

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

**FLUXO DUODENAL DE AMINOÁCIDOS EM
BOVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO
OU NÃO EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Tiago Orlandi

Santa Maria, RS, Brasil

2013

**FLUXO DUODENAL DE AMINOÁCIDOS EM BOVINOS
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO OU NÃO
EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

Tiago Orlandi

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).

Orlandi, Tiago

Fluxo duodenal de aminoácidos em bovinos alimentados com dietas contendo ou não extrato tanífero de *Acacia mearnsii* / Tiago Orlandi.-2013.

73 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. Zootecnia 2. Ruminantes 3. Aminoácidos 4. Tanino
5. Proteína metabolizável I. Kozloski, Gilberto Vilmar
II. Título.

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

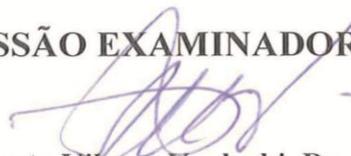
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**FLUXO DUODENAL DE AMINOÁCIDOS EM BOVINOS
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO OU NÃO EXTRATO
TANÍFERO DE *Acacia mearnsii***

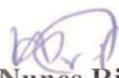
elaborada por
Tiago Orlandi

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:



Gilberto Vilmar Kozloski, Dr.
(Presidente/Orientador)



Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho, Dr. (UDESC)



Sérgio de Oliveira Juchem, PhD. (EMBRAPA)

Santa Maria, 01 de março de 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar nesta caminhada e mostra-me o caminho certo em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais Irineu e Terezinha pelo amor incondicional, incentivo e apoio ao tomar todas as decisões ao longo de minha vida.

Às minhas irmãs Tatiane e Iriane e meus cunhados Jorge e Adriano pela ajuda e preocupação em todos os momentos.

Ao meu sobrinho Arthur que encheu minha vida de alegrias, que me fez amadurecer e perceber o real sentido da vida com um simples sorriso ou gargalhada.

Ao professor Gilberto pela orientação, ensinamentos e paciência ao longo destes anos em que fiz parte da equipe do laboratório.

À Suélen Capa de Ávila pela amizade, conselhos e ajuda na condução do projeto, principalmente, nas muitas vezes que não pude estar presente para assumir o meu compromisso.

Aos colegas e amigos da pós-graduação e toda a equipe do laboratório, mesmo àqueles que já não estão mais presentes, mas que fizeram parte de minha vida, pela amizade e ajuda na realização deste trabalho sem medir esforços, independente do dia ou hora.

À Gisele Lutz pela amizade, preocupação e ensinamentos transmitidos.

À Lisandre de Oliveira pelos ensinamentos, interesse e grande ajuda na redação deste trabalho.

À Olirta Giuliani, secretária do PPGZ, e a todos os professores da UFSM que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e pelos ensinamentos transmitidos durante minha formação.

Ao professor Dalvan, vice-reitor da UFSM, e a equipe do Laboratório de Análises Micotoxicológicas por possibilitarem a análise de minhas amostras na UFSM.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para que eu alcançasse meu objetivo.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Muito obrigado a todos!

“Desaprender para aprender. Deletar para escrever em cima. Houve um tempo em que eu pensava que, para isso, seria preciso nascer de novo, mas hoje sei que dá pra renascer várias vezes nesta mesma vida. Basta desaprender o receio de mudar.”

(Martha Medeiros)

RESUMO

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

FLUXO DUODENAL DE AMINOÁCIDOS EM BOVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO OU NÃO EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii*

AUTOR: TIAGO ORLANDI

ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Local e data da defesa: Santa Maria, 01 de março de 2013.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta sobre o fluxo e o perfil de aminoácidos no duodeno de bovinos consumindo quantidades limitadas de dietas contendo suplementos proteicos de alta degradabilidade ruminal. Foram conduzidos dois ensaios *in vivo*. No ensaio 1 foi avaliado o efeito da inclusão de níveis (0, 0,9, 1,8 ou 2,7%) do extrato tanífero na dieta de quatro bovinos machos castrados da raça Holandês (158 ± 30 kg de peso corporal (PC)), implantados com cânula no duodeno proximal e dispostos em um delineamento Quadrado Latino 4×4 . A oferta das dietas experimentais foi restrita a 2% do PC e constituídas por 55% de Aveia Preta (*Avena strigosa*) e 45% de concentrado contendo farelo de soja. No ensaio 2 foi avaliado o efeito da inclusão ou não de 1,5% do extrato tanífero na dieta de quatro bovinos machos castrados da raça Holandês (297 ± 56 kg de PC), também implantados com cânula no duodeno proximal e dispostos em um delineamento Quadrado Latino 4×4 . A oferta das dietas foi restrita a 2,5% do PC e constituídas por 70% de silagem de milho e 30% de concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola. Em ambos os ensaios os períodos experimentais tiveram duração de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação às dietas e cinco dias de coleta de amostras. No ensaio 1 o fluxo duodenal de Ala, Asp, Glu, Ile, Leu, Met, Tyr, Val e de todos os grupos de aminoácidos aumentou ($P \leq 0,05$) quando adicionado tanino à dieta. Porém, o perfil que chegou ao duodeno não foi modificado ($P > 0,05$). No ensaio 2 o fluxo duodenal dos aminoácidos Ala, Arg, Glu, Gly, Leu, Phe, Pro, Thr, Val e dos grupos de AAE, AANE, AAG, AAC e AAT aumentou ($P \leq 0,05$) ao adicionar o extrato tanífero às dietas. Uma interação ($P \leq 0,05$) foi observada entre tanino e fonte proteica sobre o perfil do aminoácido Glu e do grupo dos AAG quando a mistura do farelo de soja com tanino aumentou a percentagem destes aminoácidos na digesta. Além disso, nem o fluxo e o perfil de aminoácidos da digesta foram afetados ($P > 0,05$) pela inclusão de farelo de soja ou farelo de canola na dieta. Foi observada alta e significativa ($P \leq 0,05$) relação entre os perfis de aminoácidos ingeridos e da digesta duodenal em ambos os ensaios, e os coeficientes de regressão das equações dos tratamentos 1,8 e 1,5% de inclusão de extrato tanífero (ensaios 1 e 2, respectivamente) foram estatisticamente iguais a 1 ($P > 0,05$). Da mesma forma, as relações entre o perfil de AAE da digesta duodenal e o perfil de AAE do leite e do tecido muscular foram estatisticamente iguais ($P > 0,05$) ou mais próximas de 1 quando adicionado até 1,8% de extrato tanífero nas dietas do ensaio 1 ou quando incluído o tanino nas dietas do ensaio 2. A inclusão de até 1,8% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de bovinos consumindo quantidades restritas de alimentos tem o potencial de aumentar o fluxo de AAT ao duodeno e reduzir a diferença entre o perfil de AAT que chega ao duodeno em relação ao perfil de AAT consumido. Além disso, a inclusão deste extrato tanífero e nesta mesma quantidade pode aproximar o perfil de AAE da digesta duodenal do perfil de AAE do leite e do tecido muscular.

Palavras-chave: Degradabilidade ruminal. Fluxo duodenal. Perfil de aminoácidos. Tanino.

ABSTRACT

Master Degree Dissertation
Post-Graduate Program in Animal Science
Federal University of Santa Maria

DUODENAL FLOW OF AMINO ACIDS IN CATTLE FED DIETS CONTAINING OR NOT *Acacia mearnsii* TANNIN EXTRACT

AUTHOR: TIAGO ORLANDI

ADVISOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Place and Date of evaluation: Santa Maria, March 01, 2013.

This study was conducted to evaluate the effect of including *Acacia mearnsii* tannin extract in the diet on the flow and amino acid profile in the duodenum of cattle consuming limited amounts of diets containing high degradability protein supplements. Two experiments were conducted *in vivo*. In trial 1 evaluated the effect of inclusion levels (0, 0.9, 1.8 or 2.7%) of the tannin extract in the diet of four Holstein steers (158 ± 30 kg of body weight (BW)), implanted with cannula in the proximal duodenum and arranged in a randomized 4×4 Latin Square. The experimental diets supply was restricted to 2% of BW and consisted of 55% of black oats (*Avena strigosa*) and 45% of a concentrate containing soybean meal. In trial 2 was evaluated the effect of the inclusion or not of 1.5% of the tannin extract in diet of four Holstein steers (297 ± 56 kg BW), also implanted with cannula in the proximal duodenum and arranged in a randomized 4×4 Latin Square. The experimental diets supply was restricted to 2.5% of BW and consisted of 70% of corn silage and 30% of a concentrate containing either soybean meal or canola meal. In both trials the experiment lasted fifteen days, ten days of adaptation diet and five days of sampling. In trial 1 the duodenal flow of the amino acids Ala, Asp, Glu, Ile, Leu, Met, Tyr, Val and all amino acid groups increased ($P \leq 0.05$) when tannin extract was added to the diet. However, the profile that arrived in the duodenum was not altered ($P > 0.05$). In trial 2 the duodenal flow of Ala, Arg, Glu, Gly, Leu, Phe, Pro, Thr, Val amino acids and groups of EAA, NEAA, GAA, KAA and TAA increased ($P \leq 0.05$) when the tannin extract was added to the diets. An interaction ($P \leq 0.05$) was observed between tannin and protein source on the Glu amino acid profile and of GAA group when the mixed soybean meal with tannin increased the percentage these amino acids in the digesta. Moreover, neither the flow nor the amino acid profile of the digesta were affected ($P > 0.05$) by the inclusion of soybean meal or canola meal in the animal diets. A high and significant ($P \leq 0.05$) relationship was observed between ingested amino acid profiles and amino acid profiles of duodenal digesta in both trials, and the regression coefficients of the equations of treatments with the inclusion of 1.8 and 1.5% tannin extract (tests 1 and 2, respectively) were statistically equal to 1 ($P > 0.05$). Similarly, the relationships between the EAA profile of duodenal digesta and the EAA profile milk and of muscular tissue were statistically equal ($P > 0.05$) or more next to 1 when added until 1.8% of tannin extract in the diets of trial 1 or when tannin added in the diets in the trial 2. Adding until 1.8% of *Acacia mearnsii* tannin extract in the diet of animals consuming restricted amounts of foods has the potential to increase the flow of TAA to the duodenum and reduce the difference between the TAA profiles which reaches the duodenum in relation to the ingested TAA profile. Moreover, the inclusion this tannin extract and in this same amount can approximate the EAA profile of duodenal digesta of the EAA profile of the muscular tissue and of milk.

Keywords: Amino acid profile. Duodenal flow. Ruminant degradability. Tannin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....41
- Figura 2 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 0,9% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....42
- Figura 3 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 1,8% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....42
- Figura 4 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....43
- Figura 5 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do leite e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem inclusão ou com 0,9, 1,8 ou 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....44
- Figura 6 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do tecido muscular e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem inclusão ou com 0,9, 1,8 ou 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....45
- Figura 7 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....51
- Figura 8 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola e 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....52
- Figura 9 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do leite e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão ou com 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....53
- Figura 10 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do tecido muscular e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão ou 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.....54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos alimentos e proporção dos ingredientes nos concentrados.....	28
Tabela 2 – Composição química dos alimentos e proporção dos ingredientes nos concentrados.....	30
Tabela 3 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	36
Tabela 4 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	37
Tabela 5 – Fluxo duodenal de aminoácidos (gramas/dia) em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	39
Tabela 6 – Perfil de aminoácidos (% dos aminoácidos totais) na digesta duodenal de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	40
Tabela 7 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	46
Tabela 8 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	47
Tabela 9 – Fluxo duodenal de aminoácidos (gramas/dia) em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	49
Tabela 10 – Perfil de aminoácidos (% dos aminoácidos totais) na digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na dieta.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 HIPÓTESE	12
3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	13
3.1 Aminoácidos no metabolismo animal	13
3.2 Degradabilidade ruminal dos compostos nitrogenados	14
3.3 Exigências de aminoácidos por bovinos	17
3.4 Suplementos proteicos	20
3.5 Fluxo duodenal de aminoácidos	22
3.6 Uso do tanino como modulador da degradação proteica no rúmen	23
3.7 Extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i> na alimentação de ruminantes	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Local e época	27
4.2 Ensaio 1 – Níveis de tanino	27
4.2.1 Animais, dietas e delineamento experimental	27
4.2.2 Condução do experimento	29
4.3 Ensaio 2 – Inclusão de tanino × fonte proteica	29
4.3.1 Animais, dietas e delineamento experimental	29
4.3.2 Condução do experimento	31
4.4 Coletas de amostras	31
4.5 Análises químicas	32
4.6 Cálculos	33
4.6.1 Fluxo duodenal de MS e aminoácidos	33
4.6.2 Carboidratos não fibrosos	33
4.7 Perfil de aminoácidos para síntese proteica	34
4.8 Análises estatísticas	34
4.8.1 Ensaio 1 – Níveis de tanino	34
4.8.2 Ensaio 2 – Inclusão de tanino × fonte proteica	35
5 RESULTADOS	36
5.1 Ensaio 1 – Níveis de tanino	36
5.1.1 Consumo de aminoácidos	36
5.1.2 Fluxo duodenal de aminoácidos	38
5.1.3 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal	41
5.1.4 Relação entre o perfil de AAE da digesta duodenal, leite e músculo	43
5.2 Ensaio 2 – Inclusão de tanino × fonte proteica	46
5.2.1 Consumo de aminoácidos	46
5.2.2 Fluxo duodenal de aminoácidos	48
5.2.3 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal	51
5.2.4 Relação entre o perfil de AAE da digesta duodenal, leite e músculo	52
6 DISCUSSÃO	55
6.1 Consumo de aminoácidos	55
6.2 Fluxo duodenal de aminoácidos	55
6.3 Perfil de aminoácidos da digesta duodenal	58
6.4 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal	61
6.5 Perfil de aminoácidos para a síntese das proteínas do leite	62
6.6 Perfil de aminoácidos para a síntese proteica do tecido muscular	63
7 CONCLUSÕES	64
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

Suprir adequadamente as exigências dos animais por proteína metabolizável está entre os principais fatores para melhorar a eficiência dos sistemas de produção de carne e leite. A proteína metabolizável representa a quantidade de aminoácidos disponíveis no lúmen do intestino delgado e que são passíveis de absorção, e originam-se da proteína microbiana sintetizada no rúmen, da proteína dietética não degradada no rúmen e dos tecidos e secreções endógenas (NRC, 1985). A oferta de proteína microbiana é diretamente relacionada com a quantidade de matéria orgânica degradada no rúmen, desde que não haja deficiência de amônia para o crescimento bacteriano (VAN SOEST, 1994). Se a disponibilidade de amônia no rúmen for acima da demanda bacteriana o excesso é absorvido, metabolizado a ureia no fígado e parte excretada na urina. Essa última situação é comum em animais alimentados com forrageiras ricas em compostos nitrogenados solúveis ou suplementados com concentrados proteicos de origem vegetal, os quais usualmente tem alta degradabilidade ruminal, podendo esta oferta ser insuficiente para suprir as exigências de animais de alto desempenho pela limitada oferta de aminoácidos no intestino delgado.

Portanto, a inclusão de suplementos proteicos de baixa degradabilidade ruminal e adequada disponibilidade de energia no rúmen constitui-se em uma estratégia alimentar com potencial para aumentar a oferta intestinal de aminoácidos e a eficiência nutricional de animais com alto potencial produtivo (ROSSI et al., 2007). Entre os principais concentrados proteicos de origem vegetal disponíveis no mercado brasileiro incluem-se o farelo de soja e o farelo de canola, ambos caracterizados por ter proteína com alta degradabilidade ruminal (i.e., em torno de 70% (NRC, 2001)). Porém, para aumentar a oferta de aminoácidos no intestino delgado pela inclusão de suplementos proteicos com esta característica na dieta dos ruminantes é necessário processá-los de modo a diminuir a degradabilidade ruminal da fração proteica sem reduzir sua digestibilidade intestinal. Uma alternativa é submeter estes alimentos ao tratamento pelo calor. No entanto, este processo usualmente reduz a digestibilidade intestinal da proteína devido à ocorrência da reação de Maillard (VAN SOEST, 1994). Outra opção é a utilização de componentes naturais de plantas com conhecida habilidade em reduzir a proteólise ruminal como, por exemplo, os taninos.

É conhecido o efeito dos taninos presentes em leguminosas forrageiras sobre o crescimento bacteriano (MCSWEENEY et al., 2001) e a degradação ruminal das proteínas (WAGHORN et al., 1987). No entanto, a estrutura química, concentração e efeitos biológicos

dos taninos são amplamente variáveis dentro e entre espécies forrageiras, o que dificulta a manipulação dietética destes compostos. Portanto, uma fonte concentrada de taninos pode ser uma alternativa na tentativa de melhor controlar os efeitos desta substância e assim obter os resultados positivos de desempenho citados em experimentos utilizando forrageiras ricas em taninos.

O extrato tanífero de Acácia (*Acacia mearnsii*) pode ser uma opção viável para este uso no Brasil, visto que o plantio florestal da *Acacia mearnsii* está entre os mais expressivos entre as espécies florestais no país (MARTINEZ, 2006). Alguns estudos (CARULLA et al., 2005; GRAINGER et al., 2009; KOZLOSKI et al., 2012) foram conduzidos para avaliar o efeito do extrato tanífero desta planta sobre a digestibilidade e/ou desempenho animal. Contudo, em nenhum destes estudos foi avaliado detalhadamente o fluxo e o perfil de aminoácidos no duodeno.

Além disso, a resposta produtiva esperada pelo aumento da oferta de aminoácidos, em função da redução da degradabilidade ruminal da proteína bruta, depende também da qualidade da proteína não degradável. Existe uma variabilidade muito grande no perfil de aminoácidos dos suplementos proteicos utilizados na alimentação animal, podendo acarretar em diferenças significativas no valor biológico destas fontes proteicas e, conseqüentemente, na resposta produtiva pelos animais.

Apesar do comprovado valor dos taninos na redução da degradação ruminal da proteína, para efeitos práticos, é necessário definir a proporção de extrato tanífero a ser adicionado em dietas contendo concentrado proteico vegetal com o objetivo de suprir adequadamente os ruminantes por aminoácidos.

Em vista disso, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta sobre o fluxo e o perfil de aminoácidos no duodeno de bovinos consumindo quantidades limitadas de dietas contendo suplementos proteicos de alta degradabilidade ruminal.

2 HIPÓTESE

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de bovinos com consumo limitado é capaz de aumentar o fluxo de aminoácidos totais no duodeno e reduzir a diferença entre o perfil de aminoácidos que chega ao duodeno em relação ao perfil de aminoácidos consumido, bem como reduzir a diferença entre o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal em relação ao perfil de aminoácidos essenciais do leite e do tecido muscular.

3 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Aminoácidos no metabolismo animal

O estudo dos aminoácidos é fundamental na nutrição humana e animal, pois estes não podem, como os vegetais, sintetizar proteínas a partir de elementos mais simples, necessitando assim da ingestão de aminoácidos para formar suas próprias proteínas (ANDRIGUETTO et al., 1983). Apesar de ocorrerem na natureza aproximadamente 300 aminoácidos distintos, apenas 20 deles estão presentes nas proteínas de microorganismos, plantas e animais (SANTOS, 2006). Para fins nutricionais, são classificados como aminoácidos essenciais (AAE) e aminoácidos não essenciais (AANE) (BERNARDI, 2000).

Os AAE não são sintetizados pelo organismo animal, ou são sintetizados (Arginina e Histidina) em quantidades insuficientes para suprir as exigências, particularmente nas fases de crescimento ou altos níveis de produção (NRC, 2001). Dos 20 aminoácidos, 10 são considerados AAE tanto para ruminantes como para não ruminantes: arginina (Arg), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), treonina (Thr), triptofano (Trp) e valina (Val). Os AANE são aqueles que, quando necessário, podem ser sintetizados em quantidades adequadas pelos tecidos do animal a partir de produtos do metabolismo intermediário ou a partir de outros AANE ou mesmo de AAE absorvidos em excesso, por isso não precisam ser absorvidos em um perfil específico (NRC, 2001; SCHWAB, 1996). São eles: alanina (Ala), ácido aspártico (Asp), asparagina (Asn), cisteína (Cys), ácido glutâmico (Glu), glutamina (Gln), glicina (Gly), prolina (Pro), serina (Ser) e tirosina (Tyr). Existe uma exceção quando cisteína ou tirosina são ofertados em pequena quantidade e metionina e fenilalanina são limitantes. Metionina e fenilalanina são precursores para a síntese de cisteína e tirosina, respectivamente, e quando os últimos são ofertados em quantidade reduzida, a deficiência dos AAE correspondentes será agravada (SCHWAB, 1996).

O termo aminoácido limitante tem sido utilizado para identificar aqueles aminoácidos que estão em menor oferta em relação às exigências. Dessa forma, a eficiência de uso dos aminoácidos absorvidos é determinada pela oferta do primeiro aminoácido limitante. É importante ressaltar que apesar das definições de AAE, AANE, e aminoácidos limitantes,

todos eles são imprescindíveis para os animais. Os 20 aminoácidos são requeridos pelo organismo principalmente para a síntese de proteínas, mas podem também ser utilizados para a síntese de outros metabólitos. Com base nos metabólitos produzidos, os aminoácidos podem ser classificados em: glicogênicos (Ala, Cys, Gly, Ser, Asp, Glu, Arg, His, Pro, Met e Val), importantes precursores para a síntese de glicose, através da neoglicogênese hepática em ruminantes; cetogênicos (Leu e Lys), precursores para a síntese de ácidos graxos; e glicogênicos e cetogênicos (Phe, Trp, Tyr, Ile e Thr), precursores tanto de glicose como de ácidos graxos (NELSON e COX, 2005). Além da síntese de glicose e ácidos graxos, os aminoácidos também podem ser oxidados a CO_2 e água para produção de energia, porém, o seu grupamento NH_3^+ , quando não utilizado para a síntese de outros aminoácidos, é convertido à ureia no fígado e excretado (SANTOS, 2006).

Dessa forma, os organismos requerem um perfil de aminoácidos adequado para seu metabolismo. Mudanças neste perfil podem implicar em ajustes no metabolismo animal para manter a sua homeostase, estando esta resposta geralmente associada com menores desempenhos produtivos. No entanto, quando a proteína metabolizável apresenta uma quantidade e perfil de AAE e AANE adequados, a eficiência de utilização dos aminoácidos é otimizada, a excreção de ureia e de outros compostos nitrogenados pode ser reduzida e o desempenho animal é maximizado.

3.2 Degradabilidade ruminal dos compostos nitrogenados

As espécies vegetais que compõem a alimentação de animais ruminantes contêm uma vasta gama de compostos nitrogenados. No entanto, o valor de proteína bruta (PB) dos alimentos considera o total de nitrogênio, incluindo o nitrogênio proteico e outros compostos nitrogenados não proteicos. Além disso, a proteína de origem alimentar pode ser separada em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR), com a PDR sendo então composta de proteína verdadeira e nitrogênio não proteico (BACH et al., 2005). Considera-se que o nitrogênio não proteico (NNP) é rapidamente e totalmente degradado no rúmen, e tanto gramíneas temperadas jovens como silagens, possuem teores substanciais dessa fração em sua composição. A proteína verdadeira pode ser degradada em peptídeos e aminoácidos, os quais podem ser desaminados ou incorporados à proteína microbiana.

A massa microbiana é, normalmente, a principal fonte de aminoácidos que chega ao intestino delgado, e a PNDR, por sua vez, pode representar uma segunda fonte de aminoácidos disponíveis ao animal (SANTOS, 2006). No entanto, animais de média a alta produção que recebem dietas desbalanceadas e com grande proporção de PDR, apesar de consumirem altas quantidades de PB, podem apresentar uma ineficiência no uso da proteína metabolizável, altas concentrações séricas de ureia, altas taxas de excreção urinária de nitrogênio, baixa eficiência no uso do nitrogênio da dieta e baixa eficiência reprodutiva (FOX et al., 2004).

Nas últimas décadas, considerável atenção foi dada à determinação de exigências por proteína em ruminantes, tendo sido proposta uma série de sistemas ou modelos embasados principalmente nas porções proteicas degradáveis e não degradáveis dos alimentos (SILVA et al., 2002). A degradabilidade ruminal da proteína tem sido estimada usando técnicas *in vivo* que requerem animais canulados, marcadores de fluxo de digesta e marcadores microbianos (CHOI et al., 2002). Isto porque, o conhecimento sobre a degradação da proteína dos alimentos é fundamental para estabelecer níveis ideais de PDR para otimizar o crescimento microbiano e, dessa forma, encontrar quantidades de PNDR que complementam as exigências nutricionais dos ruminantes (NRC, 2001). Consequentemente, a manipulação da degradação proteica e da eficiência da utilização do nitrogênio no rúmen são as estratégias mais eficientes para reduzir as perdas de nitrogênio (TAMMINGA, 1996).

Erasmus et al. (1994) salientaram que apesar do crescente interesse na formulação de dietas e suplementos para ruminantes com ênfase no fornecimento específico ou geral de aminoácidos no intestino, há dificuldades na realização deste objetivo, pois existe pouca semelhança quantitativa e qualitativa entre os aminoácidos fornecidos na dieta e os aminoácidos que chegam ao intestino. No caso dos ruminantes, a digestão dos compostos nitrogenados é mais complexa, pois os alimentos sofrem transformações durante a fermentação ruminal, o que dificulta o conhecimento dos aminoácidos disponíveis para absorção no duodeno (SILVA et al., 2002).

Além disso, a mudança em quantidade e perfil dos aminoácidos, resultado da fermentação ruminal, pode ser uma vantagem ou desvantagem, dependendo da composição da proteína do alimento. Quando a proteína é de boa qualidade, o valor biológico da fração não degradada no rúmen que chega ao intestino pode ser reduzido. Por outro lado, quando a proteína do alimento é de baixa qualidade, a fermentação ruminal pode ser benéfica por transformá-la em proteína microbiana de alto valor biológico (ROSSI et al., 2007). Aufrère et al. (2001) consideram a proteína dietética que escapa da degradação no rúmen o fator

determinante na qualidade da proteína que chega ao duodeno. Entretanto, o perfil de aminoácidos da PNDR é diferente do perfil de aminoácidos da proteína dietética como originalmente ingerida, pois os aminoácidos são degradados a diferentes extensões no rúmen (FENDERSON e BERGEN, 1975; MACGREGOR et al., 1978), podendo algumas vezes melhorar ou piorar o perfil de aminoácidos desta fração proteica (SCHINGOETHE, 1996).

Stern et al. (1983) ao avaliarem a degradabilidade ruminal dos aminoácidos presentes no farelo de glúten de milho verificaram que os primeiros seis aminoácidos mais degradados foram AAE, de forma que a Lys apresentou um maior desaparecimento no ambiente ruminal. Chalupa (1976) forneceu informações sobre a degradação de quantidades fisiológicas de aminoácidos em condições *in vitro* e *in vivo*, e demonstrou que os AAE Arg e Thr são degradados rapidamente; Lys, Phe, Leu e Ile possuem uma degradabilidade intermediária, e Val e Met degradam mais lentamente. A interação na degradação dos aminoácidos também foi demonstrada nesse mesmo estudo; apesar da Met apresentar uma menor influência sobre a degradação da Val, a degradação da Met reduziu significativamente na presença de Val.

Entretanto, a degradabilidade proteica ruminal pode ser afetada por vários fatores, tais como a composição química e física da PB, bem como as características do ambiente ruminal como pH, substratos disponíveis para fermentação (principalmente carboidratos rapidamente fermentáveis) e população microbiana predominante. A presença de compostos secundários nas plantas, como os taninos, também reduzem a degradação da proteína no rúmen e aumentam o fluxo de nitrogênio não amoniacal para o intestino (WAGHORN e MCNABB, 2003). Além disso, a degradabilidade ruminal da proteína é menor quanto maior for a taxa de passagem da digesta pelo rúmen. Sabe-se que animais com alto consumo têm maior taxa de passagem. Nestes casos a proteína não degradável dietética pode ser mais alta que a predita teoricamente.

O uso de técnicas que visam reduzir a degradação ruminal são propostas com o intuito de proporcionar maior eficiência na utilização do nitrogênio alimentar, e aumentar o fluxo duodenal de aminoácidos. Dentre as formas de reduzir a degradabilidade ruminal da proteína está o tratamento térmico. O efeito do tratamento térmico durante o processamento dos alimentos está associado à redução da solubilidade da proteína (KAMALAK et al., 2005). Além do mais, o tratamento térmico por tempo ou intensidade excessiva, pode proporcionar diminuição na digestibilidade do nitrogênio (MCNIVEN et al., 2002), ou mesmo destruição de alguns aminoácidos, como a lisina (SCHINGOETHE, 1996). Por isso, pesquisas sobre o uso de componentes naturais de plantas vêm sendo realizadas nos últimos anos com o objetivo de maximizar a eficiência de utilização dos aminoácidos pelos animais.

3.3 Exigências de aminoácidos por bovinos

Por muito tempo, as exigências proteicas para a formulação de rações foram baseadas no teor de PB dos alimentos. No entanto, esta é uma das principais responsáveis pela variabilidade de resultados em desempenho animal, tendo em vista que formulações isoproteicas não se traduzem como o mesmo perfil de aminoácidos, e estes sim são os responsáveis pelo desempenho animal. Além disso, o potencial de produção individual dos animais vem aumentando e torna-se cada vez mais importante levar em consideração não só a quantidade de proteína verdadeira, mas principalmente o perfil de AAE que chega ao intestino para serem absorvidos (SANTOS, 2006). Entretanto, embora os ruminantes necessitem aminoácidos para o metabolismo, formulações de dietas baseadas na composição em aminoácidos são limitadas (ROSSI et al., 2007), pois existe a necessidade de informações adicionais como, o conteúdo de aminoácidos da proteína que chega ao duodeno em relação ao conteúdo de aminoácidos do alimento, e as diferenças na absorção e na utilização metabólica de cada aminoácido (MAIGA et al., 1996).

A eficiente utilização do nitrogênio em animais ruminantes deriva do encontro, mas não excedendo, os requerimentos de nitrogênio pelos microorganismos ruminais e os requerimentos de aminoácidos pelo animal hospedeiro (VANHATALO et al., 2009). Quanto mais semelhante for o perfil dos AAE disponíveis para absorção no intestino delgado da exigência animal, maior será a eficiência do uso dos aminoácidos para síntese proteica e menores as exigências para aminoácidos totais (ALVES, 2004). Entretanto, a oferta dietética de aminoácidos e as exigências dos animais por estes nutrientes são dependentes de vários fatores como, disponibilidade de energia para a síntese de proteína microbiana no rúmen, quantidade de proteína que escapa da degradação ruminal, disponibilidade de energia para o animal, entre outros (FOX e TEDESCHI, 2003).

De acordo com o NRC (2001) existe uma maior dificuldade em atender as exigências por AAE para a produção de leite e crescimento animal que aquelas por AANE. Sendo assim, a eficiência de utilização da proteína metabolizável é determinada, principalmente, pela quantidade e perfil de AAE que chegam ao intestino delgado em relação às exigências (SCHWAB, 1996), de forma que a deficiência de um único AAE na dieta pode limitar o desempenho animal (LÖEST et al., 2001). Esta teoria tem levado muitos pesquisadores a avaliar diferentes condições dietéticas a fim de identificar os AAE limitantes, e desta forma, selecionar fontes proteicas que maximizam a utilização da proteína metabolizável. Porém, é

importante ressaltar que além das amplas modificações que ocorrem no perfil dos aminoácidos ingeridos em relação àqueles disponíveis para absorção no intestino delgado, o sistema visceral pode utilizar grande parte dos aminoácidos absorvidos. E, desta forma, modifica a quantidade e perfil dos aminoácidos disponíveis para a síntese proteica nos tecidos periféricos dependendo da condição dietética a qual o animal está submetido.

A proteína microbiana ruminal é a fonte predominante de aminoácidos para absorção no intestino delgado quando ruminantes recebem dietas com baixa proteína não degradável no rúmen (MERCHEN e TITGEMEYER, 1992). Além disso, possui um perfil de aminoácidos mais semelhante ao do leite e tecido muscular que aqueles da maioria das fontes proteicas utilizadas na alimentação animal (SCHINGOETHE, 1996). Conforme Santos (2006) os aminoácidos mais limitantes da proteína microbiana são os de cadeia ramificada (Leu, Ile e Val). Entretanto, Titgemeyer (2003) afirma que a Met é o aminoácido mais limitante na proteína microbiana para o crescimento de bovinos e ovinos e, conseqüentemente, este tem sido o aminoácido mais estudado. Da mesma forma, Met e Lys são frequentemente considerados os primeiros aminoácidos limitantes (NRC, 2001; SANTOS, 2006; SCHWAB et al., 1992), O'Mara et al. (1997) mencionam que histidina e fenilalanina têm sido citados como os próximos aminoácidos limitantes para a produção de leite e de carne na maioria das rações utilizadas para vacas de alta produção e bovinos em crescimento. Richardson e Hatfield (1978) demonstraram que Met, Lys e Thr foram os aminoácidos limitantes quando a proteína microbiana ruminal foi a fonte predominante de aminoácidos para novilhos em crescimento.

Schwab (1996) explica que Lys e Met são, geralmente, os dois primeiros aminoácidos limitantes quando vacas em lactação são alimentadas com dietas convencionais (a base de produtos do milho) pelos seguintes fatores: 1) Met e Lys são os primeiros aminoácidos limitantes na proteína microbiana para bovinos em crescimento; 2) a maioria dos alimentos proteicos tem uma quantidade menor de Lys e Met, relativa ao total de AAE, do que a proteína microbiana sintetizada no rúmen; 3) a contribuição de Lys para o total de AAE na PNDR frequentemente é menor do que no mesmo alimento antes da exposição à fermentação ruminal; 4) e a Lys, devido a sua cadeia lateral, provavelmente tem uma menor digestibilidade intestinal que os outros AAE da PNDR.

Conforme o NRC (2001) a máxima eficiência da proteína metabolizável para manutenção e lactação ocorre quando as concentrações de Lys e Met são de 7,2 e 2,4% da proteína metabolizável, respectivamente, ou quando a relação entre esses aminoácidos é de 3:1. Esta relação considera as proporções de Lys e Met no tecido muscular e no leite como

padrão e, neste sentido, o trabalho de Schwab (1996) aponta a proteína bacteriana com uma relação Lys:Met bastante similar àquela encontrada no tecido muscular e no leite.

Schwab (1996) comparou três métodos de determinação das exigências de aminoácidos e concluiu que eles fornecem resultados similares e que as porcentagens de Lys e Met na digesta duodenal para maximizar a produção e o teor de proteína no leite seriam de 15 e 5%, respectivamente, em relação ao total de AAE, quando se utilizam dietas convencionais. Esse mesmo autor concluiu que o balanceamento de rações utilizando aminoácidos absorvidos no intestino delgado pode reduzir a quantidade de PNDR nas rações, permitindo mais espaço nas mesmas para atender outros nutrientes, tais como carboidratos fermentáveis no rúmen. No entanto, estas recomendações são adequadas quando os animais consomem dietas a base de produtos do milho. Em outras condições dietéticas, Lys e Met podem apresentar-se com uma relação mais próxima da ideal na proteína metabolizável, e outros aminoácidos podem ser os primeiros aminoácidos limitantes. Esta relação entre Lys e Met só garante que não haverá o desbalanceamento entre estes dois aminoácidos, mas não leva em consideração a relação dos outros. Portanto, cada situação dietética é particular e deve ser avaliada separadamente.

Contudo, quando se desejam elevados níveis de produção, aumentam as necessidades proteicas, e o fluxo duodenal de aminoácidos da proteína microbiana pode não ser adequado para um máximo desempenho. Porém, a disponibilidade de aminoácidos pode ser aumentada pelo aumento do consumo de alimentos, otimizando a fermentação ruminal e o crescimento microbiano, e que parte da proteína suplementar ou aminoácidos da dieta escapem da fermentação ruminal e passem para o intestino delgado para digestão e absorção (CLARK et al., 1992). Porém, os aminoácidos dietéticos que escapam da fermentação ruminal devem complementar o perfil de aminoácidos da proteína microbiana. Conforme Volden (1999) a inclusão de PNDR na dieta além de aumentar a oferta de aminoácidos totais para o intestino delgado também pode modificar o perfil de aminoácidos da proteína metabolizável. Ao contrário da proteína microbiana, existem grandes diferenças no perfil de aminoácidos da PNDR, além de grandes variações na digestibilidade entre alimentos e em um mesmo alimento (SCHWAB, 1996).

Quando os aminoácidos são absorvidos no perfil correto (i.e., todos são igualmente limitantes) a eficiência de uso deles para a síntese proteica é maximizada. Porém, quando os aminoácidos não são absorvidos no perfil ideal o processo de síntese proteica torna-se menos eficiente. Neste caso, o aminoácido limitante, ou seja, aquele que está em menor proporção em relação à exigência determina a extensão da síntese proteica (SCHWAB, 1996).

3.4 Suplementos proteicos

O fornecimento de alimentos suplementares é usualmente necessário para alcançar níveis de produção mais elevados por ruminantes alimentados basicamente com forragens (HENTZ et al., 2012). Embora, dietas com altos níveis de PDR podem estimular o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, o fluxo total de aminoácidos pode ser insuficiente para animais de alto potencial produtivo devido à extensiva degradação ruminal das proteínas dos alimentos (CECAVA e PARKER, 1993). Desta forma, as dietas devem ser formuladas para conter suplementos proteicos com um maior percentual de PNDR, desde que, a síntese de proteína microbiana ruminal não seja prejudicada. Quanto à qualidade dos suplementos proteicos, Schingoethe (1996) indica que a mistura de fontes proteicas tende melhorar o balanço de aminoácidos das dietas. Por exemplo, a mistura tradicional de milho, o qual é deficiente em Lys, e farelo de soja, o qual é deficiente em Met, resulta em um balanço de aminoácidos relativamente adequado.

Comparada com a maioria dos alimentos proteicos disponíveis, a proteína microbiana é uma boa fonte de lisina e metionina, mas não de histidina (KORHONEN et al., 2002; SCHINGOETHE, 1996). No entanto, o farelo de soja pode complementar as ofertas de histidina e lisina, mas tem uma baixa concentração de metionina. De acordo com ALVES (2004) a qualidade das fontes proteicas está relacionada ao teor, e principalmente, ao balanço de AAE, especialmente lisina e metionina, que são os dois aminoácidos mais limitantes à produção de leite em dietas com alta proporção de milho. Conforme o NRC (2001) o farelo de canola possui 13,20% e 4,29% de lisina e metionina, respectivamente, enquanto o farelo de soja apresenta 13,89% e 3,18% de lisina e metionina, respectivamente, no total de AAE.

O triptofano também parece ser um aminoácido limitante em muitos suplementos proteicos, porém, a proteína microbiana parece ser uma boa fonte deste aminoácido. Devido à dificuldade para analisar este nutriente, o triptofano não tem sido avaliado em muitos estudos, mas a sua omissão não indica, necessariamente, uma menor importância (SCHINGOETHE, 1996).

No Brasil, o uso de subprodutos da extração do óleo da semente de oleaginosas como alimento para animais de produção, tal como o farelo de canola tem aumentado grandemente. Apesar de possuir um excelente perfil de aminoácidos que pode estimular o crescimento microbiano no rúmen (PIEPENBRINK e SCHINGOETHE, 1998), o farelo de canola é uma fonte pobre de aminoácidos metabolizáveis, pois é extensivamente degradado no rúmen

(GOZHO et al., 2009). Esta alta degradabilidade ruminal da PB tem levado pesquisadores a processar o farelo de canola. Esse processamento tem como objetivo minimizar a excessiva liberação de amônia no rúmen, e aumentar a oferta intestinal de aminoácidos para a síntese do leite e crescimento muscular.

Quando comparado com outras fontes proteicas tais como farinha de sangue, farelo de glúten de milho, e farinha de peixe, o farelo de canola tem um mais completo perfil de aminoácidos para suprir as exigências para síntese da proteína do leite (PIEPENBRINK e SCHINGOETHE, 1998). Além disso, os trabalhos de Brito e Broderick (2007) e Maesoomi et al. (2006) indicam que a inclusão de farelo de canola na dieta aos níveis de 14,3 a 16,1% da MS aumenta o consumo de alimentos, a digestibilidade e a eficiência de uso do nitrogênio por vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de alfafa e/ou silagem de milho.

Embora a proteína da soja seja uma boa fonte de lisina e histidina digestível, ela é baixa em metionina (1,44% da PB) e pode ser extensivamente degradada pelos microorganismos ruminais (NRC, 2001). No entanto, isso pode comprometer o valor quantitativo e qualitativo de AAE da proteína metabolizável (EL-WAZIRY et al., 2007). Esta limitação motivou o desenvolvimento de muitos métodos para diminuir a degradabilidade ruminal da proteína do farelo de soja. Alguns dos mais eficientes métodos para este propósito envolvem o uso controlado de calor ou tratamento químico. Entretanto, dos métodos que envolvem o uso de calor, na maior parte deles, pode ocorrer a reação de Maillard (VAN SOEST, 1994) afetando negativamente a digestão tanto a nível ruminal como, também, ao longo de todo o trato digestório dos animais.

Khorasani et al. (1990) ao avaliarem a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja e do farelo de canola observaram um mais alto valor nutricional para a proteína do farelo de soja para bovinos em crescimento. Borucki Castro et al. (2007), observaram que o tratamento do farelo de soja por métodos químicos ou pelo calor protegeu a PB e os AAE da degradação ruminal, aumentando a PNDR de 42 para 68%. Entretanto, Mabweesh et al. (1996) verificaram que o tratamento do farelo de soja com o calor reduziu a disponibilidade de muitos AAE para absorção no intestino delgado por 2,3% comparado com aqueles do farelo de soja não aquecido, sendo que a maior redução ocorreu para a metionina (20%). El-Waziry et al. (2007) ao avaliarem a inclusão de extrato tanífero de quebracho (*Schinopsis* spp.) no farelo de soja, usando uma técnica de produção de gases *in vitro*, observaram que foi reduzida a degradação da proteína e a cinética de produção de gases, e recomendam a inclusão de 1% do aditivo sobre o farelo de soja.

3.5 Fluxo duodenal de aminoácidos

A primeira medida da oferta de aminoácidos para o ruminante é o fluxo da proteína metabolizável que entra no intestino delgado. Esta medida é realizada através da implantação de uma cânula no duodeno proximal, com a capacidade de obter amostras representativas com uma boa estimativa do fluxo de matéria seca (LAPIERRE et al., 2006). Além disso, a quantidade e o perfil de aminoácidos que passam para o intestino delgado são determinados pela quantidade e composição de cada uma das frações que compõem a proteína metabolizável. Embora a contribuição dos aminoácidos de origem endógena para a proteína metabolizável seja menor, porém bastante variável, é importante conhecer sua composição. Nesse sentido, Mukkur et al. (1985 apud BEQUETTE et al., 2003) verificaram que nas secreções do intestino delgado de ovinos predominam mucopolissacarídeos, os quais são ricos em treonina e valina.

Os aminoácidos microbianos, geralmente, correspondem a 50% ou mais do fluxo pós ruminal total de aminoácidos, e a composição da proteína microbiana é considerada relativamente constante e não influenciada pelas mudanças dietéticas, apresentando uma alta qualidade de aminoácidos absorvíveis (SCHWAB, 1996). Conforme Clark et al. (1992) a contribuição de cada fração para o fluxo total de aminoácidos é diretamente relacionada com a composição da dieta e consumo de matéria seca, e varia muito, com a fração proteína microbiana normalmente ofertando a maior parte das proteínas. Merchen et al. (1986) verificaram que os perfis de aminoácidos da digesta duodenal foram similares independentemente da dieta. Provavelmente porque, entre os tratamentos, o nitrogênio bacteriano compreendeu aproximadamente 60% do nitrogênio não amoniacal total no duodeno.

Considerando que a composição aminoacídica da proteína microbiana é constante e não depende da dieta, a variação na composição de aminoácidos da digesta duodenal se deve à variação na composição e na quantidade de proteína que escapa da degradação ruminal (ERASMUS et al., 1994; VOLDEN, 1999). Por sua vez, o conhecimento da composição de aminoácidos da PNDR pode auxiliar na formulação de dietas para fornecer aminoácidos que complementam a proteína microbiana ruminal, bem como a oferta de aminoácidos para a produção de leite (PIEPENBRINK e SCHINGOETHE, 1998) ou crescimento muscular. Em vacas de alta produção a proteína dietética que escapa do rúmen geralmente contribui entre 30 e 50% da proteína total que entra no intestino delgado (ROBINSON et al., 1999), podendo

alterar significativamente o perfil de aminoácidos da digesta duodenal. Além das características físico-químicas da fração proteica da dieta Mupangwa et al. (2003) atribuem esta variação na passagem de aminoácidos para o intestino, também, a diferentes taxas de passagem da digesta.

Um método proposto por Schingoethe (1996) assume que a composição de aminoácidos da proteína do leite é ideal para balancear dietas para vacas de alta produção através do “escore da proteína do leite” (i.e., relacionar o conteúdo do aminoácido mais limitante na dieta com aquele aminoácido no leite). Porém uma maior aproximação da exigência animal pode ser obtida se este escore for calculado levando em consideração o perfil de aminoácidos da proteína metabolizável, em vez da dieta.

3.6 Uso do tanino como modulador da degradação proteica no rúmen

Em muitos sistemas de produção e práticas de alimentação, a ingestão de PDR excede as exigências dos microorganismos ruminais e alta proporção do nitrogênio do alimento é perdida como amônia, que é absorvida no rúmen e excretada como ureia na urina (KOZLOSKI e HENTZ, 2011). Desse modo, o desempenho animal pode ser comprometido devido à limitada oferta de proteína metabolizável. Porém, o uso de taninos pode ser uma alternativa para melhorar o desempenho de ruminantes e reduzir a excreção de compostos nitrogenados pelos animais e, desta forma, minimizar parte dos impactos ambientais causados pelo sistema de produção.

Os taninos são compostos polifenólicos de alto peso molecular (i.e., >3000 Da) (RUBANZA, 2005) e solúveis em água que se complexam, principalmente, com a proteína dietética e enzimas microbianas apresentando um potencial para reduzir as concentrações ruminais de amônia e aumentar o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado. No entanto, eles podem reduzir o consumo e a digestibilidade dos alimentos (MAKKAR, 2003). Existem dois tipos de taninos, os hidrolisáveis e os taninos condensados (EL-WAZIRY et al., 2007). Taninos hidrolisáveis são mais solúveis em água e usualmente consistem de um núcleo poliol (como a glicose), parcialmente ou totalmente esterificado à ácido gálico ou ácido elágico, os quais são suscetíveis à hidrólise enzimática. Taninos condensados são polímeros de unidades flavan-3-ol (proantocianidinas) ligados por pontes carbono-carbono que não são suscetíveis à degradação enzimática anaeróbica (WAGHORN, 2007).

Os taninos podem complexar muitos outros substratos incluindo celulose, lipídios, ácidos nucleicos e aminoácidos, tornando estes substratos resistentes ao ataque microbiano (O'DONOVAN e BROOKER, 2001). Porém, o maior benefício dos taninos na alimentação dos ruminantes parece ser a proteção das proteínas da degradação ruminal, e o subsequente lançamento delas como proteínas disponíveis para a digestão e utilização pelo animal. No rúmen estes complexos são considerados estáveis, mas eles podem se dissociar após o rúmen em resposta ao baixo pH no abomaso, bem como o alto pH no intestino delgado (ANDRABI et al., 2005). Segundo Reed (1995) os taninos em baixas a moderadas concentrações podem ter efeitos positivos quando associados a dietas com altos teores de proteína degradável, diminuindo as perdas de nitrogênio na forma de amônia sem afetar negativamente o crescimento microbiano e a digestibilidade da fibra no rúmen e, conseqüentemente, aumentando o fluxo de aminoácidos para o duodeno.

Alguns estudos relatados por O'donovan e Brooker (2001) têm sugerido que a presença de menos que 6% de tanino condensado (% na MS) na dieta de ruminantes pode resultar em um melhor desempenho, pois menos nitrogênio é perdido na forma de amônia durante a fermentação ruminal. Portanto, mais proteína passa para o abomaso e intestino delgado, onde a dissociação dos complexos tanino-proteína pode ocorrer. Conforme Min et al. (2003) médias concentrações de taninos condensados em *L. corniculatus* (em torno de 5% da MS), podem diminuir a atividade das bactérias proteolíticas e aumentar o fluxo de nitrogênio não amoniacal para o abomaso, resultando em um aumento no desempenho animal, e assim, reduzir as perdas de nitrogênio na forma de amônia. Min et al. (2006) observaram que níveis moderados de taninos condensados (2 à 4% MS) reduzem a degradação ruminal da proteína, e a atividade bacteriana pela formação de ligações pH-reversíveis com proteínas solúveis e outros macronutrientes. Barry e McNabb, (1999) revisando a literatura descrevem que baixas concentrações de taninos condensados na dieta aumentam o fluxo de nitrogênio não amoniacal para o intestino delgado, podem aumentar a absorção aparente de AAE e, conseqüentemente, aumentar a produtividade de ovinos.

Resultados de vários estudos (BEAUCHEMIN et al., 2007; BENCHAAAR et al., 2008; CARULLA et al., 2005) mostram a dificuldade em selecionar concentrações de taninos condensados para influenciar positivamente o metabolismo ruminal da proteína sem impor uma resposta negativa na digestibilidade total da dieta. Clark et al. (1992) mostraram que o fluxo de nitrogênio microbiano para o intestino delgado aumentou com o consumo de matéria orgânica e da matéria orgânica degradada no rúmen. Entretanto, é fundamental que o efeito dos taninos sobre o processo fermentativo ruminal não possibilite uma redução no consumo e

degradabilidade ruminal da matéria orgânica da dieta, causando uma redução na oferta de energia metabolizável e na oferta de proteína microbiana no intestino delgado.

Algumas pesquisas (THEODORIDOU et al., 2010; WAGHORN et al., 1987) publicadas a cerca do efeito dos taninos sobre o consumo, digestão e desempenho animal foram conduzidas com forrageiras leguminosas temperadas ou tropicais, as quais têm taninos como um componente natural, e têm focado sobre o efeito dos taninos condensados. O impacto, embora não os mecanismos, dos taninos condensados sobre a nutrição de ruminantes é relativamente conhecido. Em geral, a estrutura química, concentração e efeitos biológicos dos taninos condensados são amplamente variáveis dentro e entre espécies forrageiras, o qual dificulta a manipulação dietética destes compostos (KOZLOSKI e HENTZ, 2011). Entretanto, uma fonte concentrada de taninos condensados pode ser uma possível alternativa para aproximar-se aos resultados de melhor desempenho obtidos com animais alimentados com forrageiras ricas em taninos (BEAUCHEMIN et al., 2007). Sendo assim, o extrato tanífero vegetal, como de *Acacia mearnsii* é amplamente disponível e poderia ser utilizado como aditivo alimentar para modular a fermentação ruminal.

3.7 Extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na alimentação de ruminantes

Grainger et al. (2009) ao testar extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (com 0,603g/kg de tanino condensado) nas doses de 0,9% e 1,5% de tanino condensado do consumo de MS estimado em vacas leiteiras sob pastejo em azevém e suplementadas com triticale, observaram uma significativa redução na emissão de metano e na excreção de nitrogênio na urina e no leite, no entanto provocou diminuição na produção de leite. Isto, provavelmente, ocorreu devido aos efeitos combinados de redução do consumo de alimentos e redução da digestibilidade das frações proteicas e energética. Neste estudo a digestibilidade do nitrogênio reduziu de 71 para 59% pela inclusão de 0,9%, e para 50% pela inclusão de 1,5% de taninos condensados na dieta.

Carulla et al. (2005) observaram que suplementando cordeiros alimentados com azevém com extrato tanífero de *Acacia mearnsii* reduziu o consumo de forragem e a digestibilidade da matéria orgânica no trato total. Contudo, devido à redução na emissão de metano e excreção de nitrogênio urinário, ocorreu maior retenção de nitrogênio sem afetar a retenção de energia. Embora estes resultados indiquem um potencial positivo para uso deste

extrato como um aditivo alimentar, somente um nível de suplementação (41 g/kg MS) foi testado e o fluxo duodenal de digesta não foi avaliado. Entretanto, Kozloski et al. (2012) ao ofertarem azevém *ad libitum* para ovinos e infundir extrato tanífero de *Acacia mearnsii* intraruminalmente nas quantidades de 20, 40 ou 60 g/kg do consumo de MS, observaram que o consumo de matéria orgânica digestível diminuiu, enquanto que o fluxo de N α -amino manteve-se inalterado.

Os resultados de pesquisa não são conclusivos e muitas vezes controversos com relação ao real efeito da inclusão do extrato tanífero na dieta, restando este assunto como objeto de pesquisa. Contudo, se o perfil e o fluxo duodenal de aminoácidos são positivamente alterados ou não pela presença do extrato tanífero, sem afetar negativamente a oferta de energia para ruminantes, ainda precisa ser avaliado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e época

Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade *in vivo* com bovinos nas instalações do Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. O ensaio 1 foi conduzido no período de julho a novembro de 2010 e o ensaio 2 no período de junho a agosto de 2011.

4.2 Ensaio 1 – Níveis de tanino

4.2.1 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. Quatro bovinos machos castrados da raça Holandês (158 ± 30 kg de peso corporal (PC)), implantados cirurgicamente com cânula em forma de “T” no duodeno proximal, foram utilizados em um delineamento Quadrado Latino 4×4 para avaliar o efeito de níveis de inclusão do extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta sobre o fluxo e o perfil de aminoácidos no duodeno.

As dietas experimentais foram constituídas de Aveia Preta (*Avena strigosa* Schreb) fresca em estágio vegetativo e suplementação com concentrado. O concentrado foi composto por farelo de soja, milho moído e farelo de arroz desengordurado, sem inclusão de extrato tanífero (0) ou com 2, 4 ou 6% (base MS) de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Weibull Black, Tanac S. A., Montenegro, Brasil). O extrato tanífero utilizado pertencia ao mesmo lote do extrato tanífero utilizado por Kozloski et al. (2012), o qual foi analisado utilizando os procedimentos descritos por Makkar (2000) e indicou níveis de 716 ± 61 , 694 ± 52 e 156 ± 11 g/kg de MS de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados, respectivamente. A composição química dos alimentos e a proporção dos ingredientes nos concentrados são

apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Composição química¹ dos alimentos e proporção dos ingredientes nos concentrados

Item	Aveia Preta	Concentrados ²			
		0	2	4	6
MS (%)	11,2	86,3	86,6	86,4	86,5
Composição (% da MS)					
MO	87,5	91,3	91,3	91,2	91,2
N total	2,77	3,24	3,17	3,11	3,04
FDN	47,7	25,4	24,9	24,4	23,9
FDA	28,5	10,7	10,5	10,3	10,1
CNF	21,6	46,4	45,5	44,5	43,6
EE	4,90	2,60	2,55	2,50	2,44
Ingredientes (% da MS)					
Farelo de Soja	–	30,0	29,4	28,8	28,2
Farelo de Arroz Desengordurado	–	35,0	34,3	33,6	32,9
Milho moído	–	35,0	34,3	33,6	32,9
Extrato Tanífero	–	–	2,00	4,00	6,00

¹MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; N total= nitrogênio total; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; CNF= carboidratos não fibrosos, EE= extrato etéreo

²0, 2, 4, 6= percentagem de inclusão do extrato tanífero no concentrado

A oferta de alimento foi restrita a 2% do PC, sendo que o concentrado representou aproximadamente 45% (base MS) da oferta total da dieta. Como o concentrado representou 45% da dieta, os níveis de inclusão de 2, 4, ou 6% do extrato tanífero no concentrado representaram uma concentração de 0,9, 1,8 e 2,7%, respectivamente, de extrato tanífero em relação ao total de MS ofertada aos animais.

4.2.2 Condução do experimento

Após a cirurgia de implantação da cânula no duodeno e recuperação do procedimento cirúrgico, os animais foram alojados em baias de metabolismo providas de cochos para volumoso, concentrado, sal mineral e bebedouro com água permanentemente disponível, onde permaneceram durante todo o experimento. Antes da fase experimental os animais passaram por um período pré-experimental de duas semanas para adaptação às instalações, sistema de alimentação, manejo e tratamento contra endo e ectoparasitas. Posteriormente, o experimento foi conduzido em quatro períodos de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação às dietas e cinco dias de coleta de amostras.

A aveia necessária para conduzir todo o experimento foi cortada a 5 cm acima do nível do solo quando atingiu uma altura média de 30 cm e armazenada em câmara de congelamento à -20 °C até seu fornecimento aos animais em cada período experimental. O volumoso foi ofertado separadamente do concentrado, duas vezes ao dia, às 08 h e 17 h, e o concentrado ofertado três vezes ao dia, às 08 h, 12 h 30 min. e 17 h. Sal mineral contendo (g/kg): Ca: 165 g, P: 73 g, Na: 117 g, Mg: 15 g, Mn: 1,5 g, Zn: 3,0 g, Fe: 2,0 g, Cu: 0,65 g, Co: 0,025 g, I: 0,04 g, Se: 0,01 g, F: 0,74 g, foi oferecido em cocho separado à vontade.

4.3 Ensaio 2 – Inclusão de tanino × fonte proteica

4.3.1 Animais, dietas e delineamento experimental

O protocolo de pesquisa deste ensaio também seguiu as diretrizes recomendadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria. Quatro bovinos machos castrados da raça Holandês (297 ± 56 kg de PC), implantados cirurgicamente com cânula em forma de “T” no duodeno proximal, foram utilizados em um delineamento Quadrado Latino 4×4 para avaliar o fluxo e o perfil de aminoácidos no duodeno.

As dietas experimentais foram constituídas de silagem de milho e concentrado. Os concentrados foram formulados para serem isonitrogenados, sendo compostos por milho moído, farelo de trigo e farelo de soja ou farelo de canola, sem inclusão de extrato tanífero (0)

ou com 5% (base MS) de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Weibull Black, Tanac S. A., Montenegro, Brasil). O extrato tanífero utilizado foi o mesmo para o ensaio 1, atendendo a composição química descrita por Kozloski et al. (2012) (716 ± 61 , 694 ± 52 e 156 ± 11 g/kg de MS de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados, respectivamente). A composição química dos alimentos e a proporção dos ingredientes nos concentrados são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 – Composição química¹ dos alimentos e proporção dos ingredientes nos concentrados²

Item	Silagem de milho	FC		FS	
		0	5	0	5
MS (%)	33,9	89,8	89,9	89,6	87,7
Composição (% da MS)					
MO	94,8	95,2	95,2	95,9	94,8
N total	1,25	4,29	4,26	4,22	4,26
FDN	48,0	25,6	25,1	23,4	21,8
FDA	26,0	12,6	10,1	7,2	6,8
CNF	36,6	41,7	43,3	44,8	45,2
EE	3,68	4,39	4,05	3,75	3,55
Ingredientes (% da MS)					
Farelo de Soja	–	–	–	34,72	35,95
Farelo de Canola	–	45,45	47,5	–	–
Milho moído	–	27,27	23,75	32,64	29,52
Farelo de Trigo	–	27,27	23,75	32,64	29,52
Extrato Tanífero	–	–	5,00	–	5,00

¹MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; N total= nitrogênio total; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; CNF= carboidratos não fibrosos, EE= extrato etéreo

²FC= 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

Para assegurar que os animais ingerissem toda a ração a oferta de alimento foi restrita a 2,5% do PC, sendo que o concentrado representou 30% (base MS) da oferta total da dieta. Como o concentrado representou 30% da dieta, o nível de inclusão de 5% do extrato tanífero no concentrado representou uma concentração de 1,5% de extrato tanífero em relação ao total de MS ofertada aos animais.

4.3.2 Condução do experimento

Os animais foram alojados em baias de metabolismo providas de cocho para volumoso e concentrado, cocho para sal mineral e bebedouro com água permanentemente disponível, onde permaneceram durante todo o experimento. Antes da fase experimental os animais passaram por um período pré-experimental de duas semanas para adaptação às instalações, sistema de alimentação, manejo e tratamento contra endo e ectoparasitas. Posteriormente, o experimento foi conduzido em quatro períodos de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação às dietas e cinco dias de coleta de amostras.

A silagem de planta inteira foi confeccionada em silo de superfície, utilizando o híbrido de milho Pioneer[®] 30F53. As plantas foram colhidas quando os grãos estavam no ponto farináceo-duro. A abertura do silo foi realizada 30 dias após o fechamento. O volumoso e o concentrado foram ofertados na forma de ração totalmente misturada, duas vezes ao dia, às 08 h e 17 h, na proporção 70:30 de volumoso e concentrado, respectivamente. Sal mineral contendo (g/kg): Ca: 165 g, P: 73 g, Na: 117 g, Mg: 15 g, Mn: 1,5 g, Zn: 3,0 g, Fe: 2,0 g, Cu: 0,65 g, Co: 0,025 g, I: 0,04 g, Se: 0,01 g, F: 0,74 g, foi oferecido em cocho separado à vontade.

4.4 Coletas de amostras

Os alimentos ofertados foram pesados e amostrados diariamente do 10^o ao 15^o dia de cada período experimental. O total de fezes foi coletado diariamente ao longo do período de coletas e armazenadas a -20 °C. Ao final de cada período experimental as fezes foram descongeladas, pesadas, homogeneizadas e uma amostra (5% da produção total) de cada animal foi coletada. As amostras dos alimentos e das fezes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 55 °C durante pelo menos 72 horas, moídas através de peneira de 1mm (moinho Willey, Arthur H. Thomas, Filadélfia, PA, EUA) e armazenadas para posterior análise.

Entre o 11^o e 14^o dia de cada período foram coletadas amostras de digesta duodenal (aproximadamente 200 mL). As coletas foram realizadas três vezes ao dia a 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 foram compostas por animal e período e armazenadas congeladas (-20 °C). Ao final de cada período foram descongeladas em temperatura ambiente, pesadas e secas em estufa com circulação forçada de ar (55 °C) durante pelo menos 7 dias, moídas através de peneira de 1mm e armazenadas para posterior análise.

4.5 Análises químicas

O teor de matéria seca (MS) das amostras foi determinado por secagem em estufa a 105 °C durante pelo menos 8 horas. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600 °C durante 4 horas e a matéria orgânica (MO) por diferença de massa. O nitrogênio total (N) foi determinado pelo método Kjeldahl (Método 984.13; AOAC, 1997). A análise de fibra em detergente neutro (FDN) foi baseada nos procedimentos descritos por Mertens (2002) com uso de α -amilase termoestável, exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos filtro de poliéster (porosidade de 16 μ m) e tratadas com detergente neutro em autoclave a 110 °C por 40 minutos (SENGER et al., 2008). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) foram analisadas de acordo com o Método 973.18 da AOAC (1997), exceto que as amostras foram pesadas dentro de sacos filtro de poliéster (porosidade de 16 μ m) e tratadas com detergente ácido em autoclave a 110 °C por 40 minutos (SENGER et al., 2008). O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) foi determinado de acordo com Licitra et al. (1996). Os teores de extrato etéreo (EE) foram obtidos por extração com éter etílico em um sistema de refluxo a 180 °C durante 2 horas (Soxtherm, Gerhardt).

As concentrações de aminoácidos nas amostras de alimentos e digesta duodenal foram analisadas no Laboratório de Análises Micotoxicológicas pertencente ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria. As proteínas constituintes destas amostras foram hidrolisadas com HCl 6 N durante 24 horas a 110 °C. Os aminoácidos liberados durante a hidrólise ácida foram reagidos com Fenilisotilcianato (PITC), separados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em fase reversa, utilizando detector Ultravioleta (UV) a 254 nm. A quantificação foi feita por calibração interna multinível, com auxílio do Ácido α -aminobutírico (AAAB) como padrão interno. As concentrações de Triptofano não foram determinadas.

4.6 Cálculos

4.6.1 Fluxo duodenal de MS e aminoácidos

O fluxo de MS no duodeno foi estimado com base na excreção fecal e na concentração de FDA na digesta duodenal, da seguinte forma:

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

O fluxo duodenal de aminoácidos foi calculado com base no fluxo duodenal de MS e na percentagem de cada aminoácido na digesta duodenal, da seguinte forma:

$$\text{Aminoácido (g/dia)} = (\text{MS duodenal (g/dia)} \times \text{Aminoácido (\% da MS)}) / 100$$

O perfil de aminoácidos (AA) na digesta duodenal foi calculado com base no fluxo duodenal (g/dia) de cada aminoácido e o fluxo duodenal (g/dia) do total de aminoácidos, da seguinte forma:

$$\text{Perfil de AA (\%)} = (\text{Fluxo duodenal do AA (g/dia)} / \text{Fluxo de AA totais (g/dia)}) \times 100$$

4.6.2 Carboidratos não fibrosos

O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) das amostras dos alimentos foi calculado de acordo com Van Soest et al. (1991), sendo:

$$\text{CNF} = \text{MO} - ((\text{N} \times 6,25) + \text{EE} + (\text{FDN} - (\text{NIDN} \times 6,25)))$$

4.7 Perfil de aminoácidos para síntese proteica

A fim de realizar a comparação entre os perfis de aminoácidos essenciais do tecido muscular e do leite bovino, foram coletados dados da literatura (AINSLIE et al., 1993 e MARINO et al., 2010, respectivamente) e estes dados comparados com os perfis de aminoácidos essenciais das digestas duodenal dos animais dos ensaios 1 e 2. Esta comparação teve como objetivo avaliar a proximidade entre o perfil de aminoácidos essenciais disponível para absorção no intestino delgado daquele utilizado na síntese proteica e avaliar se a inclusão de tanino na dieta pode melhorar ou não esta relação.

4.8 Análises estatísticas

4.8.1 Ensaio 1 – Níveis de tanino

Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (2009) de acordo com o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente

μ = média das observações

A_i = efeito aleatório dos animais

P_j = efeito aleatório dos períodos

T_k = efeito fixo dos tratamentos

e_{ijk} = erro residual

O tratamento controle foi comparado com os demais através de uma análise de contrastes e o efeito de todos os tratamentos foi analisado por regressão simples, incluindo os efeitos linear e quadrático. As relações entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal e as relações entre o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal e o perfil de aminoácidos essenciais do leite e do tecido muscular foram

analisadas por regressão simples utilizando um modelo linear. Em cada comparação foi gerado um coeficiente de determinação (r^2) que indicou o grau de precisão da relação entre as duas medidas. Foi testado se o intercepto foi diferente de zero e se o coeficiente de regressão foi diferente de 1 utilizando o teste “t” de Student. Os resultados foram apresentados como médias ajustadas (LSMEANS) e EPM (Erro Padrão das Médias). Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativos.

4.8.2 Ensaio 2 – Inclusão de tanino \times fonte proteica

Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (2009) de acordo com o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + F_k + T_l + (F \times T)_{kl} + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente

μ = média das observações

A_i = efeito aleatório dos animais

P_j = efeito aleatório dos períodos

F_k = efeito de fonte proteica

T_l = efeito da inclusão de extrato tanífero

$(N \times T)_{kl}$ = efeito da interação fonte proteica \times extrato tanífero

e_{ijkl} = erro residual

Após submeter os dados à análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste “t” de Student a 5% de probabilidade do erro Tipo I. Neste ensaio, as relações entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal e as relações entre o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal e o perfil de aminoácidos essenciais do leite e do tecido muscular também foram analisadas por regressão simples utilizando um modelo linear. Em cada comparação foi gerado um coeficiente de determinação (r^2) que indicou o grau de precisão da relação entre as duas medidas. Foi testado se o intercepto foi diferente de zero e se o coeficiente de regressão foi diferente de 1 utilizando o teste “t” de Student. Os resultados foram apresentados como médias ajustadas (LSMEANS) e EPM (Erro Padrão das Médias). Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Ensaio 1 – Níveis de tanino

Não foram detectados efeitos linear e quadrático pela inclusão de 0, 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero na dieta de novilhos no ensaio 1 sobre os parâmetros de fluxo duodenal de aminoácidos (gramas/dia) e perfil de aminoácidos na digesta (% dos aminoácidos totais), de modo que estes efeitos não estão expressos nas tabelas de resultados.

5.1.1 Consumo de aminoácidos

Os valores médios de consumo em gramas e do consumo como uma percentagem do total de aminoácidos e dos grupos de aminoácidos são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(continua)

Aminoácido	Tratamentos			
	0	0,9	1,8	2,7
Ala	22,6	23,2	22,9	22,2
Arg	40,3	40,8	40,4	38,8
Asp	53,3	54,8	54,4	52,2
Cys	8,36	8,35	8,36	7,99
Glu	70,9	72,8	72,1	69,4
Gly	36,9	37,5	37,1	35,7
His	11,6	11,8	11,6	11,3
Ile	14,0	14,2	14,1	13,7
Leu	23,4	23,8	23,5	22,6
Lys	32,6	33,1	32,7	31,5
Met	9,00	9,25	9,06	8,79
Phe	29,0	29,4	29,1	28,0

Tabela 3 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(conclusão)

Aminoácido	Tratamentos			
	0	0,9	1,8	2,7
Pro	40,4	40,8	40,5	38,9
Ser	25,3	26,0	25,7	24,8
Thr	23,8	24,3	24,1	23,2
Tyr	43,3	43,8	43,3	41,8
Val	21,6	22,0	21,8	20,8
AAE ¹	205	209	206	199
AANE ²	301	307	304	293
AACR ³	59,0	60,0	59,3	57,0
AAG ⁴	341	347	344	331
AAC ⁵	56,0	56,9	56,2	54,1
AAGC ⁶	111	112	111	107
AAT ⁷	506	516	511	492

¹AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

²AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

³AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁴AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁵AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁶AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

⁷AAT= Aminoácidos totais (AAE + AANE)

Tabela 4 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(continua)

Aminoácido	Tratamentos			
	0	0,9	1,8	2,7
Ala	4,47	4,49	4,49	4,52
Arg	7,97	7,92	7,93	7,89
Asp	10,6	10,6	10,6	10,7
Cys	1,65	1,63	1,64	1,62
Glu	14,0	14,1	14,1	14,2
Gly	7,29	7,27	7,27	7,26
His	2,31	2,29	2,28	2,29
Ile	2,77	2,76	2,75	2,77
Leu	4,62	4,62	4,60	4,60

Tabela 4 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(conclusão)

Aminoácido	Tratamentos			
	0	0,9	1,8	2,7
Lys	6,44	6,43	6,41	6,40
Met	1,78	1,79	1,78	1,79
Phe	5,71	5,70	5,71	5,69
Pro	7,98	7,93	7,94	7,90
Ser	4,99	5,02	5,02	5,06
Thr	4,70	4,71	4,72	4,72
Tyr	8,55	8,51	8,49	8,49
Val	4,26	4,26	4,27	4,23
AAE ¹	40,6	40,5	40,4	40,4
AANE ²	59,5	59,5	59,6	59,6
AACR ³	11,7	11,7	11,6	11,6
AAG ⁴	67,2	67,3	67,4	67,4
AAC ⁵	11,1	11,1	11,0	11,0
AAGC ⁶	21,7	21,7	21,7	21,7

¹AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

²AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

³AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁴AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁵AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁶AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

5.1.2 Fluxo duodenal de aminoácidos

Os valores médios de fluxo duodenal dos aminoácidos individuais e dos grupos de aminoácidos, bem como o perfil de aminoácidos da digesta duodenal são apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Fluxo duodenal de aminoácidos (gramas/dia) em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

Aminoácido	Tratamentos ¹				EPM ²	P ³ C vs. T
	0	0,9	1,8	2,7		
Ala	13,1	18,5	19,3	19,2	1,91	0,037
Arg	17,7	20,8	24,2	26,3	3,75	0,210
Asp	26,4	30,4	45,9	40,7	2,69	0,007
Cys	5,41	8,35	9,13	10,1	1,856	0,129
Glu	31,6	43,3	57,0	46,8	4,78	0,020
Gly	17,3	23,9	23,7	26,6	3,37	0,103
His	7,48	8,63	8,75	8,83	1,463	0,485
Ile	7,58	12,3	13,3	12,3	1,25	0,013
Leu	12,8	20,5	23,2	22,3	1,93	0,006
Lys	21,8	29,0	25,4	31,8	3,88	0,171
Met	7,77	12,0	12,3	12,6	1,30	0,024
Phe	12,4	29,4	21,8	20,1	6,20	0,162
Pro	20,1	27,2	31,0	32,4	3,76	0,060
Ser	16,7	21,8	24,8	21,7	2,88	0,118
Thr	14,3	18,8	19,9	17,7	2,50	0,169
Tyr	24,4	34,5	37,5	35,6	3,58	0,032
Val	9,69	15,2	15,3	16,6	1,61	0,018
AAE ⁴	111	167	164	169	16,8	0,029
AANE ⁵	155	208	248	233	11,2	0,001
AACR ⁶	30,1	48,0	51,8	51,1	4,61	0,009
AAG ⁷	173	230	271	262	15,9	0,005
AAC ⁸	34,6	49,6	48,6	54,1	4,90	0,029
AAGC ⁹	58,5	94,8	92,4	85,7	9,85	0,029
AAT ¹⁰	266	375	413	401	26,5	0,006

¹Efeitos linear e quadrático não significativos (P>0,053)

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

³Probabilidade do erro tipo I, onde: C vs. T = contraste controle x inclusão de tanino

⁴AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

⁵AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁶AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁷AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁸AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁹AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

¹⁰AAT= Aminoácidos totais (AAE + AANE)

Tabela 6 – Perfil de aminoácidos (% dos aminoácidos totais) na digesta duodenal de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja, com ou sem inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

Aminoácido	Tratamentos ¹				EPM ²	P ³ C vs. T
	0	0,9	1,8	2,7		
Ala	4,91	4,88	4,73	4,84	0,194	0,702
Arg	6,60	5,38	5,97	6,61	0,656	0,448
Asp	10,1	8,33	11,1	9,80	1,126	0,812
Cys	2,05	2,09	2,33	2,53	0,306	0,476
Glu	12,1	12,0	14,0	11,4	2,37	0,904
Gly	6,43	6,35	5,87	6,89	0,528	0,927
His	2,79	2,22	2,21	2,21	0,288	0,137
Ile	2,86	3,22	3,12	3,13	0,299	0,430
Leu	4,84	5,37	5,54	5,60	0,395	0,197
Lys	7,02	6,95	5,23	7,11	0,718	0,503
Met	2,92	3,17	2,94	3,13	0,229	0,569
Phe	4,62	8,22	5,04	5,13	1,729	0,478
Pro	7,50	7,22	7,79	8,09	0,507	0,744
Ser	6,27	5,83	6,12	5,14	0,626	0,455
Thr	5,34	4,96	4,94	4,28	0,401	0,234
Tyr	8,88	9,24	8,47	8,89	0,984	0,991
Val	3,64	4,0	3,66	4,28	0,357	0,436
AAE ⁴	41,8	44,1	39,7	42,5	2,07	0,923
AANE ⁵	58,2	56,0	60,3	57,5	2,06	0,920
AACR ⁶	11,3	12,6	12,4	13,0	0,99	0,295
AAG ⁷	65,3	61,4	66,6	64,9	2,21	0,718
AAC ⁸	13,1	12,9	11,8	13,7	0,53	0,705
AAGC ⁹	21,7	25,7	21,6	21,4	2,23	0,666

¹Efeitos linear e quadrático não significativos (P>0,053)

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

³Probabilidade do erro tipo I, onde: C vs. T = contraste controle x inclusão de tanino

⁴AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

⁵AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁶AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁷AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁸AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁹AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

A inclusão do extrato tanífero afetou positivamente (P≤0,05) o fluxo duodenal da maioria dos aminoácidos, com exceção dos aminoácidos Arg, Cys, Gly, His, Lys, Phe, Pro, Ser e Thr, os quais não foram afetados significativamente (P>0,05) (Tabela 5). No entanto, o

perfil de aminoácidos da digesta duodenal não foi modificado ($P>0,05$) pela inclusão do extrato tanífero na dieta (Tabela 6).

5.1.3 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal

Nas figuras 1, 2, 3 e 4 são apresentadas as relações entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos consumindo dietas sem ou com inclusão de 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero, respectivamente.

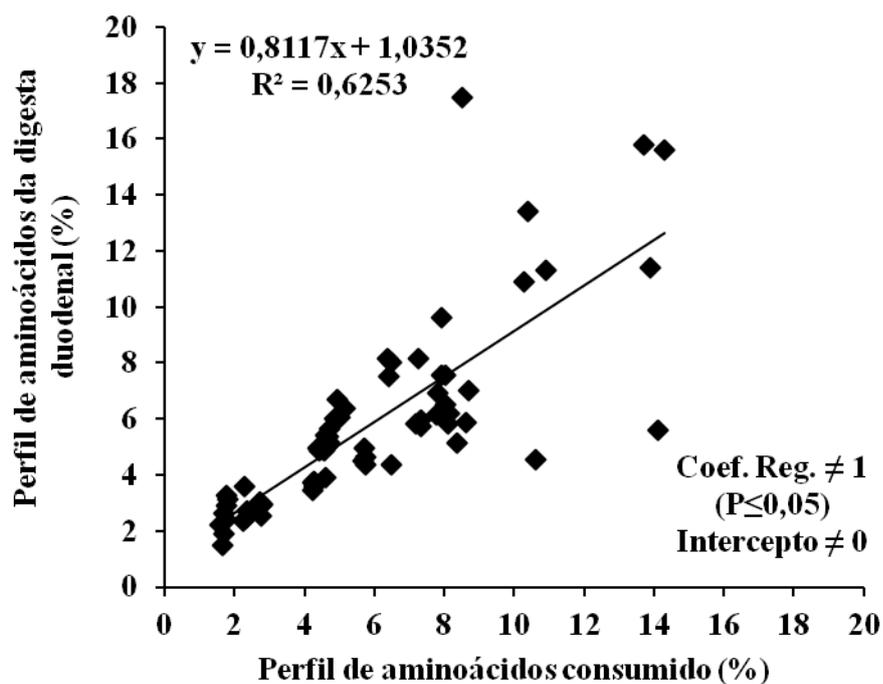


Figura 1 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

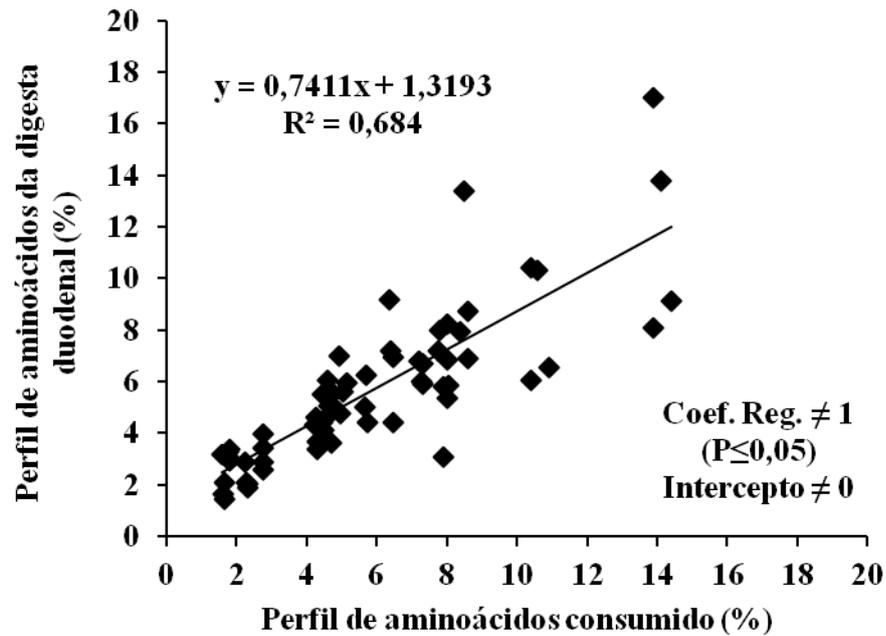


Figura 2 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 0,9% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

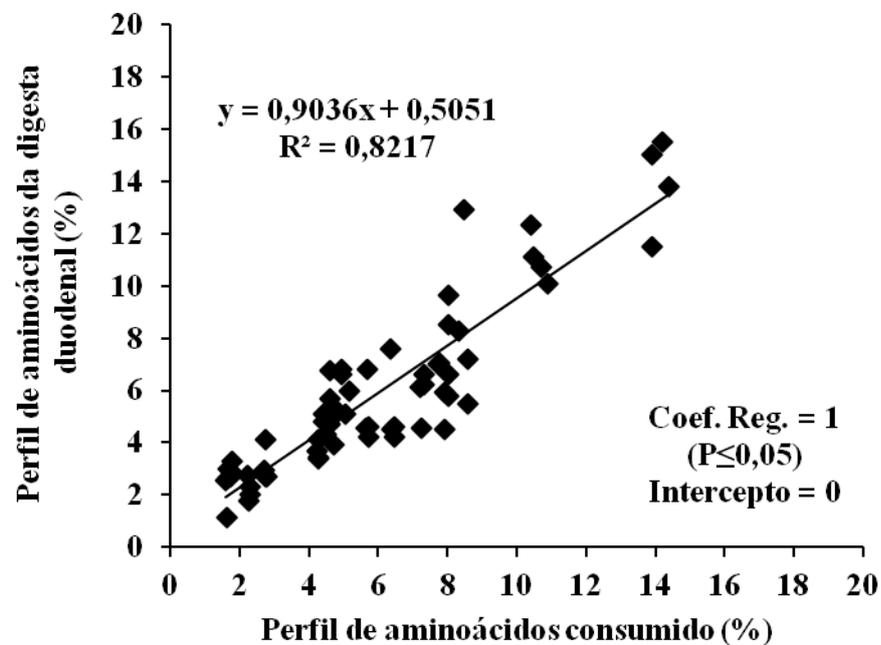


Figura 3 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 1,8% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

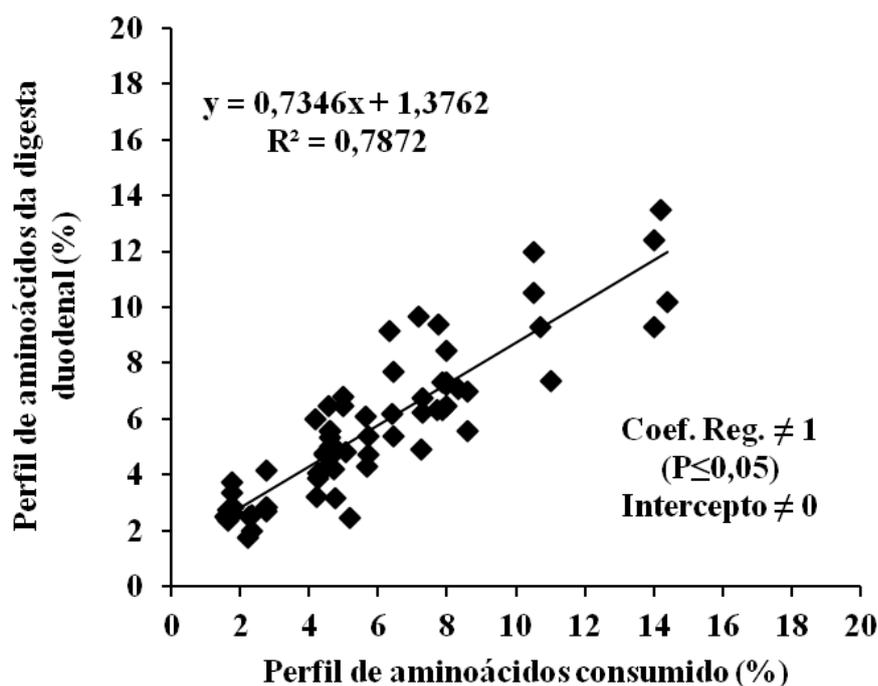


Figura 4 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja e 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

Foi observada alta e significativa ($P \leq 0,05$) relação entre os perfis de aminoácidos ingeridos e os perfis de aminoácidos da digesta duodenal. Além disso, os coeficientes de determinação (r^2) aumentaram com a inclusão de extrato tanífero na dieta, variando de 0,63 no tratamento controle até 0,82 quando adicionado 1,8% de extrato tanífero na dieta. Somente o coeficiente de regressão da equação do tratamento 1,8% de inclusão de extrato tanífero foi estatisticamente igual a 1. Nesse mesmo nível de inclusão de tanino o intercepto foi igual à zero ($P > 0,05$) e em todas as demais equações os coeficientes de regressão e interceptos diferiram de 1 e zero, respectivamente ($P \leq 0,05$).

5.1.4 Relação entre o perfil de AAE da digesta duodenal, leite e músculo

Na figura 5 é apresentada a relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do leite bovino e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal.

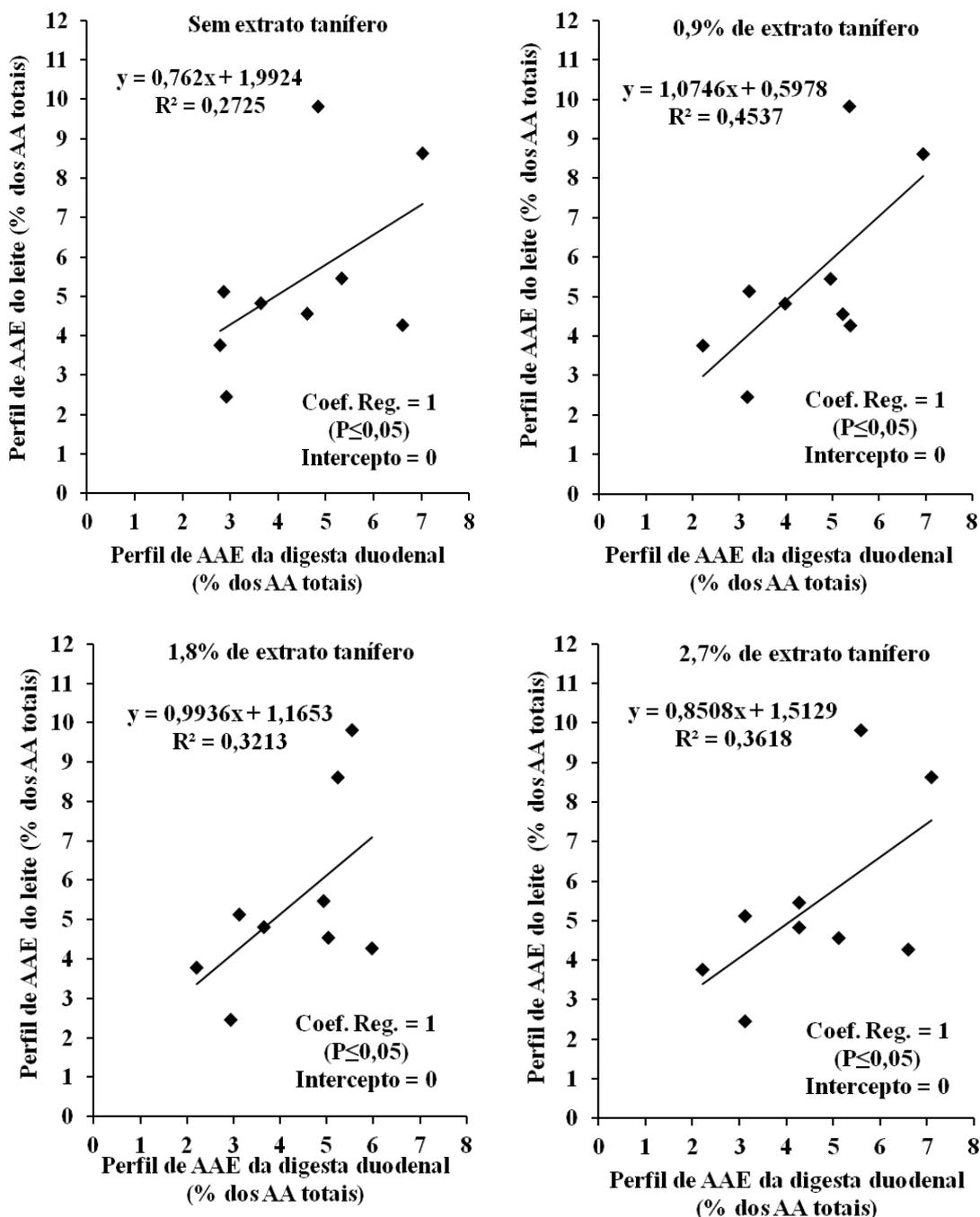


Figura 5 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do leite e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem inclusão ou com 0,9, 1,8 ou 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

Foi observada alta e significativa ($P \leq 0,05$) relação entre os perfis de aminoácidos essenciais da digesta duodenal e os perfis de aminoácidos essenciais do leite. Embora os coeficientes das regressões tenham se elevado com a inclusão de extrato tanífero nas dietas,

principalmente para os níveis mais baixos (0,9 e 1,8%) de inclusão de extrato tanífero, os coeficientes de determinação foram baixos (0,27 a 0,45). Além disso, todos os coeficientes de regressão e interceptos foram estatisticamente iguais a 1 e zero, respectivamente ($P > 0,05$).

Na figura 6 é apresentada a relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do tecido muscular bovino e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal. Observou-se uma alta relação entre os perfis de aminoácidos, sendo que as variações no perfil de aminoácidos do tecido muscular são grandemente explicadas pelo modelo de regressão aplicado e pelos elevados coeficientes de determinação obtidos. Além disso, os tratamentos com mais baixos níveis de inclusão de tanino (0,9 e 1,8%) apresentaram coeficientes de regressão estatisticamente iguais a 1 ($P > 0,05$) e interceptos iguais a zero ($P > 0,05$). Para os demais tratamentos os coeficientes das regressões e interceptos foram diferentes de 1 ($P \leq 0,05$) e iguais a zero ($P > 0,05$), respectivamente.

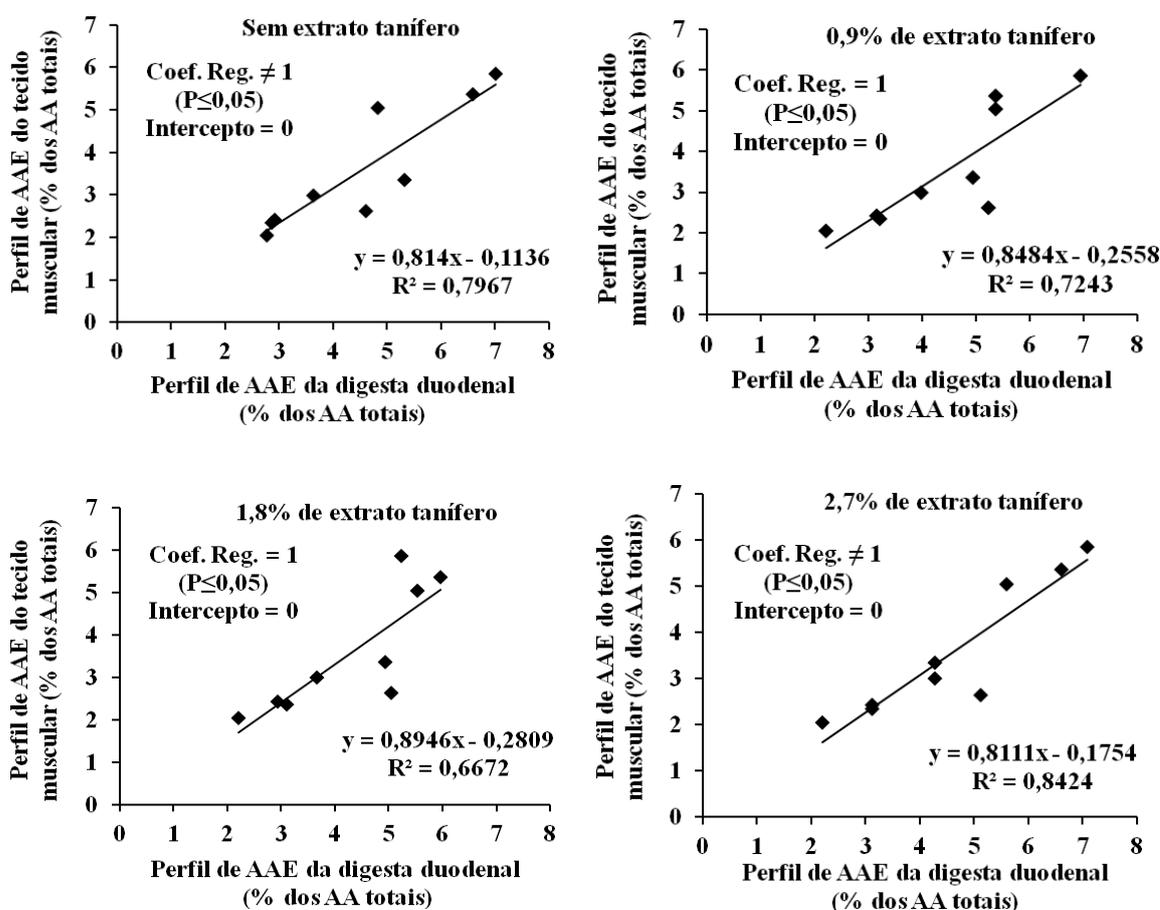


Figura 6 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do tecido muscular e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo farelo de soja sem

inclusão ou com 0,9, 1,8 ou 2,7% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

5.2 Ensaio 2 – Inclusão de tanino × fonte proteica

5.2.1 Consumo de aminoácidos

Os valores médios de consumo em gramas e do consumo como uma percentagem do total de aminoácidos e dos grupos de aminoácidos são apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(continua)

Aminoácido	Tratamentos ¹			
	FC		FS	
	Sem	Com	Sem	Com
Ala	46,8	49,3	51,2	52,2
Arg	57,3	60,1	60,1	60,6
Asp	63,3	66,8	78,9	80,3
Cys	14,9	15,6	8,93	8,90
Glu	123	130	134	135
Gly	44,3	46,5	40,6	41,1
His	26,2	27,6	22,5	22,9
Ile	28,2	29,6	29,7	30,2
Leu	59,7	62,8	61,4	62,5
Lys	47,1	49,2	46,3	46,5
Met	16,7	17,4	10,9	11,0
Phe	48,9	51,5	52,7	53,7
Pro	62,0	65,1	61,1	62,0
Ser	41,9	44,1	45,0	45,6
Thr	37,1	39,0	34,1	34,6
Tyr	31,5	42,4	44,0	44,5
Val	39,6	41,7	38,8	39,5
AAE ²	360	378	356	362

Tabela 7 – Consumo de aminoácidos (gramas/dia) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(conclusão)

Aminoácido	Tratamentos ¹			
	FC		FS	
	Sem	Com	Sem	Com
AANE ³	437	459	463	469
AACR ⁴	127	134	130	133
AAG ⁵	537	563	551	559
AAC ⁶	107	112	108	109
AAGC ⁷	155	163	161	163
AAT ⁸	799	839	821	833

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

²AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

³AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁴AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁵AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁶AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁷AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

⁸AAT= Aminoácidos totais (AAE + AANE)

Tabela 8 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(continua)

Aminoácido	Tratamentos ¹			
	FC		FS	
	Sem	Com	Sem	Com
Ala	5,86	5,88	6,24	6,26
Arg	7,17	7,16	7,32	7,29
Asp	7,93	7,95	9,61	9,64
Cys	1,87	1,86	1,09	1,08
Glu	15,4	15,4	16,2	16,2
Gly	5,54	5,54	4,94	4,94
His	3,28	3,28	2,74	2,75
Ile	3,52	3,52	3,62	3,62
Leu	7,47	7,49	7,47	7,50
Lys	5,89	5,87	5,64	5,60
Met	2,08	2,08	1,33	1,32
Phe	6,13	6,14	6,42	6,44

Tabela 8 – Perfil de aminoácidos consumidos diariamente (% dos aminoácidos totais) por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

(conclusão)

Aminoácido	Tratamentos ¹			
	FC		FS	
	Sem	Com	Sem	Com
Pro	7,75	7,75	7,44	7,44
Ser	5,25	5,25	5,48	5,48
Thr	4,65	4,65	4,16	4,16
Tyr	5,06	5,05	5,37	5,34
Val	4,96	4,96	4,73	4,75
AAE ²	45,1	45,1	43,4	43,4
AANE ³	54,7	54,7	56,4	56,4
AACR ⁴	16,0	16,0	15,8	15,9
AAG ⁵	67,1	67,1	67,1	67,1
AAC ⁶	13,4	13,4	13,1	13,1
AAGC ⁷	19,4	19,4	19,6	19,6

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

²AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

³AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁴AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁵AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁶AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁷AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

5.2.2 Fluxo duodenal de aminoácidos

Os valores médios de fluxo duodenal de aminoácidos, bem como o perfil de aminoácidos da digesta são apresentados nas Tabelas 9 e 10.

A inclusão do extrato tanífero afetou positivamente ($P \leq 0,05$) o fluxo duodenal da maioria dos aminoácidos, com exceção dos aminoácidos Asp, Cys, His, Ile, Lys, Met, Ser, Tyr e os grupos de AACR e AAGC, os quais não foram afetados significativamente ($P > 0,05$) (Tabela 9). No entanto, para o perfil de aminoácidos da digesta duodenal houve interação fonte proteica \times tanino ($P \leq 0,05$), de modo que os animais que ingeriram a dieta contendo farelo de soja com inclusão do extrato tanífero tiveram um maior percentual do aminoácido Glu e do grupo dos AAG chegando ao duodeno (Tabela 10). Além disso, nem o fluxo em

valores absolutos nem o perfil de aminoácidos da digesta foram afetados significativamente ($P>0,05$) pela inclusão de farelo de soja ou farelo de canola na dieta dos animais.

Tabela 9 – Fluxo duodenal de aminoácidos (gramas/dia) em bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

Aminoácido	Tratamentos ¹				EPM ²	<i>P</i> ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT × T
	Sem	Com	Sem	Com				
Ala	41,4	57,0	40,8	51,0	4,07	0,446	0,019	0,540
Arg	48,8	68,9	47,7	64,0	6,79	0,670	0,037	0,793
Asp	84,2	95,7	91,0	110	6,59	0,165	0,062	0,606
Cys	17,2	20,6	15,6	17,8	1,48	0,183	0,107	0,723
Glu	124	154	114	177	12,0	0,621	0,008	0,216
Gly	47,4	63,5	48,2	62,8	6,24	0,991	0,049	0,905
His	22,2	28,4	22,5	27,9	3,91	0,983	0,192	0,924
Ile	27,6	41,1	30,9	31,2	4,22	0,464	0,153	0,169
Leu	43,9	68,2	46,3	52,9	6,20	0,338	0,047	0,202
Lys	71,5	86,4	76,3	84,7	5,80	0,794	0,092	0,597
Met	15,6	22,2	14,1	21,2	3,96	0,759	0,137	0,947
Phe	37,2	54,5	38,7	47,1	4,06	0,495	0,019	0,315
Pro	49,1	71,8	55,6	69,2	6,10	0,763	0,025	0,482
Ser	40,7	52,5	35,9	60,1	8,64	0,877	0,083	0,502
Thr	41,1	55,6	38,4	54,7	5,61	0,763	0,034	0,878
Tyr	62,7	62,1	66,1	58,8	17,45	1,000	0,830	0,855
Val	34,4	51,3	36,5	41,3	4,24	0,390	0,043	0,205
AAE ⁴	342	476	352	425	33,5	0,554	0,021	0,402
AANE ⁵	466	577	467	606	51,0	0,786	0,049	0,789
AACR ⁶	106	161	114	126	14,1	0,371	0,057	0,182
AAG ⁷	525	686	521	702	50,5	0,907	0,015	0,851
AAC ⁸	115	155	122	138	8,3	0,587	0,017	0,198
AAGC ⁹	168	214	174	192	24,5	0,756	0,247	0,595
AAT ¹⁰	809	1054	818	1031	80,1	0,938	0,029	0,851

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

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

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

⁴AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

⁵AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁶AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁷AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁸AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁹AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

¹⁰AAT= Aminoácidos totais (AAE + AANE)

Tabela 10 – Perfil de aminoácidos (% dos aminoácidos totais) na digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola, com ou sem inclusão de 1,5% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta

Aminoácido	Tratamentos ¹				EPM ²	P ³		
	FC		FS			PROT	T	PROT × T
	Sem	Com	Sem	Com				
Ala	5,13	5,31	5,00	4,91	0,198	0,227	0,842	0,524
Arg	6,03	6,68	5,78	6,22	0,382	0,383	0,206	0,793
Asp	10,4	8,98	11,3	10,7	0,570	0,063	0,136	0,484
Cys	2,14	2,01	1,99	1,80	0,171	0,335	0,382	0,883
Glu	15,3 ^b	14,6 ^b	13,9 ^c	17,1 ^a	0,42	0,230	0,026	0,003
Gly	5,87	6,16	5,89	6,04	0,441	0,918	0,639	0,875
His	2,75	2,65	2,78	2,74	0,233	0,805	0,766	0,902
Ile	3,43	3,74	3,86	3,05	0,378	0,745	0,531	0,193
Leu	5,44	6,20	5,82	5,16	0,550	0,566	0,925	0,242
Lys	8,84	8,31	9,52	8,29	0,418	0,460	0,080	0,434
Met	1,91	2,09	1,66	2,01	0,317	0,616	0,435	0,798
Phe	4,61	5,15	4,74	4,56	0,183	0,256	0,377	0,097
Pro	6,08	6,94	7,11	6,63	0,608	0,578	0,768	0,313
Ser	5,00	5,09	4,37	5,77	0,700	0,971	0,326	0,387
Thr	5,07	5,35	4,65	5,27	0,343	0,496	0,239	0,631
Tyr	7,74	6,09	7,17	5,74	1,345	0,746	0,296	0,940
Val	4,28	4,75	4,55	4,02	0,355	0,532	0,935	0,206
AAE ⁴	42,4	44,9	43,4	41,3	1,14	0,290	0,834	0,091
AANE ⁵	57,7	55,1	56,7	58,7	1,13	0,290	0,841	0,087
AACR ⁶	13,2	14,7	14,2	12,2	1,20	0,582	0,858	0,191
AAG ⁷	64,9 ^b	65,2 ^b	64,3 ^b	67,9 ^a	0,67	0,163	0,025	0,045
AAC ⁸	14,3	14,5	15,4	13,5	0,74	0,987	0,300	0,200
AAGC ⁹	20,9	20,3	20,5	18,6	1,09	0,372	0,322	0,572

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

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

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

⁴AAE= Aminoácidos essenciais (Arg, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr e Val)

⁵AANE= Aminoácidos não essenciais (Ala, Asp, Cys, Glu, Gly, Pro, Ser e Tyr)

⁶AACR= Aminoácidos de cadeia ramificada (Ile, Leu e Val)

⁷AAG= Aminoácidos glicogênicos (Ala, Arg, Asp, Cys, Gly, Glu, His, Met, Pro, Ser e Val)

⁸AAC= Aminoácidos cetogênicos (Leu, Lys)

⁹AAGC= Aminoácidos glicogênicos e cetogênicos (Ile, Phe, Thr e Tyr)

5.2.3 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal

Nas figuras 7 e 8 são apresentadas as relações entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos consumindo dietas sem ou com inclusão de 1,5% de extrato tanífero, respectivamente.

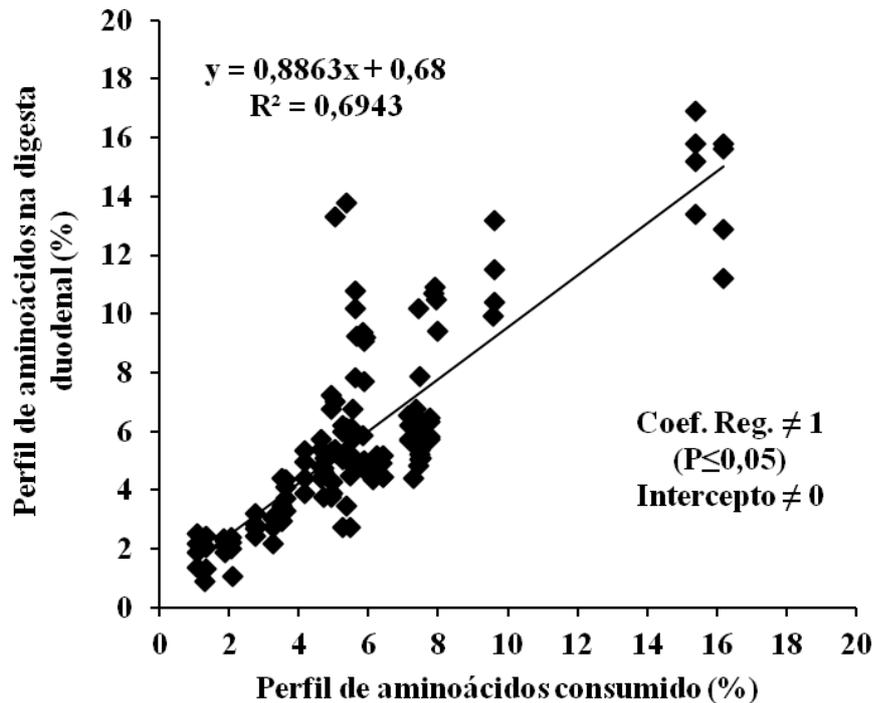


Figura 7 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

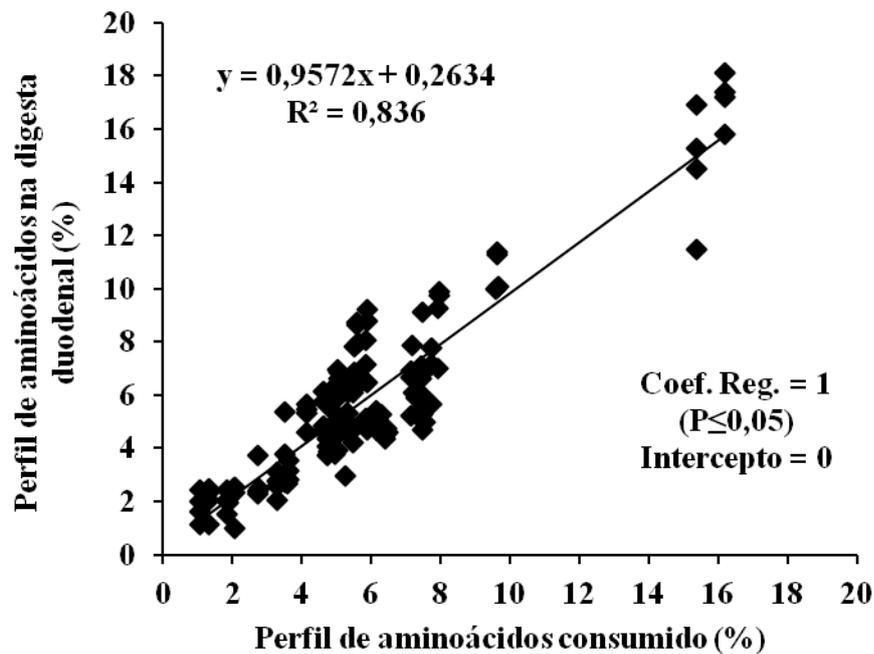


Figura 8 – Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola e 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

Foi observada alta e significativa ($P \leq 0,05$) relação entre os perfis de aminoácidos ingeridos e os perfis de aminoácidos da digesta duodenal. Neste ensaio, o coeficiente de determinação também aumentou pela inclusão de extrato tanífero na dieta ($r^2 = 0,69$ para $0,84$). Somente o coeficiente de regressão da equação do tratamento 1,5% de inclusão de extrato tanífero foi estatisticamente igual a 1. Além disso, com a inclusão de tanino na dieta o intercepto foi igual à zero ($P > 0,05$). No tratamento controle o coeficiente de regressão e o intercepto diferiram de 1 e zero, respectivamente ($P \leq 0,05$).

5.2.4 Relação entre o perfil de AAE da digesta duodenal, leite e músculo

Na figura 9 são apresentadas as relações entre os perfis de aminoácidos essenciais do leite e da digesta duodenal. Neste ensaio, embora os coeficientes de regressão indiquem uma relativamente alta relação entre os perfis de aminoácidos, os coeficientes de determinação não foram elevados. No entanto, quando adicionado 1,5% de extrato tanífero na dieta o

coeficiente de regressão é estatisticamente igual a 1 ($P > 0,05$) e em ambos os tratamentos os interceptos são diferentes de zero ($P \leq 0,05$).

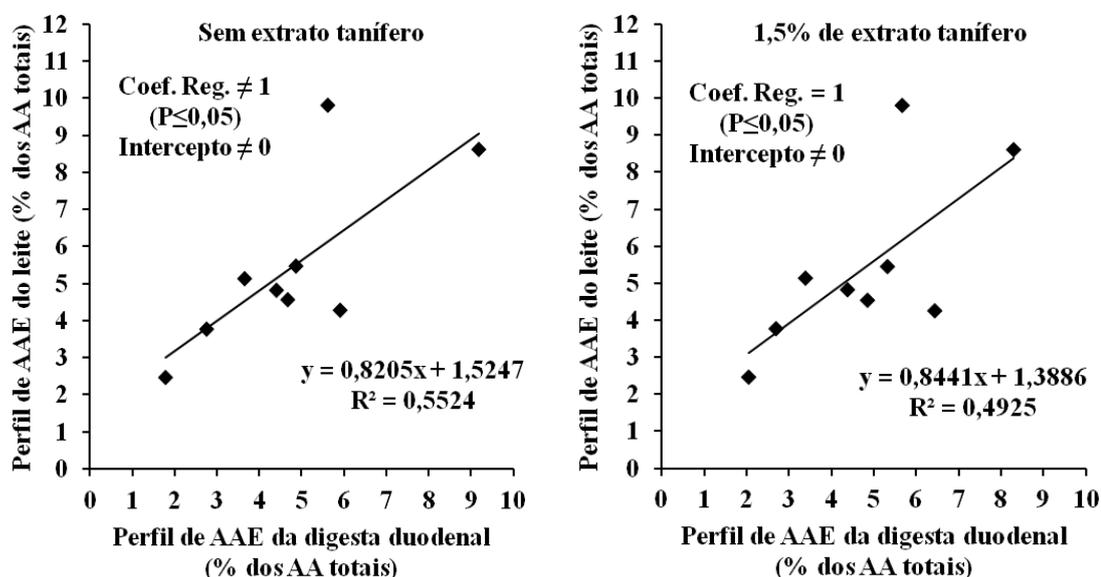


Figura 9 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do leite e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão ou com 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

Na figura 10 são apresentadas as relações entre os perfis de aminoácidos essenciais do tecido muscular e da digesta duodenal. Neste ensaio, embora tenham sido obtidos elevados coeficientes de determinação como no ensaio 1, os coeficientes de regressão indicam que existe uma maior diferença entre os perfis de aminoácidos que aquelas observadas para o ensaio 1. Desse modo, em ambos os tratamentos os coeficientes das regressões são estatisticamente diferentes de 1 ($P \leq 0,05$) e os interceptos são diferente de zero ($P \leq 0,05$) e igual a zero ($P > 0,05$) nos tratamentos sem e com inclusão de tanino, respectivamente.

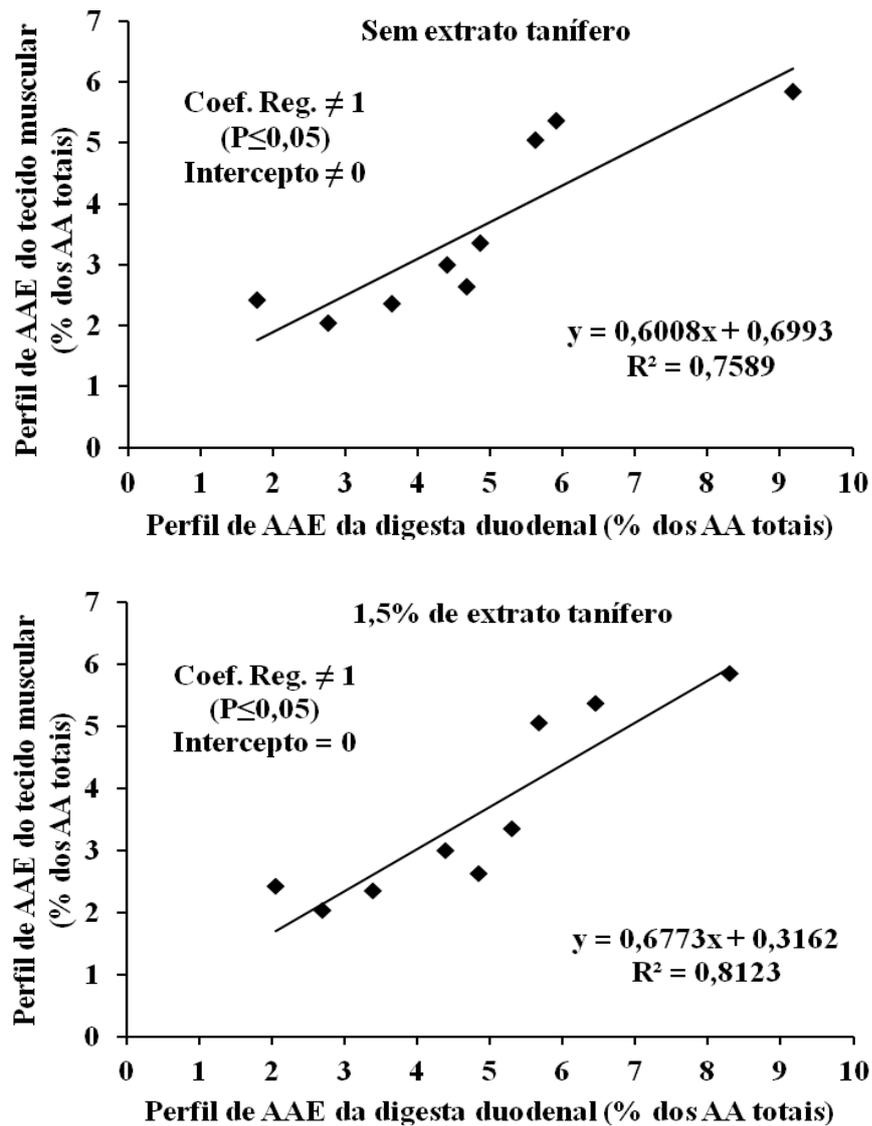


Figura 10 – Relação entre o perfil de aminoácidos essenciais do tecido muscular e o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal de bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado contendo farelo de soja ou farelo de canola sem inclusão ou 1,5% de inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta.

6 DISCUSSÃO

6.1 Consumo de aminoácidos

Na maioria dos estudos relacionados à nutrição aminoacídica de bovinos, os animais recebem dietas *ad libitum* e em parte destes estudos é avaliado o efeito da taxa de passagem da digesta ruminal sobre a degradação proteica e perfil de aminoácidos da digesta após o rúmen. Volden et al. (1998) mencionaram que as diferenças no comportamento ou nível de ingestão da dieta podem provocar grandes variações na quantidade e perfil de aminoácidos que chegam ao duodeno devido às diferentes taxas de degradação e passagem que podem ser causadas pela complexidade de fatores relacionados ao ambiente ruminal. Ciente destes possíveis efeitos, nos dois ensaios deste estudo os animais receberam quantidades restritas de alimentos (2 e 2,5% do PC, respectivamente), buscando um maior controle e padronização dos efeitos do nível de consumo sobre a taxa de passagem e degradabilidade ruminal da fração proteica.

A inclusão dos taninos em dietas podem causar efeitos adversos como a diminuição na aceitação do alimento (FRUTOS et al., 2004). Embora a oferta de alimento tenha sido restrita no presente estudo, os níveis de inclusão de tanino não foram suficientes para provocar uma redução no consumo de MS. De acordo com Makkar (2003), a redução no consumo de alimentos tem sido observada somente quando a inclusão de taninos condensados na dieta é maior do que 3% da MS, o que não foi o caso do presente estudo.

O consumo médio de aminoácidos foi de 506 e 823 g/dia, sendo que 40,5 e 44,2% do total de aminoácidos consumidos foram de AAE nos ensaios 1 e 2, respectivamente.

6.2 Fluxo duodenal de aminoácidos

Segundo Lapierre et al. (2006) o fluxo duodenal é a primeira medida da oferta de aminoácidos para animais ruminantes, sendo que a proteína metabolizável, a qual compreende o total de aminoácidos que chegam ao intestino delgado, engloba a PNDR, a proteína

microbiana e a proteína endógena. Ao revisar a literatura Clark et al. (1992) verificaram que a contribuição de cada fração para o fluxo total é diretamente relacionada à composição da dieta e consumo de MS e varia grandemente, com a fração da proteína microbiana, normalmente, ofertando a maior parte dos aminoácidos. Apesar de, no presente trabalho a oferta intestinal de cada aminoácido individualmente ter sido quantificada, as origens destes aminoácidos não podem ser identificadas. Independente disso é provável que o aumento no fluxo de aminoácidos pela inclusão de tanino na dieta se deve, principalmente, a um aumento na passagem da fração proteica de origem dietética para o intestino delgado. Este efeito já foi reportado por Mezzomo et al. (2011) ao ofertar dietas com 87% de concentrado contendo farelo de soja e inclusão ou não de 0,4% de tanino condensado de extrato tanífero de quebracho (com 76% de taninos condensados) a bovinos e observaram que o fluxo abomasal de proteína de origem dietética aumentou em 37,6%, e os fluxos de proteína microbiana foram similares independente do tratamento.

Observou-se no ensaio 1 que a quantidade de aminoácidos totais que chegou ao duodeno foi menor que àquela ingerida pelos animais. No entanto, no ensaio 2 a quantidade de aminoácidos fluindo ao duodeno foi maior que a ingerida pelos bovinos. Isto indica que além dos taninos protegerem da degradação ruminal uma parte substancial das proteínas e aminoácidos ingeridos neste ensaio, provavelmente, ocorreu uma significativa contribuição de aminoácidos de origem microbiana sintetizados a partir de fontes de nitrogênio da dieta que não aminoácidos como, por exemplo, amônio.

Os fluxos de aminoácidos totais (AAT), AAE e AANE aumentaram em média 49, 50,2 e 48,2%, respectivamente, do tratamento controle para a média dos tratamentos que incluíram extrato tanífero na dieta. Menores aumentos foram observados no ensaio 2, onde a inclusão de 1,5% de extrato tanífero na dieta elevou em 28,2, 30 e 26,8% os fluxos dos AAT, AAE e AANE, respectivamente, para o duodeno. Resultados similares aos obtidos neste estudo foram reportados por Waghorn et al. (1987) ao fornecerem *Lotus corniculatus* com 2,2% de taninos condensados para ovinos.

No entanto, no presente estudo não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos que incluíram tanino. A falta de diferença entre os níveis pode ter ocorrido, pois já no nível de 0,9% foi suficiente para proteger uma parte substancial da proteína e aminoácidos da degradação ruminal. Diferente disso, ao realizar um estudo meta-analítico Min et al. (2003) observaram que o fluxo de nitrogênio não amoniacal ao intestino delgado aumentou linearmente ao ofertar espécies de *Lotus* com 2 a 12% de taninos condensados na MS para ovinos. No entanto, esta diferença com os dados da literatura, possivelmente, é

devido ao tipo de tanino e dieta fornecida aos animais, sendo necessários mais estudos para definir com mais clareza os efeitos do extrato tanífero de *Acacia mearnsii* sobre o fluxo intestinal de aminoácidos.

Além do aumento do fluxo duodenal dos AAT, AAE e AANE pela inclusão do extrato tanífero nas dietas em ambos os ensaios, no ensaio 1 o fluxo duodenal dos grupos de AACR, AAG, AAC e AAGC aumentaram significativamente, em média, 56,9% em relação ao tratamento controle. Porém, no ensaio 2 além dos grupos de AAT, AAE e AANE, o grupo dos AAG e dos AAC apresentaram um aumento significativo de 32,7 e 24%, respectivamente, no fluxo duodenal. O grupo dos AACR e o grupo dos AAG são de grande relevância na resposta produtiva de ruminantes, especialmente de vacas leiteiras em lactação. Desta maneira, é possível que a resposta produtiva dos animais seja incrementada com a inclusão de tanino na dieta visto que, além dos AAG serem utilizados para a síntese proteica, podem também serem utilizados como precursores de glicose através da neoglicogênese hepática. O que é de particular interesse no metabolismo de animais em lactação, uma vez que uma maior disponibilidade de glicose pode proporcionar uma maior produção de leite (CLARK, 1975).

O efeito dos taninos em aumentar o fluxo duodenal dos aminoácidos individualmente foi parcial em ambos os ensaios. Isto porque, no ensaio 1 somente os aminoácidos Ala, Asp, Glu, Ile, Leu, Met, Tyr e Val tiveram o fluxo aumentado significativamente entre 45 e 71,9%. No ensaio 2 o fluxo dos aminoácidos Ala, Arg, Glu, Gly, Leu, Phe, Pro, Thr e Val aumentou entre 24 e 39,8% na digesta duodenal.

É provável que a não significância observada para os demais aminoácidos tenha ocorrido devido ao reduzido número de animais utilizados e aos elevados valores de Erro Padrão das Médias (EPM) obtidos, consequência da elevada variabilidade entre as observações de fluxo da digesta duodenal. Esta variabilidade na estimativa de fluxo de nutrientes para o intestino pode ser ocasionada, principalmente, por fatores intrínsecos ao animal como, por exemplo, uma maior secreção endógena e/ou peristaltismo e também ao uso de marcador de fluxo de digesta, podendo contribuir para aumentar o erro nestas estimativas. No entanto, é difícil identificar a origem destes fatores. Além disso, Reed (1995) relata que a força dos complexos formados entre as moléculas de tanino e proteína para minimizar a degradação proteica dependem das características de ambos, tanino e proteína como, por exemplo, peso molecular, estrutura terciária, ponto isoelétrico e compatibilidade dos sítios de ligação.

Além da disponibilidade do total de aminoácidos para absorção no intestino delgado, especial atenção deve ser dada à disponibilidade dos aminoácidos Met, Lys e Thr, citados por

Richardson e Hatfield (1978) como aminoácidos limitantes na proteína microbiana para o crescimento de bovinos. No presente estudo, somente o aminoácido Met no ensaio 1 e o aminoácido Thr no ensaio 2 aumentaram significativamente em 58,3% e 38,9%, respectivamente, na digesta duodenal quando adicionado extrato tanífero à dieta. Estudos têm mostrado que a ação dos taninos condensados presentes no *Lotus pedunculatus* e *Lotus corniculatus* provocam uma redução na degradação dos aminoácidos sulfurados (Met e Cys) no rúmen (MIN et al., 2003). No entanto, neste estudo o nível de inclusão de tanino nas dietas parece não ter sido suficiente para provocar um aumento no fluxo dos aminoácidos sulfurados em ambos os ensaios.

Devido à degradação da lisina no rúmen ser relativamente alta comparada com outros aminoácidos essenciais (SCHWAB, 1996; STERN et al., 1983), muita da lisina fluindo no duodeno pode ter origem dos microorganismos ruminais que são relativamente ricos em lisina em relação à maioria das fontes proteicas utilizadas na alimentação animal (SANTOS et al., 1984). Isto pode ter ocorrido neste estudo, uma vez que, a inclusão de até 2,7% de extrato tanífero na dieta não foi suficiente para provocar um aumento no fluxo deste aminoácido.

O NRC (1996) para bovinos de corte e o NRC (2001) para bovinos de leite consideram que a exigência de proteína metabolizável para manutenção é de 3,8g/kg de PC^{0,75}. Com base nestes dados verificou-se que os animais no ensaio 1 tiveram suas exigências supridas 1,6 vez a manutenção no tratamento controle e quando adicionado 0,9, 1,8 ou 2,7% de extrato tanífero na dieta este valor passou a ser de 2,3 vezes a manutenção. Da mesma forma, no ensaio 2 o valor passou de 3 vezes a manutenção no tratamento controle para 3,8 vezes quando adicionado 1,5% de tanino na dieta.

6.3 Perfil de aminoácidos da digesta duodenal

Era esperado que pela inclusão de tanino na dieta o perfil de aminoácidos da digesta duodenal fosse diferente do tratamento controle. Isso porque os aminoácidos são degradados a diferentes taxas no rúmen (FENDERSON e BERGEN, 1975; MACGREGOR et al., 1978), e quando reduzida a degradabilidade da fração proteica um perfil de aminoácidos mais semelhante ao consumido poderia compor a proteína metabolizável. Neste estudo, a ação dos taninos parece ter sido eficiente em reduzir a degradabilidade ruminal da fração proteica da dieta e aumentar o fluxo de aminoácidos totais para o duodeno. No entanto, com exceção do

aminoácido Glu e do grupo de AAG no ensaio 2, não foi capaz de provocar uma mudança no perfil de aminoácidos da proteína metabolizável em ambos os ensaios. Entretanto, para que o perfil de aminoácidos da digesta fosse semelhante ao perfil de aminoácidos consumido, seria necessário que todos os aminoácidos ingeridos fossem degradados a uma mesma taxa no rúmen, e isso provavelmente não ocorreu.

Existem duas hipóteses para a falta de diferenças entre os perfis de aminoácidos da digesta duodenal quando comparados os tratamentos com ou sem a inclusão de taninos, em ambos os ensaios: (i) é provável que, apesar de ter ocorrido uma redução na taxa de degradação da maioria dos aminoácidos e aumentar o fluxo duodenal pela inclusão de tanino na dieta, os diferentes aminoácidos que compuseram o perfil da digesta podem ter sido degradados no rúmen de forma proporcionalmente semelhante aos aminoácidos que compuseram a proteína metabolizável no tratamento sem inclusão de tanino (fato semelhante a este foi reportado por Craig e Broderick (1984) que testaram o tratamento térmico do farelo de algodão como ferramenta para diminuir a degradabilidade da proteína); (ii) devido a alta dispersão dos dados, diferenças estatisticamente significativas não foram encontradas. É provável que esta segunda hipótese seja a mais correta.

Associado a isso, e tomando como base os resultados de Cecava et al. (1988) é provável que esta mudança no perfil de aminoácidos da digesta dos animais do ensaio 2 não tenha ocorrido devido à pequena quantidade dos suplementos proteicos na MS total ingerida pelos animais (em média 12,3% da MS da dieta). Desta forma, uma menor proporção dos aminoácidos que chegaram ao duodeno pode ser de origem do suplemento proteico, não sendo esta suficiente para provocar uma mudança no perfil de aminoácidos da digesta. Além disso, neste ensaio o consumo de matéria seca e de energia pelos animais foi maior, e como a composição da proteína microbiana é considerada relativamente constante e não influenciada pelas mudanças dietéticas (SCHWAB, 1996), é provável que a maior proporção de aminoácidos da proteína metabolizável seja de origem microbiana.

De outra forma, em alguns estudos (Erasmus et al., 1994; Mabweesh et al., 1996; Volden, 1999) conduzidos com vacas leiteiras consumindo de 8 a 13% de suplementos proteicos na MS da dieta, verificou-se que o perfil de aminoácidos da digesta duodenal refletiu exatamente as diferenças no perfil de aminoácidos das fontes proteicas ofertadas aos animais. No entanto, devido à característica de alta degradabilidade ruminal dos suplementos utilizados no presente estudo, o efeito do tanino foi suficiente somente para provocar uma alteração quantitativa no fluxo duodenal, porém não foi suficiente para provocar uma alteração qualitativa no fluxo de aminoácidos.

Conforme Cecava e Parker (1993) pode ser difícil aumentar o fluxo de aminoácidos específicos para o intestino delgado de ruminantes alimentados com dietas contendo volumoso e concentrado com adequada oferta de energia metabolizável. Devido à proteína microbiana ofertar uma grande quantidade do total de aminoácidos que passam para o intestino delgado, diferenças na passagem individual de aminoácidos, mesmo se a composição dietética de aminoácidos varia extensivamente, são usualmente pequenas (SCHINGOETHE, 1996). Segundo Clark et al. (1992) a suplementação com proteína de baixa degradabilidade ruminal deveria ofertar cerca de 50% do total de proteína para alterar significativamente o perfil de aminoácidos da digesta duodenal. No entanto, no presente estudo não é conhecido o percentual de redução da degradabilidade da proteína dietética quando incluído tanino na dieta.

Dessa forma, mesmo que não tenha sido estimado nesse estudo, é possível que uma maior quantidade de aminoácidos da proteína microbiana, proteína endógena e outras fontes de aminoácidos, que não do suplemento proteico, que escaparam da fermentação ruminal possam ter um significativo efeito de equilibrar o perfil de aminoácidos que chega ao duodeno. Sendo assim, a inclusão de tanino na dieta teria um maior efeito na quantidade total de aminoácidos que chegam ao duodeno do que na proporção dos aminoácidos disponíveis para absorção.

O aminoácido Glu e o grupo dos AAG, os quais apresentaram um efeito significativo de interação no ensaio 2, fluíram para o duodeno em um maior percentual quando os animais consumiram a dieta contendo farelo de soja com inclusão com 1,5% de extrato tanífero. Segundo Atasoglu e Wallace (2003) o aminoácido Glu está diretamente associado ao metabolismo dos compostos nitrogenados pelos microorganismos ruminais, podendo contribuir com uma maior quantidade nos microorganismos quando em presença de maiores concentrações de amônia no fluido ruminal, por exemplo. No entanto, no presente estudo não foram analisadas as concentrações de amônia no fluido ruminal nem a composição bacteriana, de forma que são necessários mais estudos para avaliar os efeitos de interação deste extrato tanífero com diferentes dietas e com os microorganismos ruminais. No caso dos AAG, o maior percentual pode ter ocorrido pelo aumento da participação do Glu neste grupo de aminoácidos.

No ensaio 1 verificou-se que a relação Lys:Met foi de 2,4:1 para o tratamento controle, porém quando adicionado de 0,9 a 2,7% de tanino na dieta a relação reduziu, passando a ser de 2,1:1. Da mesma forma, no ensaio 2, independentemente da fonte proteica, para o tratamento controle a relação foi de 5,1:1 e quando adicionado 1,5% de tanino na dieta essa

relação passou a ser de 4:1. De acordo com o NRC (2001) a máxima eficiência de utilização da proteína metabolizável para manutenção e lactação ocorre quando as concentrações de Lys e Met são de 7,2 e 2,4% da proteína metabolizável, respectivamente, ou quando a relação entre estes aminoácidos é de 3:1. Estes dados indicam que no ensaio 1 a eficiência de utilização da Lys pode ter sido limitante, enquanto no ensaio 2 é possível que a eficiência de utilização da Met tenha sido limitante.

6.4 Relação entre o perfil de aminoácidos consumido e da digesta duodenal

A extensão da degradação da proteína dietética e a síntese de proteína microbiana resultam em marcadas alterações na quantidade e no perfil de aminoácidos absorvidos no intestino delgado de ruminantes comparado à composição de aminoácidos da dieta (Clark, 1975). Em se tratando de suplementos proteicos, o farelo de soja e o farelo de canola, por exemplo, têm um adequado perfil de aminoácidos para suprir as exigências de animais em crescimento ou em lactação (PIEPENBRINK e SCHINGOETHE, 1998). Porém, são fontes proteicas pobres em aminoácidos metabolizáveis devido à extensiva proteólise ruminal (GOZHO et al., 2009; NRC, 2001). À medida que a degradabilidade ruminal da fração proteica dietética for reduzida (e.g. com adição de taninos na dieta), o perfil de aminoácidos que chega ao duodeno pode ser mais semelhante ao perfil de aminoácidos consumido podendo, por exemplo, suprir as necessidades de animais de alta produção por aminoácidos.

Esta suposição pôde ser confirmada neste estudo quando a inclusão de 1,8 e 1,5% (ensaios 1 e 2, respectivamente) de extrato tanífero na dieta de bovinos se mostrou eficiente em reduzir a diferença entre o perfil de aminoácidos consumido e o perfil de aminoácidos da digesta duodenal, sendo que a variação no perfil de aminoácidos da digesta foi altamente explicada ($r^2= 0,82$ a $0,84$) pelos modelos de regressão aplicados. Sendo assim, este resultado confirma a segunda hipótese deste estudo de que os taninos têm o potencial de reduzir a proteólise no rúmen e possibilitar uma oferta de aminoácidos com um perfil próximo ou igual ao ingerido pelos animais.

Estes resultados são uma valiosa ferramenta na tentativa de melhor controlar a degradação proteica de dietas formuladas utilizando ingredientes com proteína de alto valor biológico. No entanto, deve-se ter cautela ao incluir este aditivo na dieta, pois, segundo

Makkar (2003) níveis elevados de taninos podem provocar uma mudança na quantidade de aminoácidos de origem endógena liberados no intestino delgado, e conseqüentemente, aumentar a necessidade de aminoácidos para manutenção e ampliar a diferença entre o perfil de aminoácidos consumido e da proteína metabolizável. Da mesma forma, baixos níveis de inclusão de tanino na dieta podem não reduzir suficientemente a degradação das proteínas e aminoácidos no rúmen para manter o perfil de aminoácidos como originalmente ingerido.

6.5 Perfil de aminoácidos para a síntese das proteínas do leite

A oferta de aminoácidos para o úbere para a síntese das proteínas e do leite depende da quantidade e qualidade de aminoácidos absorvidos no intestino delgado (MABJEESH et al., 1996). Segundo Clark (1975) se o perfil de aminoácidos da digesta que chega ao intestino delgado for semelhante ao perfil de aminoácidos do leite é provável que animais em lactação tenham um aumento no desempenho e na eficiência produtiva.

Embora não identificados nas figuras, é provável que dois dos AAE que compuseram os perfis tenham provocado essa maior dispersão dos dados: leucina e arginina. O aminoácido Leu apresentou-se em uma quantidade quase duas vezes maior no perfil de AAE do leite quando comparado com o perfil de AAE das digestas. Conforme Lobley et al. (1980) a proteína microbiana é rica em Tyr e Phe, porém pobre em Leu com relação a composição média das proteínas do corpo do animal. De outra forma, o aminoácido Arg apresentou-se em uma quantidade maior nas digestas que aquela secretada no leite. Clark (1975) verificou que a Arg foi absorvida pela glândula mamária em lactação em uma quantidade de duas a quatro vezes maiores que a quantidade secretada na proteína do leite.

Armentano (1994) e Bequette et al. (2003) justificam essas diferenças entre os perfis de aminoácidos absorvido e secretado no leite ao explicar que grande parte dos AANE e uma menor parte dos AAE, e em proporções variáveis entre os aminoácidos individuais, pode ser metabolizada pelo sistema visceral antes de chegar aos tecidos mamários, e mesmo na glândula mamária, a eficiência de utilização não é de 100% para todos os aminoácidos, sendo que a eficiência da Arg, por exemplo, é a mais baixa entre os AAE.

É provável que os mais baixos coeficientes de regressão obtidos no ensaio 1 tenham sido estatisticamente iguais a 1 devido aos elevados valores de EPM associado a estas estimativas. Entretanto, a inclusão de até 1,8% de extrato tanífero na dieta de vacas em

lactação pode implicar em um perfil de AAE mais adequado para a síntese das proteínas do leite quando comparado ao tratamento controle.

6.6 Perfil de aminoácidos para a síntese proteica do tecido muscular

Para que se tenha uma adequada resposta produtiva dos rebanhos de bovinos de corte ou outras categorias de bovinos em crescimento é fundamental conhecer as principais vias metabólicas destes animais e manipular adequadamente os sistemas de confecção de dietas. Em se tratando de nutrição aminoacídica Ainslie et al. (1993) afirmam que bovinos utilizam mais eficientemente a proteína para o crescimento quando o perfil de AAE ofertado no intestino delgado é mais semelhante àquele necessário para a deposição nos tecidos.

A alta relação entre os perfis de aminoácidos no ensaio 1 quando adicionado 0,9 e 1,8% de extrato tanífero, indica que ao incluir esta quantidade de extrato tanífero em dietas com esta composição é possível que a eficiência de utilização dos aminoácidos para o ganho de peso seja aumentada quando comparado com animais alimentados com as mesmas dietas, porém, livres de tanino. No ensaio 2, apesar dos perfis de aminoácidos não serem estatisticamente iguais, a inclusão de 1,5% de extrato tanífero reduz a diferença entre os perfis de aminoácidos essenciais da digesta duodenal e do tecido muscular. Dessa forma, com a inclusão de 1,5% do extrato tanífero na dieta, tanto o coeficiente de regressão demonstrou uma redução na diferença entre os perfis de aminoácidos como o coeficiente de determinação foi mais elevado dando uma maior confiabilidade à estimativa.

Porém, neste mesmo ensaio, os coeficientes de regressão indicam que existe uma maior diferença entre os perfis de aminoácidos que aquelas observadas para o ensaio 1. Isto ocorre porque os perfis de aminoácidos das digestas dos ensaios 1 e 2, provavelmente, são diferentes. Patra e Saxena (2010) relatam que estas discrepâncias entre estudos *in vivo* podem estar relacionadas à dosagem e tipo de tanino utilizado, à composição das dietas e à resistência dos microorganismos ruminais aos taninos.

7 CONCLUSÕES

A inclusão de até 1,8% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de bovinos consumindo quantidades restritas de alimentos tem o potencial de aumentar o fluxo de aminoácidos totais ao duodeno e reduzir a diferença entre o perfil de aminoácidos totais que chega ao duodeno em relação ao perfil de aminoácidos totais consumido. Além disso, a inclusão deste extrato tanífero e nesta mesma quantidade pode proporcionar uma aproximação entre o perfil de aminoácidos essenciais da digesta duodenal e o perfil de aminoácidos essenciais do leite e do tecido muscular.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSLIE, S. J. et al. Predicting amino acid adequacy of diets fed to Holstein steers. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1312-1319. 1993.

ALVES, D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 3, p. 265-271, jul.-set. 2004.

ANDRABI, S. M. et al. In vivo assessment of the ability of condensed tannins to interfere with the digestibility of plant protein in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 122, p. 13-27. 2005.

ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição Animal**. 4 ed. Vol. 1. São Paulo: Nobel, 1983. 395 p.

ARMENTANO, L. E. Impact of metabolism by extragastrointestinal tissues on secretory rate of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2809-2820. 1994

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

ATASOGLU, C.; WALLACE, R. J. Metabolism and de novo synthesis of amino acids by rumen microbes. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.), **Amino Acids in Animal Nutrition**. CABI Publishing, Cambridge, MA, p. 265–290. 2003.

AUFRÈRE, J. et al. Degradation in the rumen of lupin (*Lupinus albus* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) seed proteins - Effect of heat treatment. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 215-236. 2001.

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

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.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1990-1996. 2007.

BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4765–4777. 2008.

BEQUETTE, B. J.; HANIGAN, M. D.; LAPIERRE, H. O. Mammary uptake and metabolism of amino acids by lactating ruminants. In: D’MELLO, J. P. F. (Ed.), **Amino Acids in Animal Nutrition**. CABI Publishing, Cambridge, MA, p. 347–365. 2003.

BERNARDI, C. R. **Preparo de hidrolisados protéicos e análise de aminoácidos por duas metodologias**. 2000. 156 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

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.

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.

CARULLA, J. E. et al. 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.

CECAVA, M. J. et al. Effects of dietary energy level and protein source on site of digestion and duodenal nitrogen and amino acid flows in steers. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 961-974. 1988.

CECAVA, M. J.; PARKER, J. E. Intestinal supply of amino acids in steers fed ruminally degradable and undegradable crude protein sources alone and in combination. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1596-1605. 1993.

CHALUPA, W. Degradation of amino acids by the mixed rumen microbial population. **Journal of Animal Science**, v. 43, p. 828-834. 1976.

CHOI, C. W. et al. Quantitation of the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal of dairy cows fed grass silage based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 96, p. 203-220. 2002.

CLARK, J. H. Lactational responses to postruminal administration of proteins and amino acids. In: Symposium: protein and amino acid nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 8. 1975.

CLARK, J. K.; 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 duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 8, p. 2304-2323. 1992.

CRAIG, W. M.; BRODERICK, G. A. Amino acids released during protein degradation by rumen microbes. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 436-443. 1984.

EL-WAZIRY, A. M. et al. Processing methods of soybean meal - 2. Effect of autoclaving and quebracho tannin treated-soybean meal on gas production and rumen fermentation *in vitro*. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, suppl. (1), p. 17-24. 2007.

ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; MEISSNER, H. H. Effect of protein source on ruminal fermentation and passage of amino acids to the small intestine of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 3655-3665. 1994.

FENDERSON, C. L.; BERGEN, W. G. An assessment of essential amino acid requirements of growing steers. **Journal of Animal Science**, v. 41, n. 6. 1975.

FOX, D. G., TEDESCHI, L. O. Predicting dietary amino acid adequacy for ruminants. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.), **Amino Acids in Animal Nutrition**. CABI Publishing, Cambridge, MA, p. 389-410. 2003.

FOX, D. G. et al. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 112, p. 29-78. 2004.

FRUTOS, P. et al. Review. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 2, p. 191-202. 2004.

GOZHO, G. N. et al. Effects of type of canola protein supplement on ruminal fermentation and nutrient flow to the duodenum in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3363-3371. 2009.

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**, v. 89, p. 241-251. 2009.

HENTZ, F. et al. Intake and digestion by wethers fed a tropical grass-based diet supplemented with increasing levels of canola meal. **Livestock Science**, v. 147, p. 89–95. 2012.

KAMALAK, A. et al. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. KSU. **Journal of Science and Engineering**, v. 8, p. 84-86. 2005.

KHORASANI, G. R. et al. Digestion of soybean meal and canola meal protein and amino acids in the digestive tract of young ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 3421-3428. 1990.

KORHONEN, M.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. Effect of protein source on amino acid supply, milk production, and metabolism of plasma nutrients in dairy cows fed grass silage. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3336-3351. 2002.

KOZLOSKI, G. V.; HENTZ, F. Nutritional potential of tannin extracts for ruminants. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 19, n. 1-2, p. 11-12. 2011.

KOZLOSKI, G. V. et al. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, v. 106, p. 125–130. 2012.

LAPIERRE, H. et al. What is the true supply of amino acids for a dairy cow? **Journal of Dairy Science**, v. 89 (E. Suppl.), p. E1–E14. 2006.

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

LOBLEY, G. E. et al. Whole body and tissue protein synthesis in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 43, p. 491-502. 1980.

LÖEST, C. A. et al. Branched-chain amino acids for growing cattle limit-fed soybean hull-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2747-2753. 2001.

MABJEESH, S. J. et al. Effect of type of protein supplementation on duodenal amino acid flow and absorption in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1792-1801. 1996.

MACGREGOR, C. A.; SNIFFEN, C. J.; HOOVER, W. H. Amino acid profiles of total and soluble protein in feedstuffs commonly fed to ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 61, p. 566-573. 1978.

MAESSOMI, S. M. et al. Short communication: canola meal as a substitute for cottonseed meal in diet of midlactation Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1673-1677. 2006.

MAIGA, H. A.; SCHINGOETHE, D. J.; HENSON, J. E. Ruminant degradation, amino acid composition, and intestinal digestibility of the residual components of five protein supplements. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1647-1653. 1996.

MAKKAR, H. P. S. **Quantification of tannins in tree foliage**. FAO /IAEA Working Document IAEA, Vienna, Austria, 26 p. 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.

MARINO, R. et al. Technical note: Rapid method for determination of amino acids in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2367–2370. 2010.

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**. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, 2006.

MCNIVEN, M. A. et al. 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, C. S. et al. Microbial interactions with tannins nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 83-93. 2001.

MERCHEN, N. R.; FIRKINS, J. L.; BERGER, L. L. Effect of intake and forage level on ruminal turnover rates, bacterial protein synthesis and duodenal amino acid flows in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 216-225. 1986.

MERCHEN, N. R.; TITGEMEYER, E. C. Manipulation of amino acid supply to the growing. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3238-3247. 1992.

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

MEZZOMO, R., et al., Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet, **Livestock Science** (2011), doi:10.1016/j.livsci.2011.04.004

MIN, B. R. et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, p. 3-19. 2003.

MIN, B. R. et al. Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and in vitro and in vivo bloat precursors in steers grazing winter wheat. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2546-2554. 2006.

MUPANGWA, J. F. et al. Rumen degradability and post-ruminal digestion of dry matter, nitrogen and amino acids in three tropical forage legumes estimated by the mobile nylon bag technique. **Livestock Production Science**, v. 79, p. 37-46. 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D.C.: National Academy Press, 138p. 1985.

_____. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, DC: National Academy Press, 242 p. 1996.

_____. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, DC: National Academy Press, 381p. 2001.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 4th ed., Worth Publishers, New York, NY, 2005.

O'DONOVAN, L.; BROOKER, J. D. Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (*S. caprinus*) and *Streptococcus bovis*. **Microbiology**, v. 147, p. 1025-1033. 2001.

O'MARA, F. P.; MURPHY, J. J.; RATH, M. The amino acid composition of protein feedstuffs before and after ruminal incubation and after subsequent passage through the intestines of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1941-1949. 1997.

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

PIEPENBRINK, M. S.; SCHINGOETHE, D. J. Ruminal degradation, amino acid composition, and estimated intestinal digestibilities of four protein supplements. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 454-461. 1998.

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

RICHARDSON, C. R.; HATFIELD, E. E. The limiting amino acids in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 740-745. 1978.

ROBINSON, P. H. et al. Influence of postruminal supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids on intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2781-2792. 1999.

ROSSI Jr., P.; SAMPAIO, A. A. M.; VIEIRA, P. F. Disponibilidade e absorção de aminoácidos em bovinos alimentados com diferentes fontes de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 960-967. 2007.

RUBANZA, C. D. K. Polyphenolics and tannins effect on in vitro digestibility of selected Acacia species leaves. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p. 129–142. 2005.

SANTOS, K. A.; STERN, M. D.; SATTER, L. D. Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactating dairy cattle fed various protein sources. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 244-255. 1984.

SANTOS, F. P. Metabolismo da proteína. In: **Nutrição de ruminantes**. BERCHIELLI, T. T.; PIREZ, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Jaboticabal: Funep, 2006, 583 p.

SAS . Institute Inc. SAS Language Reference. Version 9.2. Cary, NC: SAS institute. 2009.

SCHINGOETHE, D. J. Balancing the amino acid needs of the dairy cow. **Animal Feed Science Technology**, v. 60, p. 153-160. 1996.

SCHWAB, C. G. et al. Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. 2. Extent of lysine limitation. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 3503-3518. 1992.

SCHWAB, C. G. Amino acid nutrition of the dairy cow: current status. In: **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers** New York State. College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University, Rochester, p. 184–198. 1996.

SENGER, C. C. D. et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 146, p. 169-174. 2008.

SILVA, F. F. et al. Exigências líquidas de aminoácidos para ganho de peso de nelores não-castrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.765-775. 2002.

STERN, M. D. et al. Ruminal protein degradation of corn gluten meal in lactating dairy cattle fitted with duodenal T-type cannulae. **Journal of Animal Science**, v. 56, p. 194-205. 1983.

TAMMINGA, S. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3112-3124. 1996.

THEODORIDOU, K. et al. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 160, p. 23-38. 2010.

TITGEMEYER, E. C. Amino acid utilization by growing and finishing ruminants. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.), **Amino Acids in Animal Nutrition**. CABI Publishing, Cambridge, MA, p. 329–346. 2003.

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

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

VANHATALO, A. et al. Effects of feeding grass or red clover silage cut at two maturity stages in dairy cows. 1. Nitrogen metabolism and supply of amino acids. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5620–5633. 2009.

VOLDEN, H. et al. Apparent ruminal degradation and rumen escape of lysine, methionine, and threonine administered intraruminally in mixtures to high-yielding cows. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1232-1240. 1998.

VOLDEN, H. Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1905-1918. 1999.

WAGHORN, G. C. et al. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. **British Journal of Nutrition**, v. 57, p. 115-126. 1987.

WAGHORN, G. C.; MCNABB, W. C. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 383-392. 2003.

WAGHORN, G., Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges, **Animal Feed Science and Technology**. (2007), doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.013