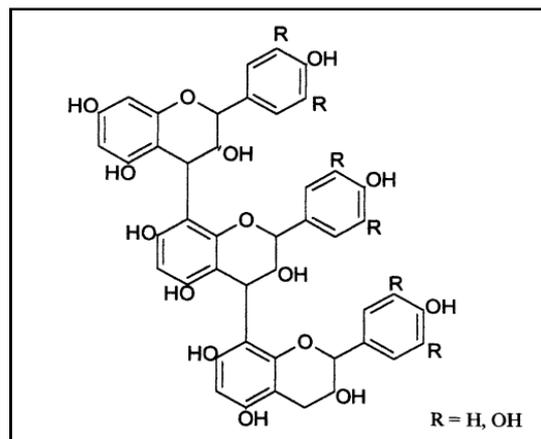


Figura 2 – Estrutura química do tanino condensado (McSWEENEY et al., 2001)

2.4.3 Deposição de tanino nas plantas

Em geral, o conteúdo de taninos nas plantas pode variar de acordo com as condições climáticas e geográficas, podem apresentar composição química variada, sendo muitas vezes, pouco conhecida (BATESTIN et al., 2004).

Durante o período de crescimento das plantas, quando estas produzem uma grande quantidade de biomassa, a síntese de compostos fenólicos é limitada. No entanto, durante a floração, quando a fase de crescimento já está estabilizada, o excesso de carbono pode estar disponível para a síntese de tanino (FRUTOS et al., 2004).

Efeitos de fatores ambientais, como temperaturas elevadas, sazonalidade, stress hídrico, variação na luminosidade principalmente com intensidades extremas, solos deficientes em nutrientes são alguns dos principais fatores que podem contribuir para aumentar a concentração de taninos nas plantas (FRUTOS et al., 2004 ; BATESTIN et al., 2004).

Os taninos são classificados como metabólicos secundários e por isso, não participam dos processos essenciais das plantas, ou seja, fotossíntese, respiração e transpiração, geralmente são mais abundantes nas flores e folhas novas. Acredita-se que estas moléculas estariam relacionadas a defesa das plantas, exercendo grande influência no valor nutritivo de forragens.

2.4.4 Efeito dos taninos na nutrição de ruminantes

Segundo Makkar (2003), os taninos são conhecidos por causarem efeitos benéficos ou efeitos adversos na nutrição de ruminantes dependendo da concentração deste e da sua natureza, além de outros fatores, como a espécie animal, estado fisiológico do animal e composição da dieta. Dessa forma, atribuir aos taninos apenas efeitos antinutricionais pode conduzir a interpretações errôneas, uma vez que esses compostos podem apresentar vantagens quando fornecidos aos ruminantes.

Os taninos, quando predominantes em muitas plantas, podem reduzir a degradação ruminal da proteína e aumentar o fluxo duodenal de proteína, quando fornecido doses

moderadas de 20 – 45 g/Kg de matéria seca de forragem (MIN et al., 2003). Além disso, estudos recentes mostram que tanino na dieta pode reduzir a produção de metano (WAGHORN et al., 2002; HESS et al., 2003, 2004) e prevenir o timpanismo (PATRA e SAXENA, 2010), porém concentrações mais altas de tanino podem reduzir o consumo, diminuir a digestibilidade da proteína e da fração fibrosa da dieta e conseqüentemente causar efeitos negativos no desempenho animal (REED, 1990; NORTON, 2000).

A diminuição do consumo voluntário pode ser explicada pela redução da palatabilidade do alimento, diminuição da digestibilidade e desenvolvimento de condições adversas. A redução da palatabilidade é causada pela reação entre as muco-proteínas salivares e os taninos, provocando uma sensação de adstringência, podendo aumentar a salivacão e diminuir a aceitabilidade do alimento (REED, 1995). Outro fator responsável pela diminuição do consumo voluntário é a diminuição da degradação ruminal, especialmente da fibra, que provocaria um maior tempo de ruminação (WAGHORN, 2008).

A habilidade dos taninos em se complexar com proteínas dietéticas, polímeros como celulose, hemicelulose, pectina e minerais, é a principal causa dos efeitos antinutricionais dos taninos, pois retardam a digestão dessas frações (Mc SWEENEY et al., 2001). A inibição de enzimas digestivas, decréscimo na utilização de nutrientes pelo organismo, em particular da proteína, perda de proteínas endógenas e redução no desempenho animal são outros fatores importantes referente a toxicidade dos taninos (MAKKAR, 2003).

Em estudo com *L. pedunculatus*, altas concentrações de tanino condensado (10.6 e 95 g/kg⁻¹ de MS) reduziu a digestibilidade ruminal dos carboidratos fermentáveis e da hemicelulose. Concentrações elevadas de tanino na dieta além da formação de complexos com as proteínas podem diminuir a digestibilidade da fibra, devido à complexação com a lignocelulose, impedindo a digestão microbiana ou inibindo diretamente a ação dos microorganismos celulolíticos e a atividade de enzimas fibrolíticas (PATRA e SAXENA, 2010).

Quanto aos efeitos benéficos da inclusão de tanino na nutrição animal, estes estão geralmente associados a sua capacidade de limitar a degradação excessiva da proteína no rúmen e proporcionar maior aporte proteico no intestino delgado (MIN et al., 2003; PATRA e SAXENA, 2010).

O pH parece exercer um papel fundamental na formação dos complexos, principalmente tanino-proteína, sendo favorável em pH com variação de 3,5 a 7,0, pois formam pontes de hidrogênio estáveis. Em caso de pH abaixo de 3,5 ou superior a 8,0, o

complexo tende a ser desfeito rapidamente ((BARRY; MANLEY, 1984; LEINMÜLLER , 1991). Conforme, Leinmüller (1991) nos ruminantes, a formação do complexo é favorecida no rúmen, onde o pH se encontra em torno de 6,0 a 6,5, dissociando-se ao chegar ao abomaso, onde o pH está em torno de 2,0, permitindo a ação de peptidases.

Um dos fatores determinantes para garantir a produtividade dos ruminantes é a quantidade de proteína que flui do rúmen para a absorção intestinal. Sabe-se que a proteína que chega ao abomaso consiste de uma mistura de proteína dietética e proteína de origem microbiana, o aumento desse fluxo depende da diminuição da proteólise pelos microorganismos ruminais e do aumento da eficiência de síntese de proteína microbiana (PATRA e SAXENA, 2010).

As dietas com altos teores de proteína degradável disponibilizam uma grande quantidade de proteína solúvel, que resultam em perdas de proteína no rúmen sob a forma de amônia. A inclusão de taninos em dietas com esse perfil nutricional podem reduzir a quantidade de proteína solúvel no rúmen e assim diminuir as perdas de nitrogênio sob a forma de amônia, os taninos também tem efeito positivo na diminuição da incidência de timpanismo nos animais (REDD, 1995).

A espécie forrageira utilizada pode ser um fator decisivo no efeito causado pelos taninos. Grande parte dos estudos que avaliaram o efeito dos taninos sobre o metabolismo animal foram realizados com leguminosas (FRUTOS et al., 2002; MOUJAHED et al., 2005; GUIMARÃES-BEELLEN et al., 2006). Sabe-se que as leguminosas por possuírem alta proporção de proteína solúvel, estão sujeitas a maior degradação e perdas de nitrogênio, quando comparadas às gramíneas (OLIVEIRA e BERCHIELLI, 2007).

A presença de teores moderados de taninos condensados no rúmen está relacionada à proteção de proteína da dieta contra a degradação pelos microorganismos ruminais, aumentando o fluxo de proteína para absorção no intestino (MIN et al., 2003; MUETZEL e BECKER, 2006).

Em revisão realizada por Barry e McNabb (1999), o fornecimento de taninos condensados oriundos de *Lotus corniculatus* na concentração de 30 a 40 g/kg⁻¹ de MS aumentou a absorção intestinal de aminoácidos essenciais, sem afetar o consumo.

A redução na taxa de degradação dos alimentos pelos taninos pode otimizar o sincronismo na liberação de nutrientes, como fonte de energia e nitrogênio, maximizando a produção de proteína pelos microorganismos refletindo-se em maior eficiência de proteína microbiana (MAKKAR, 2003).

Outro efeito benéfico associado ao fornecimento de taninos nas dietas é a redução da população de parasitas internos em carneiros (MIN et al., 2003).

2.4.5 Aspectos ambientais

A otimização do processo fermentativo no rúmen a partir da inclusão de tanino, traz como resultado reflexos positivos que podem ser obtidos em redução na excreção de nitrogênio (MAKKAR, 2003). A presença de tanino na dieta proporciona a partição do nitrogênio, fazendo com que menor proporção seja excretada pela urina, direcionando sua excreção para as fezes (OLIVEIRA e BERCHIELLI, 2007).

A liberação de nitrogênio para o ambiente após a formação do complexo (tanino-proteína), é mais lenta, possibilitando maximizar o uso desses dejetos para a manutenção da fertilidade do solo em pastagens e culturas por períodos mais prolongados (OLIVEIRA e BERCHIELLI, 2007).

O efeito dos taninos como redutores da emissão de metano de origem ruminal vem, mais recentemente, despertando interesse, uma vez que a produção de metano durante a fermentação anaeróbica no rúmen representa uma perda de energia e contribui para o efeito estufa no ambiente (PATRA e SAXENA, 2010). Assim a redução na emissão de metano para a atmosfera, tem sido um importante objetivo para garantir a sustentabilidade da produção de ruminantes. Esse efeito dos taninos sobre a redução de emissão de metano foi evidenciado em cordeiros (WAGHORN et al., 2002), vacas de leite (WOODWART et al., 2004) e bovinos (WOODWART et al., 2001).

2.5 Extrato tanífero de *Acacia mearnsii*

A *Acacia mearnsii* De Wild., é uma espécie originária da Austrália, introduzida no Brasil com sucesso por meio de sementes vindas da África do Sul (BARICHELLO et al., 2005). A *Acacia mearnsii* De Wild., popularmente conhecida como acácia-negra, ocupa a

terceira colocação entre as espécies florestais mais plantadas no Brasil, perdendo apenas para as espécies dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus* (MARTINEZ, 2006).

A acácia-negra é uma das principais espécies florestais plantadas comercialmente no Estado do Rio Grande do Sul (RS), sobretudo em consequência da ampla utilização dessa matéria-prima. Essa espécie é cultivada, especialmente por pequenos produtores, em cerca de cinquenta municípios do RS, alcançando em 2006, uma área plantada de 152 mil hectares (ABRAF, 2007). O rápido crescimento da acácia – negra, associado ao aproveitamento integral da madeira, torna essa espécie ideal para reflorestamento e para utilização industrial.

Da casca, é extraído o tanino, sendo que a casca possui 28% de tanino, usado principalmente para o curtimento de couro e peles. A madeira possui diversos fins, tais como a fabricação de papel e celulose, chapas de aglomerados, carvão e lenha, além de vários outros usos (SANTOS et al., 2001). No Brasil, essa espécie é plantada principalmente para a produção de tanino, favorecendo a produção de um subproduto do tanino, o extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

A acacicultura no RS é uma sólida atividade econômica, que ao longo de quarenta e seis anos tem trazido consideráveis benefícios e prosperidade para vários municípios gaúchos. A expansão dessa fonte de riqueza permitiu melhor aproveitar áreas, antes pouco utilizadas (SCHNEIDER, 1999).

Muitos trabalhos foram desenvolvidos avaliando a utilização do extrato tanífero na alimentação de ruminantes. Carulla et al., (2005) incluíram 0 ou 41g/kg⁻¹ de MS, de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (contendo 0,615 g/g de tanino condensado) em dietas a base de silagem de azevém, silagem de azevém com trevo vermelho ou silagem de azevém com alfafa, com o intuito de estudar os efeitos do tanino sobre a retenção de nitrogênio e sobre a metanogênese. Os autores concluíram que o tanino reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal e a excreção urinária de nitrogênio em relação às médias das dietas sem a suplementação de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* em cordeiros. Neste mesmo estudo, também observou-se uma redução na emissão de metano pelos animais.

Grainger et al., (2009) estudaram a adição de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (contendo 603 g/g de tanino condensado) em doses de 0,9% e 1,5% do consumo estimado de matéria seca de tanino condensado de vacas leiteiras alimentadas em pastagem de azevém e suplementadas com triticale. Os autores observaram que o tanino reduziu significativamente a emissão de metano e a excreção de nitrogênio na urina e no leite, porém diminuiu a produção

de leite devido à diminuição da digestibilidade da forragem e conseqüentemente redução no consumo de matéria seca.

Mais recentemente Alves (2012) avaliou a inclusão de 0,8, 1,6 e 2,4% em relação à dieta total, de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (contendo 156g/g de tanino condensado) em bovinos alimentados com dietas à base de aveia preta (*Avena Strigosa* Schreb). Neste trabalho a inclusão de extrato tanífero reduziu linearmente as concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal, açúcares redutores e aminoácidos totais, porém a digestibilidade da matéria orgânica não foi afetada.

Kozloski et al., (2012) em estudo mais aprofundado de digestibilidade *in vivo*, utilizou-se de infusão intraruminal de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (contendo 156 g/g de tanino condensado) em doses crescentes (20, 40 ou 60 g/kg de matéria seca ingerida, baseado no consumo diário de MS) com ovinos alimentados com azevém (*Lolium multiflorum* Lam). A infusão de tanino causou efeito negativo e linear sobre o consumo, digestibilidade da fração fibrosa e a excreção de nitrogênio urinário em ovinos.

Os resultados obtidos a partir dos trabalhos apresentados indicam que o extrato tanífero de *Acacia mearnsii* tem forte influência sobre os parâmetros da fermentação ruminal e sobre a degradação proteica no rúmen. No entanto o efeito do tanino é variável entre os experimentos e restam dúvidas sobre as quantidades ideais de inclusão desse composto com o intuito de otimizar a sua utilização. De qualquer maneira, constitui-se em objeto de alto impacto tecnológico que necessita ser melhor estudado.

3 HIPÓTESE

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* , na proporção de 15g/kg de matéria seca, na dieta de bovinos aumenta o fluxo duodenal de N- α amino sem interferir na digestibilidade da matéria orgânica, independentemente se o concentrado proteico utilizado for farelo de soja ou farelo de canola.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e época

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes (LABRUMEN) pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, no período de junho a agosto de 2011.

4.2 Animais, Dietas e Delineamento Experimental

O protocolo de pesquisa seguiu as diretrizes recomendadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria. O experimento foi conduzido em um delineamento Quadrado latino 4×4 utilizando quatro bovinos machos castrados da raça Holandês (263 ± 57 kg de peso corporal (PC)), implantados cirurgicamente com cânula duodenal tipo “T” e sonda ruminal. As dietas experimentais foram constituídas de 70% silagem de milho e 30% de concentrado (base matéria seca (MS)), que incluiu como fonte proteica farelo de soja (FS) ou farelo de canola (FC), com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Weibul Black, Tanac S. A., Montenegro, Brasil). O extrato tanífero foi misturado ao concentrado na proporção de 50 g/kg de MS, de modo a obter uma proporção de 15 g/kg de MS da dieta total.

Análise realizada por Kozloski et. al. (2012), utilizando os procedimentos descritos por Makkar (2000), indicou que o extrato tanífero utilizado contém 716 ± 61 , 694 ± 52 e 156 ± 11 g/kg de MS de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados, respectivamente.

A formulação dos concentrados é apresentado na Tabela 1 e a composição química da silagem e dos concentrados é apresentado na Tabela 2.

TABELA 1. Proporção dos ingredientes (% na matéria seca) nos concentrados¹

	FC		FS	
	0	5	0	5
Farelo de Soja	–	–	34,7	35,9
Farelo de Canola	45,5	47,5	–	–
Milho moído	27,3	23,8	32,6	29,5
Farelo de Trigo	27,3	23,8	32,6	29,5
Extrato Tanífero	–	5,00	–	5,00

¹FC= Farelo de Canola com (5) ou sem (0) inclusão de extrato tanífero; FS= Farelo de Soja com (5) ou sem (0) inclusão de extrato tanífero

TABELA 2. Composição química dos alimentos utilizados no experimento

Item ¹	Silagem de Milho	Concentrados			
		FS		FC	
		0	5	0	5
MS (%)	33.9	89.6	87.7	89.8	89.9
Composição (% na MS):					
MO	94.8	95.9	94.8	95.2	95.2
FDN	48.0	23.4	21.8	25.6	25.1
FDA	26.0	7.2	6.8	12.6	10.1
LDA	2.1	1.4	1.3	1.4	1.6
PB	7.8	26.4	26.6	26.8	26.6
EE	3.7	3.8	3.6	4.4	4.1
CNF	36.6	44.8	45.2	41.7	43.3
Composição (% do N):					
NIDN	16.5	9.0	8.9	12.6	14.9
NIDA	8.2	1.1	1.6	5.4	5.7

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; LDA = lignina em detergente ácido; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; CNF = carboidratos não fibrosos, CNF = MO – ((N x 6,25) + EE + (FDN – (NIDN x 6,25))) (Van Soest et al., 1991), NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

4.3 Condução do Experimento

Foi realizada a implantação de sonda ruminal e canulação do duodeno através de cirurgia com anestesia local. Realizou-se o pós-operatório com medicamentos anti-inflamatórios e anestésicos por uma semana. Os animais receberam tratamento prévio para verminose e passaram por um período de recuperação das cirurgias.

Posteriormente, se estabeleceu um período pré-experimental, com a finalidade de adaptação dos animais às instalações, ao sistema de manejo e alimentação. Os animais foram mantidos em gaiolas de metabolismo com livre acesso a água e sal mineral, onde permaneceram durante todo o período experimental.

O experimento foi conduzido em quatro períodos de 15 dias, sendo os primeiros 10 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e os cinco últimos à coleta de dados e amostras.

A silagem de milho e o concentrado foram oferecidos misturados, duas vezes ao dia (08:00 e 17:00h). A oferta de silagem e concentrado foi restrita a 1,75% e 0,75% do PC, respectivamente (base MS).

4.4 Descrições dos procedimentos experimentais

4.4.1 Coleta de dados e amostras

As fezes excretadas diariamente por cada animal foram coletadas e armazenadas cumulativamente em recipientes com tampa e mantidas congeladas (-20°C) durante o período de coleta. Ao final de cada período experimental, as fezes foram descongeladas, pesadas, e homogeneizadas. Uma amostra (10% do total) foi coletada, seca em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C, durante 72 horas, moída (peneira com porosidade de 1mm) e armazenada para posterior análise.

A urina foi coletada em frascos contendo 500 mL de uma solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 20% (v/v) suficiente para reduzir o pH a valores abaixo de 2. Da excreção total, a qual foi pesada diariamente, coletou-se uma amostra diária de 10 mL em balão volumétrico de 50 mL, cujo volume foi completado com água destilada e armazenado em congelador (-20°C) para posterior análise. Para análise foram compostas por animal e período.

Entre o 11° e 14° dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de conteúdo duodenal (aproximadamente 200 mL), três vezes por dia com intervalos de 8 horas entre coletas, adiantando-se duas horas por dia, de modo a ter uma subamostra a cada duas horas em um período de 24 horas. Estas amostras eram imediatamente congeladas e, ao término do período de coletas, foram descongeladas em temperatura ambiente e uma alíquota em torno de 75 mL do sobrenadante foi retirada e armazenada em congelador para posterior análise. O restante foi seco em estufa a 55°C , moído (peneira com porosidade de 1mm) e armazenado para análise..

Amostras de líquido ruminal (aproximadamente 100 mL) foram coletadas no 15° dia de cada período. As amostragens realizaram-se antes (tempo zero) e 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 18 horas após a alimentação da manhã. Imediatamente após a coleta, realizou-se a medição do pH e, em seguida, duas alíquotas de 18 mL foram coletadas, sendo em uma adicionado 2 mL de uma solução de H_2SO_4 (20% v/v) e na outra 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) (50% v/v). Posteriormente essas amostras foram centrifugadas ($4000 \times g$, 20 minutos) e o sobrenadante armazenado em congelador para posterior análise.

4.5 Análises Laboratoriais

O teor de matéria seca (MS) das amostras de alimento, eventuais sobras, fezes e digesta duodenal foram determinadas por secagem em estufa à 105°C por pelo menos 12 horas. A matéria mineral (MM) foi determinada pela queima em mufla à 600°C durante 4 horas.

O nitrogênio total (N) foi determinado por método Kjeldahl (Método 984.13, AOAC, 1997). O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio não proteico (NNP) e nitrogênio solúvel e insolúvel em tampão borato-fosfato foram determinados de acordo com Licitra et al. (1996).

A análise dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) foi baseada em Mertens (2002), e de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) baseada no método 973.18 do AOAC (1997). Contudo, as amostras foram pesadas em saquinhos de poliéster (porosidade de 25 μ) e tratadas com solução detergente neutro (FDN) ou ácido (FDA) em autoclave a 110°C durante 40 minutos (SENGER et. al., 2008). Para análise de LDA, os saquinhos contendo o resíduo detergente ácido foram tratados em ácido sulfúrico 12 M durante 3 horas.

A concentração de extrato etéreo (EE) foi determinada em um sistema de refluxo (Soxtherm, Gerhardt; Alemanha) com éter etílico à 180°C por duas horas.

O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) das amostras foi calculado de acordo com Van Soest et al., (1991), sendo: $CNF = MO - ((N \times 6,25) + EE + (FDN - (NIDN \times 6,25)))$.

O teor de purinas foi quantificado nas amostras de digesta duodenal segundo a técnica proposta por Makkar e Becker (1999). A análise de N α -amino na digesta duodenal foi realizada de acordo com método adaptado de Palmer e Peters (1969), descrito previamente por Hentz et al., (2012).

A concentração de N amoniacal (N-NH₃) no fluido duodenal foi analisado colorimetricamente conforme Weatherburn (1967).

Nas amostras de fluido ruminal acidificadas com H₂SO₄ (20%) determinou-se a concentração de N-NH₃ conforme Weatherburn (1967) e açúcares redutores de acordo com Dubois et al. (1956). Nas amostras tratadas com TCA (50%) analisou-se o teor de N α -amino conforme descrito acima.

4.6 Cálculos

A digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), assim como das demais frações, foi calculada como:

$$DMS = (MS \text{ consumida (g/dia)} - MS \text{ fecal (g/dia)}) / MS \text{ consumida (g/dia)}$$

A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO) foi calculada considerando que somente a FDN excretada nas fezes era originada do alimento, onde:

$$DVMO = \text{Consumo de MO (g/dia)} - \text{FDN fecal (g/dia)} / \text{Consumo de MO (g/dia)}$$

O fluxo duodenal de MS, e das demais frações, no duodeno foi calculado com base na excreção fecal e na concentração duodenal de FDA da seguinte forma:

$$\text{MS duodenal (g/dia)} = [(\text{MS fecal (g/dia)} \times \text{FDA fecal (g/kg MS)}) / \text{FDA duodenal (g/kg MS)}]$$

O fluxo de N de origem microbiana no intestino delgado foi estimado com base no fluxo de purinas no duodeno, considerando um conteúdo de N nas purinas de 49% e uma proporção de N purina: N microbiano de 0,116 (CHEN & GOMES, 1992).

A digestibilidade ruminal verdadeira da matéria orgânica (DRVMO) foi calculada considerando que o nitrogênio representa 99,6 g/kg da MO microbiana (CLARK et al., 1992).

$$\text{DRVMO} = [1 - (\text{MO duodenal (g/dia)} - \text{MO microbiana (g/dia)} / \text{Consumo de MO (g/dia)})] \times 100$$

A digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN) foi calculada como:

$$\text{DVN} = \text{Consumo de N (g/dia)} - \text{NIDN fecal (g/dia)} / \text{Consumo de N (g/dia)}$$

O nitrogênio presente em compostos degradáveis no rúmen foi calculado pela diferença entre consumo total de nitrogênio e o fluxo duodenal de nitrogênio não amoniacal e não microbiano (NANMN).

A retenção de nitrogênio foi calculada descontando do consumo de nitrogênio a soma da excreção fecal e urinária de nitrogênio.

4.7 Análise Estatística

Os dados de digestibilidade total, digestibilidade ruminal, fluxo duodenal, excreção fecal, excreção urinária e retenção de nitrogênio foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$) utilizando o procedimento Mixed do SAS (2009) de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + \text{PROT}_k + T_l + (\text{PROT} \times T)_{kl} + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente

μ = média das observações

A_i = efeito aleatório dos animais

P_j = efeito aleatório dos períodos

$PROT_k$ = efeito fixo da fonte proteica

T_l = efeito fixo da inclusão de extrato tanífero

$(PROT \times T)_{kl}$ = efeito da interação fonte proteica x inclusão de extrato tanífero

e_{ijk} = erro residual

Os dados de parâmetros ruminais foram analisados por meio do procedimento Mixed do SAS (2009) satisfazendo o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + PROT_k + T_l + A(P \times PROT \times T) + Tp_m + (PROT \times T)_{kl} + (PROT \times Tp)_{km} + (T \times Tp)_{lm} + (PROT \times T \times Tp)_{klm} + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente

μ = média das observações

A_i = efeito aleatório dos animais

P_j = efeito aleatório dos períodos

$PROT_k$ = efeito fixo da fonte proteica

T_l = efeito fixo da inclusão de extrato tanífero

$A(P \times PROT \times T)$ = efeito aleatório dos animais em cada período, fonte proteica e inclusão de extrato tanífero (erro tipo a)

Tp_m = efeito fixo do tempo de coleta

$(PROT \times T)_{kl}$ = efeito da interação entre fonte proteica e inclusão de extrato tanífero

$(PROT \times Tp)_{km}$ = efeito da interação entre fonte proteica e do tempo de coleta

$(T \times Tp)_{lm}$ = efeito da interação entre inclusão de extrato tanífero e tempo de coleta

$(PROT \times T \times Tp)_{klm}$ = efeito da interação entre fonte proteica, inclusão de extrato tanífero e tempo de coleta

e_{ijklm} = erro residual

Após submeter os dados à análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

A seleção de melhor estrutura de matrizes de covariâncias utilizadas nesse estudo (UN=desestruturada; AR=Auto regressiva de primeira ordem; ANTE=Ante-dependência de primeira ordem) foi feita com base nos critérios de informação de Akaike – AIC (AKAIKE, 1974), critério de informação Bayesiano – BIC (SCHWARZ, 1978) e logaritmo de verossimilhança restrita (-2LMR). Vale ressaltar que valores menores de -2LMR, AIC e BIC são preferidos. O AIC e BIC foram obtidos da seguinte forma:

$$\text{AIC} = -2 L (\Theta) + 2d;$$

$$\text{BIC} = - 2 L (\Theta) + \ln (N)d;$$

onde:

$L(\theta)$ = logaritmo de verossimilhança restrita;

\ln = logaritmo neperiano;

d = representa o número total de parâmetros estimados pelo modelo e;

N = é o número total de observações.

5 RESULTADOS

5.1 Digestibilidade

Não houve interação significativa entre fonte proteica e extrato tanífero nas variáveis avaliadas. Os consumos de MS, MO, FDN e FDA foram similares em todos os tratamentos (Tabela 3). A digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA e DVMO foi afetada negativamente ($P < 0,05$) pela inclusão de extrato tanífero na dieta (Tabela 4).

Tabela 3. Consumo diário de matéria seca, matéria orgânica e compostos não nitrogenados por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia meansii*.

Item ¹	Concentrados				EPM ²	P ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT*T
	Sem	Com	Sem	Com				
Consumo (g/dia)								
MS	7174	7590	7420	7598	287,5	0,675	0,342	0,694
MS (%PC)	2,53	2,54	2,48	2,48	0,014	0,012	0,805	0,683
MO	6824	7204	7063	7196	269,4	0,683	0,378	0,662
FDN	2866	3069	2986	2978	124,0	0,911	0,462	0,429
FDA	1523	1550	1487	1479	65,1	0,443	0,897	0,797
MOD	5010	5104	5295	5113	125,9	0,287	0,739	0,314

¹MS= matéria seca; MS (%PC)= matéria seca em porcentagem do peso corporal; MO= matéria orgânica; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; MOD= matéria orgânica digestível

²EPM= Erro padrão das médias onde n=4 por tratamento

³Probabilidade do erro tipo I da análise de variância onde: PROT = fonte proteica; T = inclusão de extrato tanífero; PROT*T = interação entre fonte proteica e extrato tanífero

Tabela 4. Digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e da fração fibrosa da dieta de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Concentrados				EPM ²	P ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT*T
	Sem	Com	Sem	Com				
MS	0,72	0,69	0,74	0,70	0,010	0,241	0,019	0,547
MO	0,73	0,70	0,75	0,71	0,009	0,320	0,017	0,520
FDN	0,56	0,51	0,61	0,51	0,018	0,271	0,007	0,225
FDA	0,50	0,39	0,55	0,42	0,021	0,123	0,001	0,790
DVMO	0,81	0,79	0,83	0,80	0,007	0,143	0,007	0,405

¹MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; DVMO= digestibilidade verdadeira da matéria orgânica; ²EPM= Erro padrão das médias onde n=4 por tratamento

³Probabilidade do erro tipo I da análise de variância onde: PROT = fonte proteica; T = inclusão de extrato tanífero; PROT*T = interação entre fonte proteica e de extrato tanífero

O consumo de N pelos animais não foi afetado pela inclusão de extrato tanífero (Tabela 5).

A excreção fecal de N foi similar entre as fontes proteicas mas aumentou (P<0,05) com a inclusão de extrato tanífero na dieta. A excreção urinária e a retenção de N não foram afetadas pelos tratamentos.

A inclusão de extrato tanífero afetou negativamente (P<0,05) a digestibilidade aparente e verdadeira do nitrogênio. A eficiência de utilização do N (g de N retido/g de N consumido), não foi influenciada pelos tratamentos.

Tabela 5. Consumo, digestibilidade, balanço do nitrogênio em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*

Item ¹	Concentrados				EPM ²	P ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT*T
	Sem	Com	Sem	Com				
Consumo (g/dia)	162	170	167	169	5,6	0,764	0,383	0,581
Excreção (g/dia):								
Fecal	48	62	46	58	3,9	0,474	0,010	0,855
Urinário	52	56	63	56	3,9	0,214	0,689	0,196
Retenção (g/dia)	62	52	58	55	2,7	0,828	0,067	0,230
Digestibilidade:								
Aparente	0,70	0,63	0,72	0,66	0,012	0,098	0,001	0,821
Verdadeira	0,91	0,85	0,93	0,86	0,008	0,213	<0,001	0,825
Eficiência da utilização do N (g N retido/g N consumido)								
	0,38	0,31	0,35	0,34	0,022	0,658	0,120	0,269

¹CN=consumo de nitrogênio; Nf=nitrogênio fecal; NU=nitrogênio urinário; RN=retenção de nitrogênio; DN= digestibilidade aparente do nitrogênio; DVN= digestibilidade verdadeira do nitrogênio

²EPM= Erro padrão das médias onde n=4 por tratamento

³Probabilidade do erro tipo I da análise de variância onde: PROT = fonte proteica; T = inclusão de extrato tanífero; PROT*T = interação entre fonte proteica e de extrato tanífero

O fluxo duodenal de MO e N aumentou com a inclusão do extrato tanífero na dieta, resultando em redução da digestibilidade ruminal da MO e dos compostos nitrogenados (P<0,05, Tabela 6).

O fluxo duodenal de N microbiano, assim como a ESPM não foram influenciados pelos tratamentos. Já o fluxo duodenal de N α -amino e de NANMN aumentou com a presença dos taninos(P<0,05).

Tabela 6. Digestibilidade ruminal, fluxo duodenal, e síntese de proteína microbiana ruminal em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola com ou sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Tratamentos				EPM ²	P ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT*T
	Sem	Com	Sem	Com				
DRMO	0,50	0,42	0,53	0,43	0,028	0,510	0,011	0,801
DRN	0,68	0,48	0,67	0,55	0,034	0,449	0,004	0,284
Fluxo Duodenal (g/dia)								
MO	3317	4158	3320	4119	333,4	0,957	0,049	0,952
N	138	182	136	170	13,1	0,597	0,027	0,668
N-NH ₃	2,5	3,0	3,3	3,5	0,29	0,073	0,267	0,668
N α-amino	84	104	80	102	6,5	0,678	0,011	0,090
Nmp	84,8	91,0	77,2	89,2	6,58	0,503	0,215	0,679
Nmd	84,3	85,7	84,3	68,5	5,73	0,182	0,254	0,182
NANMN	50,5	87,7	55,9	75,9	7,54	0,681	0,009	0,296
ESPM	27,4	31,2	20,6	29,8	3,24	0,253	0,093	0,442

¹DRMO= digestibilidade ruminal da matéria orgânica; DRN= digestibilidade ruminal dos compostos nitrogenados; MO= matéria orgânica; N=nitrogênio; N-NH₃=nitrogênio amoniacal; N α - amino=nitrogênio alfa amino;; Nmp=nitrogênio microbiano estimado por purinas; Nmd=nitrogênio microbiano estimado por derivados de purinas; NANMN=nitrogênio não amoniacal e não microbiano; ESPM= eficiência de síntese de proteína microbiana (g/Kg de MO degradada no rúmen);

²EPM= Erro padrão das médias onde n=4 por tratamento ³Probabilidade do erro tipo I da análise de variância onde: PROT = fonte proteica; T = inclusão de extrato tanífero; PROT*T = interação entre fonte proteica e inclusão de extrato tanífero

5.2 Fermentação ruminal

Foi observado interação significativa entre fonte proteica e extrato tanífero somente para concentração de amônia (Figura 3). Em média, a concentração de amônia foi mais alta no tratamento com farelo de canola sem inclusão de extrato tanífero (41,7 mg/L), sendo menor e similar entre os demais tratamentos (34,4 mg/L). Os resultados das variáveis associadas à fermentação ruminal são apresentados nas Figuras 3, 4, 5 e 6.

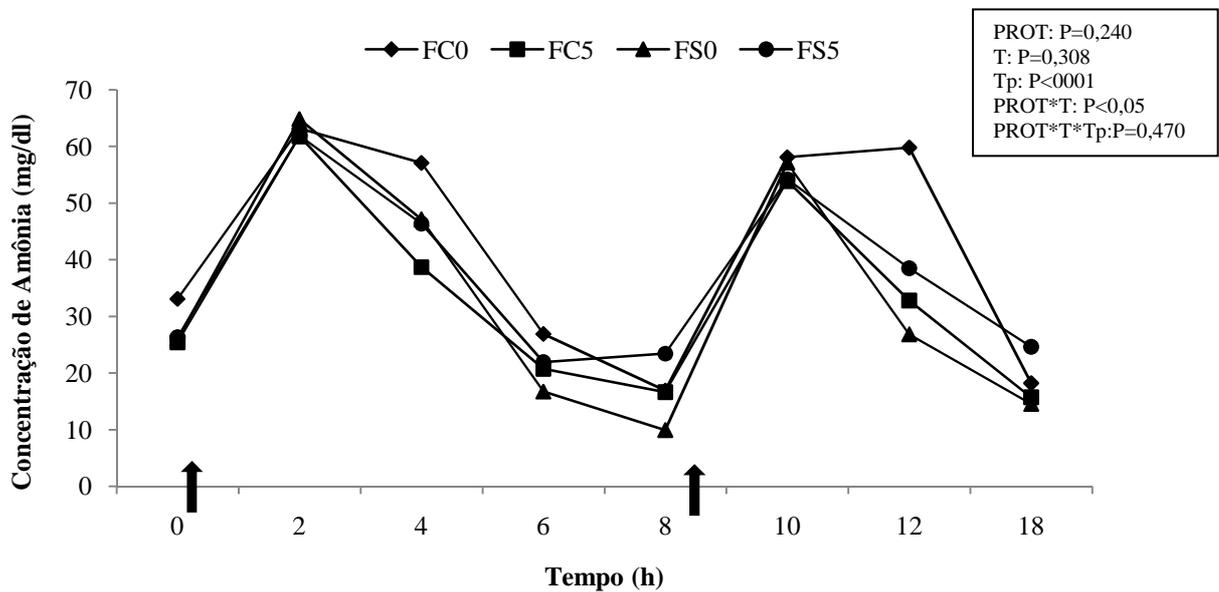


Figura 3 - Concentração de amônia (N-NH₃) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição (↑), em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (FC0; FC5; FS0; FS5). PROT= efeito da fonte proteica; T= efeito do extrato tanífero. Tp= efeito do tempo de coleta; PROT*T=efeito da interação entre fonte proteica e extrato tanífero; PROT*T*Tp=efeito da interação entre fonte proteica, extrato tanífero e tempo de coleta. Erro padrão das médias = 1,85 onde, n= 4 por horário e tratamento.

A concentração ruminal de N α - amino (Figura 4) foi mais alta nos tratamentos contendo farelo de canola ($P<0,05$), mas não foi influenciada pela presença de extrato tanífero.

A concentração de açúcares redutores (Figura 5) e o pH do fluido ruminal (Figura 6) não foram influenciados pelos tratamentos.

Todas as variáveis ruminais analisadas foram afetadas ($P<0,05$) pelo tempo após a ingestão do alimento, mas não foi observado interação tempo \times tratamento em nenhuma delas. As concentrações de amônia, N α -amino e de açúcares redutores aumentaram enquanto que o pH reduziu nas primeiras horas após a refeição.

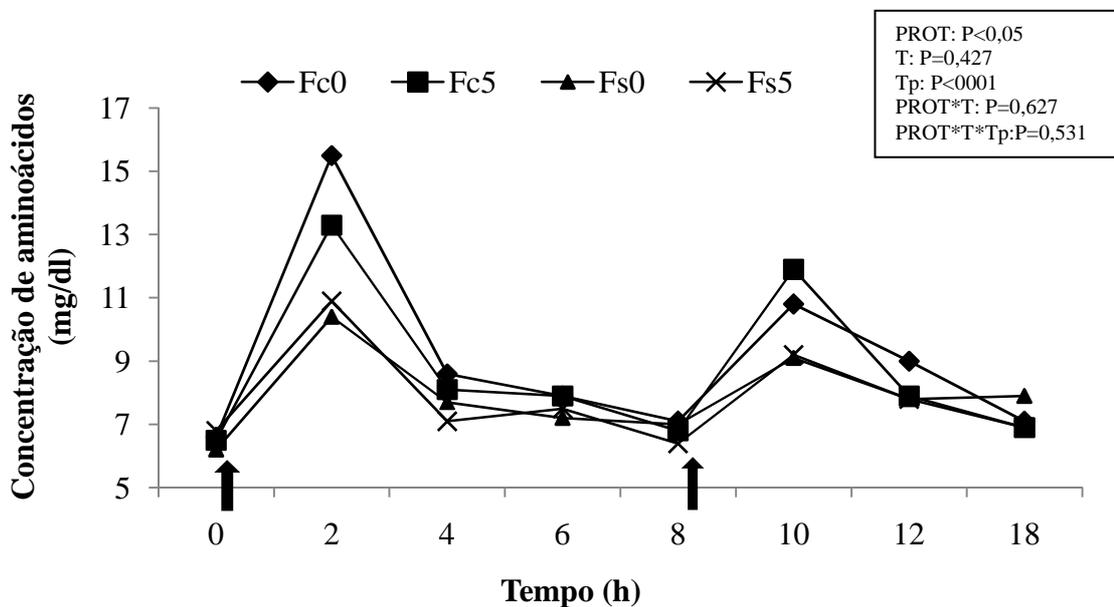


Figura 4 -Concentração de aminoácidos totais (N α - amino) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição (↑), em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (FC0; FC5; FS0; FS5). PROT= efeito da fonte proteica; T= efeito do extrato tanífero. Tp= efeito do tempo de coleta; PROT*T=efeito da interação entre fonte proteica e extrato tanífero; PROT*T*Tp=efeito da interação entre fonte proteica, extrato tanífero e tempo de coleta. Erro padrão das médias =0,29 onde, n= 4 por horário e tratamento.

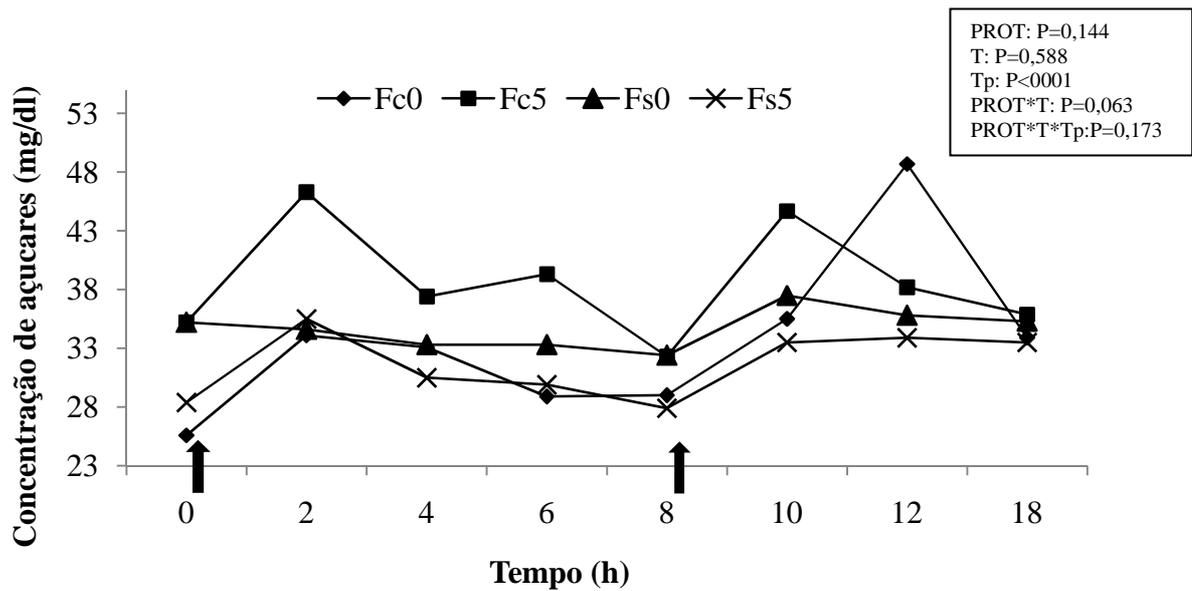


Figura 5 - Concentração de açúcares redutores (CHO) em mg/dl, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição (↑), em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Fc0; Fc5; Fs0; Fs5). PROT= efeito da fonte proteica; T= efeito do extrato tanífero. Tp= efeito do tempo de coleta; PROT*T=efeito da interação entre fonte proteica e extrato tanífero; PROT*T*Tp=efeito da interação entre fonte proteica, extrato tanífero e tempo de coleta. Erro padrão das médias = 1,28 onde, n=4 por horário e tratamento.

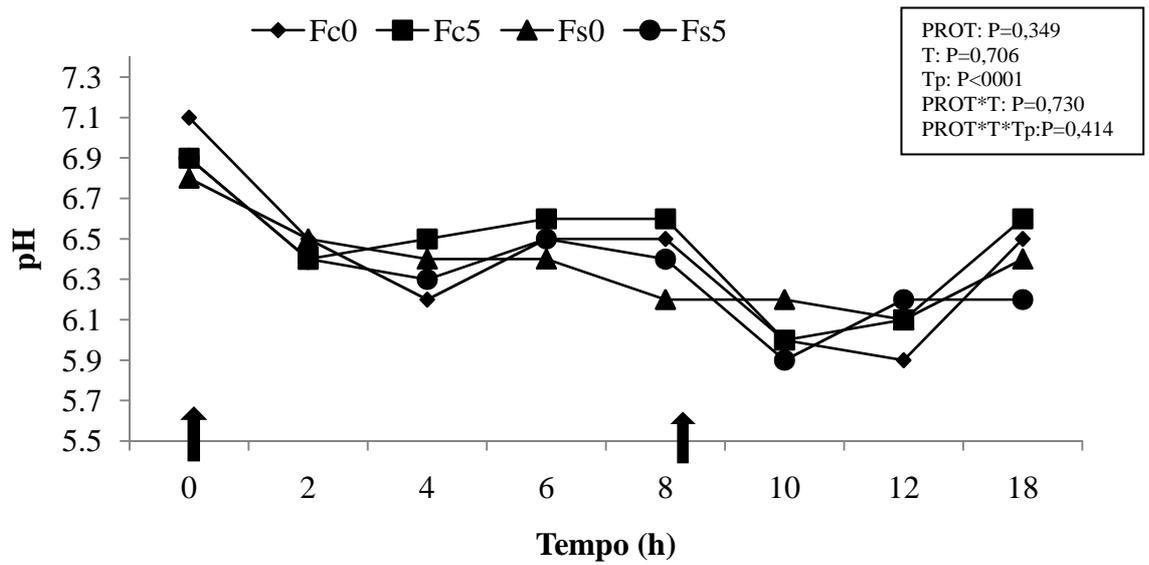


Figura 6 - Variação do pH, no fluido ruminal ao longo do tempo, após a refeição (↑), em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de canola (FC) ou farelo de soja (FS), sem ou com a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Fc0; Fc5; Fs0; Fs5). PROT= efeito da fonte proteica; T= efeito do extrato tanífero. Tp= efeito do tempo de coleta; PROT*T=efeito da interação entre fonte proteica e extrato tanífero; PROT*T*Tp=efeito da interação entre fonte proteica, extrato tanífero e tempo de coleta. Erro padrão das médias = 0,06 onde, n=4 por horário e tratamento.

6 DISCUSSÃO

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta, na dose de 15g/kg de MS, afetou negativamente as digestibilidade ruminal e total da MO, como consequência da redução na digestão da fibra e dos compostos nitrogenados.

O impacto negativo sobre a digestão de proteínas era esperado, uma vez que os taninos se complexam principalmente com estas moléculas.

Contudo o efeito negativo sobre a digestão da fibra indica que os taninos se complexam também com enzimas bacterianas e/ou com polissacarídeos como celulose e hemicelulose (MANGAN, 1988; NACZK et al., 1994; SCALBERT, 1991), interferindo na sua utilização pelos microorganismos ruminais.

Embora não tenha sido avaliado no presente estudo, é possível também que os taninos tenham impactado negativamente o processo de aderência dos microorganismos ruminais às partículas de alimento (MAKKAR, 2003).

De qualquer maneira, o impacto negativo dos taninos sobre a digestão total da MO foi bem inferior ao impacto positivo sobre o fluxo duodenal de N α -amino.

A digestibilidade ruminal e total dos compostos nitrogenados foi afetada negativamente pelo extrato tanífero, independentemente do tipo de concentrado proteico incluído na dieta. Contudo, somente na dieta contendo farelo de canola foi observado impacto negativo dos taninos sobre a concentração de amônia no fluido ruminal. Esta discrepância também foi observada por Mezzomo et al., (2011) que constatou uma diminuição na digestibilidade ruminal da proteína bruta, sem alterações nos parâmetros da fermentação ruminal, como as concentrações de nitrogênio amoniacal, em bovinos alimentados com dietas contendo farelo de soja e 0,4% de extrato tanífero. Também diferente do esperado, as concentrações ruminais de açúcares redutores e aminoácidos totais não sofreram variações significativas em função da inclusão do extrato tanífero na dieta.

No presente estudo, como esperado, o extrato tanífero reduziu a digestibilidade ruminal dos compostos nitrogenados e aumentou o fluxo duodenal de N α -amino e de NANMN, aumentando a oferta de proteína metabolizável aos animais (THEODORIU, 2011; WAGHORN, 2008) a partir da proteína dietética.

Além disso, apesar de ter impactado negativamente a digestão ruminal da MO, a quantidade de N microbiano que fluiu ao duodeno não foi reduzido pelos taninos. Embora

com menor consistência estatística ($P=0,09$), isso foi reflexo de maior eficiência na síntese de proteína microbiana. Os mecanismos não são claramente conhecidos, mas o efeito positivo dos taninos sobre a eficiência de síntese microbiana ruminal foram reportados em estudos conduzidos por Makkar et al., 1995; 1997.

Também não é claramente conhecido se os resultados que indicam melhor eficiência microbiana é de fato resultado de efeito dos taninos sobre o metabolismo e dinâmica de crescimento das populações microbianas, ou é consequência do método utilizado para estimar o fluxo duodenal de N microbiano. No presente estudo o fluxo de Nm foi estimado a partir das purinas duodenais e dos derivados de purinas excretados na urina. Ambos poderiam resultar em superestimativas se parte das purinas que chegam no duodeno forem de origem alimentar, como consequência do impacto negativo dos taninos sobre a fermentação da MO no rúmen.

Entre os efeitos consistentemente reportados dos taninos, inclui-se a redução da liberação e concentração de amônia ruminal e mudança do sítio de excreção de N urinário para o fecal (AUFRÈRE et al., (2008) ; SCHARENBERG et al., (2007); THEODORIDOU et al., (2010) e CARULLA et al., (2005)).

No presente estudo a inclusão do extrato tanífero aumentou claramente a excreção fecal de NIDN e de N total, mas interferiu somente parcialmente na concentração ruminal de amônia e não impactou a excreção urinária de N. A natureza dos compostos nitrogenados excretados nas fezes como consequência dos taninos necessita ser estabelecida.

A digestibilidade verdadeira dos compostos nitrogenados foi negativamente afetada pelo extrato tanífero, devido ao aumento na excreção fecal de NIDN. Parte desse incremento pode estar associado à excreção fecal de complexos entre proteínas solúveis com taninos, os quais são insolúveis em detergente neutro (MAKKAR et al., 1995).

7 CONCLUSÕES

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de bovinos, na proporção de 15 g/kg de MS, impactou positivamente o fluxo duodenal de N α – amino dos animais, independentemente se a fonte proteica vegetal foi farelo de canola ou farelo de soja.

Os resultados do presente estudo indicam potencial nutricional promissor do extrato tanífero de *Acacia mearnsii* para os ruminantes. Contudo, estudos adicionais devem ser conduzidos com animais alimentados *ad libitum* com dietas contendo maior teor de proteína degradável no rúmen e com níveis de adição de extrato inferiores a 15 g/kg de MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF**: ano base 2006. Brasília, 80 p., 2007.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control.**, Boston, v. 19, n. 6, p. 716-723, Dec. 1974.

ALVES, T. P. **Avaliação do uso de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* como modulador da fermentação ruminal em bovinos.** 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 16 th , 3. ed. AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD. 1997.

AUFRÈRE, J.; DUDILIEU, M.; PONCET, C. In vivo and in situ measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. **Animal**, v 2, n 9, p. 1331-1339, 2008.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88 (E. Suppl.):E9–E21, 2005.

BARRY, T. N.; MANLEY, T. R. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. **British Journal of Nutrition**. v 51, p.493-504. 1984.

BARRY, T.N.; McNABB, W.C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**. v.81, p.263-272, 1999.

BARICHELLO, L. R.; SCHUMACHER, M. V.; VOGEL, H.L.M. Quantificação da biomassa de um povoamento de *Acacia mearnsii* De Wild. na região sul do Brasil. **Ciência Florestal**-Santa Maria. v.15, n.2, p. 129-135, 2005.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A.; Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alim. Nutr.** Araraquara, v.15, n.1, p. 63-72, 2004.

BRITO, A. F.; BRODERICK, G. A. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1816-1827, 2007.

BROCK, F. M.; FORSBERG, C. W.; BUCHANAN-SMITH, J. G. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v 44, n.3, p. 561-569, set, 1982.

BORUCKI CASTRO, S. I. et al. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 810-822, 2007.

BUTLER, L. G. et. al. Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism specificity and significance. **Journal of American oil Chemistry Society**, Champaign, v.61, n.5, p.916-920, 1984.

CANNAS, A. **Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules**. Itaka, 1999. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html> Acesso em 25/01/2013.

CARULLA JE, KREUZER M, MACHMÜLLER A, HESS HD. Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research** v. 56, p. 961–970, 2005.

CLARCK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R., Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 75, n.8, p. 2304-2323, Aug, 1992.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, Bucksburn: Rowett Research Institute, Aberdeen. p.1-22. 1992.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; P.A; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; FERNÁNDEZ, M.; MANTECÓN, A.R. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meal in sheep. **Journal of Agricultural Science**, n 134, p. 101-108, 2000.

FRUTOS P., HERVÁS G., RAMOS G., GIRÁLDEZ F.J., MANTECÓN A.R.. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feeding Science Technology**, n 95, p. 215-226, 2002.

FRUTOS, P., HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F. J.; MANTECÓN, A. R. Review. Tannins and Ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**. v. 2, p. 191 – 201, 2004.

GRAINGER, C. et al. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, p. 241-251, 2009.

GUIMARÃES-BEELLEN, P.M.; BERCHIELLI, T.T.; BEELEN, R.; MEDEIROS, A.N. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-arid legumes on ruminal degradability, microbial colonization and ruminal enzymatic activity in Saanen goats. **Small Ruminant Research**. v.61, p.35-44, 2006.

HENTZ, F. **Avaliação da inclusão do farelo de canola em dietas para ruminantes**. 2010. 58 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2010.

HENTZ, F; KOZLOSKI, G. V.; ÁVILA, S. C.; CASTAGNINO, P. S.; STEFANELLO, C. M.; PACHECO, G. F. S. Intake and digestion by wheters fed a tropical Grass-based diet supplemented with increasing levels of canola meal. **Livestock Science** , n.147. p. 89-95, 2012.

HERVÁS, G.; FRUTOS, P.; SERRANO, E.; MANTECÓN, A.R.; GIRÁLDEZ, F.J. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. **Journal Agricultural Science**, n.135, p. 305-310, 2000.

HESS, H. D.; KREUZER, M.; DIAZ, T.E.; LASCANO, C. E.; CARULLA, J. E. ; SOLIVA, C.R. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated fluid. **Animal Feed Science and Technology**, n.109, p. 79–94 ,2003.

HESS, H. D.; VALENCIA, F. L.; MONSALVE, L. M.; LASCANO, C. E.; KREUZER, M. Effects of tannins in *Calliandra calothyrsus* and supplemental molasses on ruminal fermentation in vitro. **Journal of Animal and Feed Science**, n.13 (Suppl. 1), p. 95-98, 2004.

IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H.; FREEMAN, D. E. Rumen fermentation and

intestinal supply of nutrients in dairy cows fed rumen-protected soy products. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2879-2892, 2005.

KAMALAK, A, CANBOLAT Ö, GÜRBÜZ Y, ÖZAY O,. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. KSU. **Journal of Science and Engineering**. v.8,p. 84-86, 2005.

KOZSLOSKI, G. V.; HÄRTER, C. J.; HENTZ, F.; ÁVILA, S. C.; ORLANDI, T.; STEFANELLO, C. M.; Intake and digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extracted. **Small Ruminant Research**. v 106. p. 125-130, 2012.

LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. Tannin in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**. v.33, p.9-62, 1991.

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

MAKKAR, H.P.S., BLÜMMEL, M., BECKER, K. In vitro effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in rumen. **Journal Science Food Agricultural**, n. 69, 481–493, 1995.

MAKKAR, H.P.S., BLÜMMEL, M., BECKER, K. Application of an *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients. **In:Proceedings of the BSAP Occasional Meeting on In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants**, July 8–10, Reading, UK, 1997.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. **British Journal of Nutrition**, London, v. 81, n. 2, p. 107–112, Feb., 1999.

MAKKAR, H.P.S. **Quantification of Tannins in Tree Foliage**. Vienna, FAO/IAEA, p. 26. (Laboratory manual). 2000.

MAKKAR, H. P. S., Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**. v.49, p. 241–256 ,2003.

MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannin in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, v. 1, p. 209 – 231, 1988.

MARTINEZ, D. T. **Seleção genética de *Acacia mearnsii* De Wild. (Acácia-negra) visando o aumento da qualidade e produtividade de madeira e tanino no Rio Grande do Sul**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)- Universidade Federal do Paraná. 2006.

McNIVEN, M.A., PRESTLOKKEN, E., MYDLAND, L.T., MITCHELL, A.W.. Laboratory procedure to determine protein digestibility of heat-treated feedstuffs for dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.96,p 1-13, 2002.

McSWEENEY CS, PALMER B, MCNEILL DM, KRAUSE DO, Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v.91, p 83–93,2001.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. **Journal of AOAC**. Washington, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, Nov./Dec., 2002.

MEZZOMO, R.; PAULINO, P.V.R.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; MONNERAT, J. O. I. S.; DUARTE, M. S.; SILVA, L. H. P.; MOURA, L. S. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. **Livestock Science**. v.141,p 1-11, 2011.

MIN, B.R., BARRY, T.N., ATTWOOD, G.T., MCNABB,W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**. v.105, p. 3–19, 2003.

MOUJAHED, N.; BEN SALEM, H.; KAYOULI, C. Effects of frequency of polyethylene glycol and protein supplementation on intake and digestion of *Acacia cyanophylla* Lindl. Foliage fed to sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 56, p. 65-73, 2005.

MUELLER-HARVEY, I., MCALLAN, A. B., Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: Morrison, I.M. (Ed.), **Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology**. JAI Press, London, p151–217, 1992.

MUETZEL, S.; BECKER, K. Extractability and biological activity of tannins from various tree leaves determined by chemical and biological assays as affected by drying procedure. **Animal Feed Science and Technology**. v. 125, p.139-149, 2006.

NACZK, M.; NICHOLS, T. ; PINK, D.; SOSULSKI, F. Condensed tannins in Canola hulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.10, p. 2196 – 2200, 1994.

NORTON, B. W. The significance of tannins in tropical animal production. In “Tannins in livestock and human nutrition. Proceedings of an International Workshop”. Adelaide, Australia, 31 May – 2 June, 1999. (Ed. JD Brooker) p. 14 -23 (**Australian Centre for International Agricultural Research**: Canberra, ACT), 2000.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th Rev. Ed., National Acad. Press, Washington, DC. 2001.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes – Revisão. **Archives of Veterinary Science**. v.12, n.1, p. 1-9, 2007.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal Agricultural Science**, Tokyo, v. 92, n. 1, p. 499-503, mar., 1979.

PALMER, D. W.; PETERS, Jr. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2,4,6-trinitrobenzene sulfonate. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.15, n.9, p. 896, Sep., 1969.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal Science. Food Agricultural**. v. 91, p. 24 -37, 2010.

REED, J. D. SOLLER, H.; WOODWARD, A. Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on nitrogen utilization. **Animal Feeding Science Technology**. v 30, p 39-50, 1990.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal Animal. Science.**, v.73, p.1516-1528, 1995.

SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI, A.J.; AUER, C.G., SANTANA, D.L.Q. O complexo gomoso de Acácia-negra. **Circular Técnica**, n.44.Colombo, PR, Junho. p. 65, 2001.

SAS. **Statistical Analysis Systems**. Software, V.9.2, SAS Institute, Cary,NC, 2009.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. v.30, p.3875-3883, 1991.

SCHARENBERG, A., ARRIGO, Y., GUTZWILLER, A., WYSS, U., HESS, H., KREUZER, M., DOHME, F. Effect of feeding dehydrated and ensiled tanniniferous sainfoin (*Onobrychis*

viciifolia) on nitrogen and mineral digestion and metabolism of lambs. **Archives Animal Nutritional**, n. 61, p. 390–405, 2007.

SCHNEIDER, P. R.; FINGER, C. A. G.; CAMILLO, S. B.A.; FRIZZO, S. M.B. Determinação de equações da produção de tanino de Acácia-negra, *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.9, n.1, p. 103-113, 1999.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, p.21-40, 2001.

SCHWARZ, G. Estimating the dimensional of a model. **Annals of Statistics**, Hayward, v. 6, n. 2, p. 461-464, mar, 1978.

SENGER, C. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, n. 1–2, p. 169, Sept, 2008.

SILANIKOVE N, PEREVOLOTSKY A; PROVENZA FD, Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v.91, p.69–81, 2001.

TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 49, n.6, p. 1615-1630, Jun., 1979.

TAMMINGA, S.; HOFF, G. Feeding systems for dairy cows: In THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (eds.). **Feeding systems and feed evaluation models**, Cabi, Londres, p.109-127, 1999.

THEODORIDOU, K.; AUFRÈRE, J.; NIDERKORN, V.; ANDUEZA, D.; MORVAN, A.; PICARD, F.; BAUMONT, R. In vitro study of the effects of condensed tannins in sainfoin on the digestive process in the rumen at two vegetation cycles. **Animal Feed Science and Technology** 170. p. 147-159, 2011.

THEODORIDOU, K.; AUFRÈRE, J.; ANDUEZA, D.; POURRAT, J.; LE MORVAN, A.; STRINGANO, E.; MUELLER-HARVEY, I. ; BAUMONT, R. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology** 160. p. 23-38. 2010.

THOMAS, P. C. Microbial protein synthesis. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 32 , p. 85-91, 1973.

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**, Champaign, v.74, n. 10, p.3583-3597, 1991

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2nd ed. Cornell University Press, New York, NY, USA, 476 pp. 1994.

WAGHORN, G. C.; TAVENDALE, H. M.; WOODFIELD, D.R. Methanogenesis from forage fed to sheep. **Proceedings of the New Zealand Grassland Association**, n. 64, p. 167-171, 2002.

WAGHORN, G. C. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, n.147 . p. 116–139, 2008.

WEATHERBURN, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 39. n.38, p. 971-974, Jul., 1967.

WOODWARD, S.L.; WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. In: **The new zealand society of animal production**. Adelaide. Adelaide: ACIAR, 2001. p.23-26, 2001.

WOODWARD, S. L.; WAGHORN, G. C.; LABOYRIE, P. Condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) reduced methane emissions from dairy cows. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** n.64, p. 160-164, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados relativos ao peso corporal médio (PC médio), peso metabólico (PM), consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de nitrogênio (CN) e consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) em gramas.

Animal	Período	PC médio	PM	CMS	CMS (PC%)	CMO	CN	CFDN
3	1	297	71.5	7404	2.49	7056	167	2956
4	1	250	62.9	6476	2.59	6147	145	2677
5	1	317	75.1	9270	2.92	8792	202	3496
6	1	190	51.2	4926	2.59	4690	109	2059
3	2	297	71.5	7354	2.48	6967	165	2918
4	2	279	68.3	7092	2.54	6734	159	2945
5	2	343	79.7	8538	2.49	8174	193	3407
6	2	218	56.7	5521	2.53	5244	125	2330
3	3	335	78.3	8493	2.54	8054	191	3358
4	3	298	71.7	7322	2.46	6948	164	2971
5	3	365	83.5	7845	2.15	7483	180	2892
6	3	257	64.2	5851	2.28	5536	131	2313
3	4	350	80.9	8833	2.52	8389	199	3569
4	4	321	75.8	7916	2.47	7489	177	3186
5	4	395	88.6	9869	2.50	9371	220	3911
6	4	257	64.2	6415	2.50	6075	143	2610

APÊNDICE B – Dados relativos ao consumo de fibra em detergente ácido (CFDA), consumo de lignina (CLDA), consumo de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (CNIDN), consumo de nitrogênio insolúvel ácido (CNIDA), consumo de extrato etéreo (CEE) e consumo de carboidratos (CCHO) em gramas.

Animal	Período	CFDA	CLDA	CNIDN	CNIDA	CEE	CCHO
3	1	1414	144	20	6.8	254	5761
4	1	1304	81	22	9.5	241	5001
5	1	1665	134	21	7.9	339	7190
6	1	1070	186	15	7.1	190	3817
3	2	1392	128	20	7.5	247	5687
4	2	1520	199	25	11.4	270	5473
5	2	1629	175	24	7.8	306	6660
6	2	1182	171	21	8.8	201	4262
3	3	1663	150	30	12.2	304	6556
4	3	1528	186	19	6.1	315	5607
5	3	1523	203	24	10.4	306	6054
6	3	1189	118	16	4.9	251	4467
3	4	1916	194	27	12.6	354	6789
4	4	1588	155	20	6.8	287	6096
5	4	1914	122	33	13.4	405	7590
6	4	1284	105	17	5.9	224	4958

APÊNDICE C – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), de fibra em detergente neutro (FDN), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA) em gramas.

Animal	Período	Concentrados*	MS	MO	N	FDN	NIDN	FDA	LDA
3	1	FS0	2056	1847	45	1228	1228	641	143
4	1	FC5	1906	1711	49	1208	1208	713	281
5	1	FS0	2959	2691	76	1908	1908	1071	312
6	1	FC5	1502	1361	36	912	912	515	148
3	2	FS5	2035	1846	49	1294	1294	711	210
4	2	FC0	2114	1903	50	1312	1312	748	226
5	2	FS0	2156	1962	52	1337	1337	736	193
6	2	FC5	1832	1664	50	1225	1225	749	304
3	3	FC5	2711	2448	68	1696	1696	1015	366
4	3	FS0	1889	1716	46	1048	1048	601	160
5	3	FC0	1969	1778	51	1220	1220	714	241
6	3	FS5	1910	1745	49	1219	1219	667	192
3	4	FC0	2441	2213	55	1582	1582	918	312
4	4	FS5	2242	2048	58	1417	1417	819	277
5	4	FC5	2836	2575	80	1832	1832	1117	442
6	4	FS0	1689	1545	40	1054	1054	577	125

*FC0: farelo de canola sem extrato tanífero; FC5: farelo de canola com extrato tanífero; FS0: farelo de soja sem extrato tanífero; FS5: farelo de soja com extrato tanífero.

APÊNDICE D – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), N α -amino , N amoniacal (N-NH₃), N microbiano (Nm) estimado por purinas.

Animal	Período	Concentrados*	MS	MO	N	N-α amino	N-NH₃	Nm
3	1	FS0	3915	3366	141	76	3.95	0.52
4	1	FC5	3892	3349	143	75	2.67	0.46
5	1	FS0	6568	5730	244	125	4.86	0.35
6	1	FC5	3445	2869	130	75	1.73	0.39
3	2	FS5	3696	3223	130	76	2.83	0.54
4	2	FC0	3862	3396	122	73	1.62	0.50
5	2	FS0	4847	4214	176	94	4.70	0.48
6	2	FC5	3903	3391	151	86	1.63	0.35
3	3	FC5	5032	4437	186	98	2.24	0.45
4	3	FS0	3436	2979	115	68	2.66	0.57
5	3	FC0	3666	3194	139	84	3.48	0.57
6	3	FS5	3999	3403	144	96	2.65	0.39
3	4	FC0	4411	3810	161	103	3.32	0.55
4	4	FS5	4661	4119	158	110	3.81	0.45
5	4	FC5	6269	5457	248	156	5.65	0.42
6	4	FS0	3144	2720	115	83	2.00	0.55

*FC0: farelo de canola sem extrato tanífero; FC5: farelo de canola com extrato tanífero; FS0: farelo de soja sem extrato tanífero; FS5: farelo de soja com extrato tanífero.

APÊNDICE E – Dados relativos ao fluxo duodenal de nitrogênio não amoniacal e não microbiano (NANMN) em gramas por dia, digestibilidade ruminal da matéria orgânica (DRMO), proteína degradável no rúmen estimado por purinas (PDRp), proteína degradável no rúmen estimado por derivados de purinas (PDRd), eficiência da síntese de proteína microbiana estimado por purinas (ESPMp) e por derivados de purinas (ESPMd)

Animal	Período	Concentrados*	NANMN	DRMO	PDRp	PDRd	ESPMp	ESPMd
3	1	FS0	40.76	0.52	0.76	0.69	23.03	25.96
4	1	FC5	50.38	0.46	0.65	0.50	24.52	32.10
5	1	FS0	146.24	0.35	0.28	0.41	39.22	30.24
6	1	FC5	41.73	0.39	0.62	0.61	46.63	47.28
3	2	FS5	57.24	0.54	0.65	0.72	21.31	18.61
4	2	FC0	63.69	0.50	0.60	0.73	23.45	17.10
5	2	FS0	80.96	0.48	0.58	0.58	22.80	22.80
6	2	FC5	101.06	0.35	0.19	0.45	43.05	25.89
3	3	FC5	70.40	0.45	0.63	0.59	28.83	31.24
4	3	FS0	31.31	0.57	0.81	0.72	16.60	20.35
5	3	FC0	47.35	0.57	0.74	0.70	18.93	20.45
6	3	FS5	97.29	0.39	0.26	0.46	32.86	20.44
3	4	FC0	51.37	0.55	0.74	0.68	20.67	23.21
4	4	FS5	85.89	0.45	0.51	0.62	25.78	20.14
5	4	FC5	150.51	0.42	0.32	0.40	28.48	23.52
6	4	FS0	42.39	0.55	0.70	0.68	20.17	20.95

*FC0: farelo de canola sem extrato tanífero; FC5: farelo de canola com extrato tanífero; FS0: farelo de soja sem extrato tanífero; FS5: farelo de soja com extrato tanífero.

APÊNDICE F – Dados relativos ao consumo de N (CN), excreção fecal de nitrogênio (Nf), excreção urinária de N (NU) e retenção de nitrogênio (RN) em gramas

Animal	Período	Concentrados*	CN	Nf	NU	RN
3	1	FS0	166.6	45.0	74.1	47.5
4	1	FC5	144.6	49.4	39.5	55.8
5	1	FS0	202.1	76.1	80.9	45.2
6	1	FC5	109.2	36.2	32.0	41.0
3	2	FS5	165.3	49.5	55.3	60.5
4	2	FC0	158.7	49.9	36.5	72.3
5	2	FS0	193.2	52.0	75.3	66.0
6	2	FC5	125.1	49.8	32.3	42.9
3	3	FC5	191.2	68.0	63.4	59.7
4	3	FS0	164.2	45.5	52.3	66.4
5	3	FC0	179.6	50.6	53.5	75.4
6	3	FS5	130.8	49.1	26.7	55.1
3	4	FC0	199.4	55.4	86.0	58.0
4	4	FS5	176.9	58.1	60.1	58.7
5	4	FC5	220.1	79.7	89.9	50.6
6	4	FS0	142.9	40.4	51.4	51.1

*FC0: farelo de canola sem extrato tanífero; FC5: farelo de canola com extrato tanífero; FS0: farelo de soja sem extrato tanífero; FS5: farelo de soja com extrato tanífero.