

RAFAEL MEZZOMO

**INCLUSÃO DE TANINO CONDENSADO EM DIETAS COM ALTO TEOR DE
CONCENTRADO PARA BOVINOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010**

RAFAEL MEZZOMO

**INCLUSÃO DE TANINO CONDENSADO EM DIETAS COM ALTO TEOR DE
CONCENTRADO PARA BOVINOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de Fevereiro de 2010

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Co-Orientador)

Prof. Mário Fonseca Paulino
(Co-Orientador)

Prof^a. Cristina Mattos Veloso

Pesq^a. Heloisa Carneiro

Prof. Pedro Veiga Rodrigues Paulino
(Orientador)

Aos meus familiares João Mezzomo, Maria Margaret Mezzomo e Nara Regina Mezzomo por terem me proporcionado suporte para todas as realizações da minha vida e por terem me dedicado muito amor e carinho. E a todos verdadeiros amigos pelo constante apoio, dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João e Marga, pelo incentivo, compreensão e exemplo de caráter e honestidade, durante todos os momentos da minha vida.

À minha irmã, Nara, pela confiança e amor a mim prestados.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial o Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da formação profissional e realização deste curso.

Ao Prof. Pedro Veiga Rodrigues Paulino pela orientação e confiança.

Ao Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho, Prof. Mário Fonseca Paulino, Prof. Cristina Mattos Veloso e Dra. Heloisa Carneiro pelas críticas construtivas para o aprimoramento deste trabalho. E aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa pela contribuição na minha formação profissional.

Aos professores da Universidade Estadual de Santa Catarina pela contribuição na obtenção do título de graduação. Em especial ao Professor André Finkler Silveira e Professora Maria Luisa Appendino Nunes.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica, Anelise, Vanessa, Leo, Jéssica, Taiane, Alexandre, Tati, Leidy, Luiz Fernando, Poliana, Igor, Thayna, Laura, Kassia, Natalia, entre outros, pelo comprometimento, grande auxílio na condução experimental, pela amizade e agradável convivência.

Aos grandes amigos Mateus e Nizio, pela vivência durante toda graduação e mestrado, me proporcionando momentos de paz, felicidade e harmonia.

Aos grandes amigos João Paulo, Ivanna, Simone e Marcio pela amizade e ensinamentos durante o curso de mestrado.

Aos amigos pós-graduando Daiany, Mateus, Gustavo, Tadeu, Jucilene, Goiano, Helô, Marcos, Fabiana, Bolão, Vitor, Luciana, Mozart, Douglas, Josi, Eric, Isis, Petrolli e tantos outros, pelo incentivo, sugestões e agradável convivência.

À todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, em especial ao Marcelo, Zezé, Pum, Joelcio e Seu Jorge pelo auxílio fundamental na realização deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA), Fundação de Amparo à Pesquisado Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), conselho nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio na execução dessa pesquisa.

À Nutron e a Silva Team pelo financiamento do experimento.

À todas as pessoas que direta e, ou, indiretamente contribuíram para realização desse trabalho o meu MUITO OBRIGADO! Vocês serão lembrados com muito respeito e carinho.

BIOGRAFIA

RAFAEL MEZZOMO, filho de João Mezzomo e Maria Margaret Mezzomo, nasceu em São Miguel do Oeste, Santa Catarina, em 04 de dezembro de 1985.

Iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa - MG, em março de 2004, concluindo em agosto de 2008.

Em agosto de 2008, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se a defesa de dissertação em 23 de fevereiro de 2010.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO 1 - Consumo, digestibilidade total e parcial e fluxo de nutrientes de novilhos de corte suplementados com tanino condensado	13
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução	15
Material e Métodos	17
Resultados e Discussão.....	23
Conclusão	36
Referências Bibliográficas	37
CAPÍTULO 2 - Parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana, eficiência protéica e balanço de nitrogênio em novilhos de corte suplementados com tanino condensado	44
Resumo.....	44
Abstract.....	45
Introdução	46
Material e Métodos	48
Resultados e Discussão.....	54
Conclusão	68
Referências Bibliográficas	69

RESUMO

MEZZOMO, Rafael, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2010. **Inclusão de tanino condensado em dietas com alto teor de concentrado para bovinos de corte.** Orientador: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Co-Orientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Mario Fonseca Paulino.

Quatro bovinos de corte, com peso corporal médio de 407 ± 12 kg, fistulados no rúmen e abomaso, foram distribuídos em um quadrado latino 4×4 , em esquema fatorial 2×2 , com o objetivo de avaliar a eficiência da inclusão de tanino condensado e/ou farelo de soja a dietas de bovinos de corte submetidos a altos níveis de concentrado sobre o consumo, digestibilidade aparente total e parcial, fluxo de nutrientes, excreção de nitrogênio e uréia pela urina, balanço de nitrogênio (BN), perfil protéico, perfil de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal e eficiência microbiana. A alimentação basal dos animais foi composta por ração contendo 87% de concentrado e constituída por milho (moído grosso), caroço de algodão, bagaço de cana *in natura* e núcleo mineral, fornecida *ad libitum*. Os quatro tratamentos foram: dieta com farelo de soja e tanino condensado (FST); dieta com farelo de soja sem tanino condensado (FS); dieta sem farelo de soja e com tanino condensado (CAT) e dieta sem farelo de soja e sem tanino condensado (CA). Como fonte de tanino condensado utilizou-se extrato de quebracho. Não se verificou efeito ($P > 0,10$) da suplementação com TC sobre o consumo de MS e de nutrientes. Verificou-se efeito positivo ($P < 0,10$) da suplementação com TC sobre a digestibilidade do extrato etéreo. Os valores de nitrogênio uréico na urina (NUU) e nitrogênio total na urina (NU) foram menores ($P < 0,10$) com a suplementação de tanino condensado. Os níveis de nitrogênio uréico no soro (NUS) não foram diferentes ($P > 0,10$) entre os tratamentos avaliados. O balanço de nitrogênio (BN) indicou que a utilização de tanino condensado melhorou a eficiência de utilização de nitrogênio ($P < 0,10$). Verificou-se efeito da interação ($P < 0,10$) entre tanino condensado e farelo de soja sobre a digestibilidade ruminal da proteína, taxa de digestão da PB, a proteína não degradada no rúmen (PNDR), a estimativa de proteína metabolizável (PM) e sobre a razão PM:PB, onde a suplementação conjunta com TC e farelo de soja reduziu a degradabilidade ruminal e, conseqüentemente, a taxa de digestão, aumentou o fluxo de PNDR e de PM e melhorou a relação PM:PB. A quantidade de proteína microbiana no abomaso e a eficiência microbiana não sofreram alterações nos tratamentos avaliados ($P > 0,10$). Não houve diferença no pH, AGV e nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) ruminal frente à adição de tanino condensado, porém, os parâmetros ruminais foram influenciados pelo tempo de coleta das amostras.

Verificou-se aumento do consumo de proteína bruta ($P < 0,10$) frente à inclusão de farelo de soja. A digestibilidade ruminal e total do extrato etéreo foi maior com a remoção do farelo de soja da dieta. A taxa de passagem da MS não diferiu entre os tratamentos avaliados. A inclusão de farelo de soja à dieta acarretou aumento ($P < 0,10$) nas taxas de digestão da MO, PB e FDNcp. Os níveis de NUU e NU foram mais elevados com a suplementação com FS. Houve aumento do N ingerido e do N excretado via urina e fezes ($P < 0,10$) quando adicionado farelo de soja à dieta, não havendo modificações no BN ($P > 0,10$). O $N-NH_3$ aumentou e o pH ruminal diminuiu com a inclusão de farelo de soja ($P < 0,10$). As concentrações de AGV não se diferenciaram com a adição de farelo de soja. Verificou-se que a utilização de tanino condensado (0,4% sobre a MS da dieta) como aditivo para bovinos de corte alimentados com dietas de alto teor de concentrado e com farelo de soja como fonte de proteína verdadeira diminuiu a taxa de digestão e degradabilidade ruminal da proteína bruta, sem alterar o consumo dos animais, implicando em efeitos positivos sobre a utilização da proteína bruta, aumentando os níveis de proteína metabolizável e diminuindo o desperdício de nitrogênio sem alterar os parâmetros ruminais, otimizando a assimilação de nitrogênio no ambiente ruminal.

ABSTRACT

MEZZOMO, Rafael, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010 **Influence of condensed tannin in beef steers fed high concentrate diet.** Advisor: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Co-advisors: Sebastião de Campos Valadares Filho, Mario Fonseca Paulino.

This trial was conducted to evaluate the effect of condensed tannin (TN) associated or not with a true protein source on intake, ruminal and total digestibility, ruminal digestion rate and urinary nitrogen excretion in beef steers fed high concentrate diet (87% of DM). Four crossbred steers (407 kg of average BW) fitted with rumen cannula were assigned to a 4x4 latin square design, arranged in a 2x2 factorial arrangement. Steers were fed a basal diet based on cracked corn, whole cottonseed, sugar-cane bagasse, mineral mixture and 1 out of four supplements: soybean meal with condensed tannin (SMT); soybean meal without condensed tannin (SM); condensed tannin without soybean meal (TN) and a treatment without both soybean meal and condensed tannin (BS). Quebracho extract were used as tannin source, included to provide 4 g of tannin/100 g of diet DM. Intake of DM and nutrients was not affected ($P>0.10$) by TN supplementation. However, there was an effect ($P<0.10$) of TN supplementation on ether extract digestibility. A smaller ($P<0.10$) concentration of urinary urea nitrogen (71.94 vs. 53.62) and total nitrogen (86.43 vs. 74.07) were observed in the animals supplemented with condensed tannin. Serum urea nitrogen concentration did not differ ($P>0.10$) among treatments. There was an interaction ($P<0.10$) between condensed tannin and soybean meal on ruminal digestibility and digestion rate of crude protein (CP), where when supplemented with soybean meal the condensed tannin reduced the ruminal digestibility of 46.92 to 33.46 and consequently, reduced the digestion rate of CP. Crude protein intake increased ($P<0.10$) with the inclusion of soybean meal in the supplement. No differences in DM passage rate were observed ($P>0.10$) among treatments. Urinary urea nitrogen and total nitrogen were higher in the animals supplemented with soybean meal. The nitrogen balance indicated that the use of TN improved the efficiency of nitrogen utilization ($P<0.10$), however, no differences were observed when soybean meal was added to the diet ($P>0.10$). There was an interaction ($P<0.10$) between condensed tannin and soybean meal supplementation on flux of rumen undegradable protein (RUP), metabolizable protein (MP) and on the ratio MP:CP. In the presence of soybean meal the addition of TN increased the flux of RUP (302.24 to 416.02), MP (540.23 to 671.03) and improved the ratio MP:CP (58.69 to 46.54). The yield of microbial protein on the abomasum and the microbial efficiency did not differ among treatments ($P>0.10$). There was no effect of TN supplementation ($P>0.10$) on ruminal pH, VFA and ammonia (N-NH_3)

concentration. N-NH₃ increased and ruminal pH decreased with the inclusion of soybean meal ($P < 0.10$) in the diet. The use of condensed tannin as an additive in cattle fed high concentrate diet using soybean meal as true protein source decreases the digestion rate and ruminal degradability of crude protein without affecting feed intake. The utilization of condensed tannin as an additive in cattle fed high concentrate diet using soybean meal as true protein source implies in positive effects on efficiency of N utilization, increasing the flux of metabolizable and decreasing nitrogen excretion with no changes in ruminal fermentation, optimizing the nitrogen assimilation by the animal.

INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade e a busca por se produzir uma carcaça de qualidade superior em um menor espaço de tempo vem crescendo no meio pecuário, estimuladas, principalmente, pelas exigências dos consumidores de carne e pela busca de um maior retorno financeiro por parte dos pecuaristas. Várias ferramentas são utilizadas para acelerar esse processo produtivo, como a suplementação protéica e energética de animais a pasto, o confinamento estratégico, a irrigação de pastagens em épocas de escassez de água e o cultivo de forrageiras de melhor qualidade. Dentre essas, o confinamento, especificamente, mostra-se em franco crescimento no Brasil. Em 2008, foram terminados mais de 2,7 milhões de animais neste sistema, o que representa um aumento de mais de 57% desde 1998 (Anualpec, 2009).

No passado recente do Brasil, dietas para confinamento, tradicionalmente, eram balanceadas com altas proporções de volumosos, devido aos altos custos dos grãos e dos concentrados protéicos. Entretanto, com os expressivos aumentos da safra agrícola brasileira e a expansão da agroindústria, aumentou-se a disponibilidade de subprodutos agroindustriais e mesmo de grãos, o que tem facilitado o uso de dietas com alto teor de concentrado nos confinamentos. Infelizmente, a inclusão de volumosos em dietas de animais em terminação em confinamento reduz a concentração energética da dieta, aumenta o custo por unidade de energia metabolizável e dificulta a manipulação e o gerenciamento de dietas em confinamentos comerciais de maior porte (Turgeon et al., 2010). Com isso, sistemas de produção baseados em confinamento, com dietas de alto grão, avançaram, visando proporcionar diminuição da idade de abate e redução do custo de arraçamento dos animais, através de rápido ganho de peso, alta eficiência de conversão alimentar, menor gasto com mão de obra, menor necessidade de armazenamento de alimentos e, geralmente, maior uniformidade no desempenho (Bulle et al., 2002), além de melhorar as características da carcaça, como área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea (Costa et al., 2005).

Entretanto, a obtenção de altos ganhos de peso em curtos períodos de tempo, como ocorre na maioria dos confinamentos comerciais brasileiros, implica em elevadas exigências nutricionais de energia e proteína, induzindo ao uso de alimentos de boa qualidade nutricional, sendo que alimentos protéicos, geralmente, representam maior custo de aquisição (Costa, 1996), levando a crer que estratégias de otimização

do uso de concentrados protéicos podem promover reduções consideráveis nos custos de produção.

Em animais ruminantes, o metabolismo digestivo, desde a ingestão até a absorção intestinal, é complexo, pois há nesse processo a presença de microrganismos vivos no rúmen, que estabelecem uma simbiose com o animal, fermentando boa parte do alimento ingerido e disponibilizando substratos ao animal. Nesse contexto, a proteína, ao ser ingerida, é subdividida em dois tipos: (i) proteína degradada no rúmen (PDR), a qual os microrganismos degradam e transformam, principalmente, em proteína microbiana (PMic) e amônia e (ii) proteína não degradada no rúmen (PNDR), a qual passa direto do rúmen para os próximos compartimentos sem sofrer interferência dos microrganismos ruminais.

A proteína microbiana sintetizada no rúmen e a PNDR são as fontes de aminoácidos que chegam ao intestino para atender as exigências protéicas dos ruminantes (NRC, 2001). Como a maior parte do nitrogênio que chega ao intestino delgado é de origem microbiana, fica claro que a eficiência de crescimento microbiano tem considerável impacto na nutrição de ruminantes (Russel et al. 1992; Rennó et al., 2000), tornando-se importante maximizar sua síntese ruminal.

No entanto, para suprir as exigências protéicas de animais em sistemas de produção que visam altos ganhos de peso, somente garantir uma ótima eficiência de síntese de proteína microbiana pode não ser suficiente, uma vez que somente a PMic pode não fornecer aminoácidos suficientes para que o animal apresente ganho de peso desejado, tendo a necessidade de dar atenção especial à PNDR. A proteína que não é degradada no rúmen tem a capacidade de aumentar a disponibilidade de aminoácidos para absorção intestinal, podendo também disponibilizar amônia para o rúmen de forma mais uniforme durante o decorrer do dia, por meio da reciclagem de uréia, resultante da deaminação que ocorre no fígado, sem a ocorrência de picos de amônia ruminal, como acontece quando a dieta é rica em PDR. Tal fato evita que ocorram grandes perdas de nitrogênio via urina, pois, como o pico de concentração de amônia ruminal não é tão elevado, não se observam momentos de excesso de uréia no sangue, fazendo com que a excreção de uréia pela urina seja diminuída (Atkison et al., 2007).

Segundo Van Soest (1994) e Lazzarini et al. (2009), as necessidades mínimas dos microrganismos ruminais para que haja boa degradabilidade ruminal dos alimentos e bom desenvolvimento da flora microbiana é uma dieta, fornecida *ad*

libitum, com 7 a 8% de proteína bruta (PB). De modo geral, quando uma dieta é balanceada para que os animais atinjam ganho médio diário (GMD) superior a 1,8 kg, observa-se que as exigências protéicas são superiores a 13% de PB na matéria seca (MS) da ração (NRC, 2000), dando a entender que os microrganismos estão sendo supridos, com sobra de proteína verdadeira oriunda da dieta, a qual passaria para o intestino delgado intacta, caracterizando a PNDR. Entretanto, quando se fornecem altos níveis de PB, não somente o necessário para o desenvolvimento pleno dos microrganismos é utilizado, pois quase toda a proteína está disponível para degradação e a atividade microbiana no rúmen é intensa.

A conversão de proteína dietética em proteína microbiana possui uma ineficiência de cerca de 10% (NRC, 1996), pois, no processo de degradação, os microrganismos utilizam a proteína para seu crescimento, convertendo proteína da dieta em proteína microbiana ou desaminam-as, liberando esqueletos de carbono e amônia. Esses dois produtos resultantes da fermentação microbiana têm sua importância no ambiente ruminal, principalmente frente à digestão de fibras. A amônia é reutilizada por outros microrganismos ruminais para síntese de proteína microbiana, ou pode ser absorvida via epitélio ruminal indo para corrente sanguínea. Ao passar pelo fígado é metabolizada para a formação de uréia, que poderá retornar ao rúmen via saliva, ou ainda ser eliminada na urina, representando perdas. Além das perdas diretas através da excreção, a uréia sérica possui custos energéticos relacionados à sua síntese no fígado (Alves, 2004). Devido aos processos metabólicos supracitados não seria interessante uma degradação excessiva, sendo o ideal ter degradação protéica apenas para que as necessidades microbianas máximas sejam atingidas.

Quando a dieta tem baixa quantidade de proteína, é desejável que esta seja degradada no rúmen e, com isso, convertida em proteína microbiana, pois essa possui um excelente perfil aminoacídico. Entretanto, quando se trata de dietas com maiores teores de PB, deve-se minimizar relativamente sua degradação ruminal, de modo que parte da proteína seja digerida no intestino delgado, evitando possíveis perdas de aminoácidos no rúmen, decorrentes da fermentação microbiana. Para isso, procura-se fornecer alimentos com PNDR mais elevada (Prado et al., 2004; Zeoula et al., 2006; Atkinson et al., 2007; Caldas Neto et al., 2007, 2008) ou proteger parte da proteína dietética para que não ocorram desperdícios.

O uso de aminoácidos (AA) protegidos já foi foco de pesquisas (Wright & Loerch, 1998; Sancanari et al., 2001) para melhorar e aumentar a PNDR das dietas, sendo que os principais métodos usados pela indústria para proteger os AA são: 1)

produção de AA análogos (Metionina hidróxi-análoga; Hidroximetil DL-Metionina cálcica; Monoplus di-N-hidroximetil-L-Lisina cálcica, etc.), que são mais estáveis nas condições ruminais; 2) recobrimento com gordura, misturas de gordura e proteína protegidas com formaldeído e sabões cálcicos de ácidos graxos de cadeia longa; 3) encapsulamento com compostos poliméricos resistentes à degradação ruminal, mas que são hidrolisados no abomaso (Alves, 2004). No entanto, estratégias de proteção de aminoácidos em laboratório, geralmente, são caras, inviabilizando seu uso em sistemas de produção comerciais.

Por isso, algumas linhas de pesquisa se direcionam para produtos alternativos, que apresentem funções similares aos aminoácidos protegidos, porém, com menor custo, como, por exemplo, o emprego de tanino condensado.

Os taninos são polímeros fenólicos solúveis em água, resultantes do metabolismo secundário das plantas (Guimarães-Beelen et al., 2006), podendo ser encontrados nas folhas, na casca, no fruto, nas sementes e na seiva, estando principalmente nos vacúolos das células, onde não interferem no metabolismo da planta. Apresentam alto peso molecular, entre 500 a 3000 Da, e formam ligações cruzadas com proteínas por meio de grupos hidroxilafenólicos. Quando se encontram na forma não oxidada, reagem com proteínas, formando ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio e, quando oxidados, se transformam em quinonas, formando ligações covalentes com alguns grupos funcionais das proteínas (Nozella, 2001). Algumas madeiras apresentam teor de polifenóis acima de 35%, como o cerne do quebracho (Long, 1991), a casca de Acácia Negra e de espécies provenientes de manguezais (Lelis & Gonçalves, 2001).

Para as plantas, os taninos constituem um meio de defesa contra bactérias, fungos, vírus, estresse ambiental e ingestão por herbívoros (Guimarães-Beelen et al., 2006). Na indústria, a principal utilidade dos taninos é no curtimento de couro, pois possuem capacidade de se ligar à proteínas da pele e impedir a putrefação (Nozella, 2001).

Os taninos podem ser classificados da seguinte forma: 1) taninos hidrolisáveis, que, após hidrólise, produzem carboidratos e ácidos fenólicos; e 2) taninos condensados (TC) ou não hidrolisáveis, que são resistentes à hidrólise. Também conhecidos como proantocianidinas, os taninos condensados são constituídos por unidades flavanol; flavan-3-ols (catequina) ou flavan 3,4-diols (leucoantocianidina). Possuem estruturação complexa, mas podem ser solúveis em solventes orgânicos

aquosos, dependendo do tamanho da sua estrutura, que pode conter de duas a cinquenta unidades flavonóides (Battestin et al., 2004).

Na nutrição animal, geralmente, os taninos são vistos como prejudiciais, pois podem provocar redução da ingestão de matéria seca (MS) devido à adstringência, fazem ligações com as proteínas da dieta, se complexam com enzimas digestivas, fazem interações negativas com o trato digestivo e possuem efeitos tóxicos diretos (Cabral Filho et al., 2005).

No entanto, essas situações apenas têm sido observadas quando a ração consumida pelo animal contém níveis acima de 3% de tanino condensado na base da matéria seca (Makkar, 2003).

Quando administrados em níveis adequados podem, exercer efeitos benéficos na utilização de nutrientes, na saúde e na produção animal, reduzindo a taxa de degradabilidade ruminal da proteína (Frutos et al., 2000; Hervás, 2001; Lelis & Gonsçalves, 2001; Battestin et al., 2004; Hervás et al., 2004; Alves et al., 2006), a incidência de timpanismo ruminal (Clarke & Reid, 1972), a emissão de gases via eructação (Puchala et al., 2005; Beauchemin et al., 2007) e exercendo função anti-helmíntica (Min & Hart, 2003). Waghorn & Shelton (1995) e Alves et al. (2006), utilizando níveis de TC em torno de 0,5% da MS da dieta, não encontraram decréscimos no consumo voluntário dos animais, sugerindo que esses níveis seriam aconselhados para utilização de TC como aditivo.

Possivelmente, a redução da degradabilidade da proteína é um dos efeitos dos taninos mais conhecidos e mais publicados na literatura (Barry et al., 1986; Waghorn & Shelton, 1995; Barry & McNabb, 1999; Komolong et al., 2001; McSweeney et al., 2001), sendo esta a principal causa dos seus benéficos efeitos biológicos (Min & Hart, 2003). Essa complexação depende de pH e, sendo assim, é reversível. Quando o pH do meio está entre de 3,5 e 7,0 a complexação é efetiva, mas, quando o pH cai para menos de 3,5 as ligações se quebram e as proteínas se tornam novamente livres (Nozella, 2001). O rúmen possui pH normal entre 6,0 e 7,0 (Furlan et al., 2006), por isso as proteínas se complexam com os taninos nesse ambiente. No abomaso, no entanto, o pH normalmente se encontra abaixo de 3,0 (Furlan et al., 2006), liberando novamente as proteínas e deixando-as livres para que possam ser digeridas e absorvidas no intestino delgado.

A diminuição da taxa de degradação ruminal da proteína, através do uso de tanino condensado, indica um possível aumento na proteína não degradada no rúmen

(PNDR), e, com isso, um aumento do fluxo de proteína metabolizável (PM), desde que a síntese de PMic no rúmen e a digestibilidade intestinal da PNDR não sejam prejudicadas pela inclusão de tanino. O aumento da PM, sem alteração da PB da dieta, pode trazer grandes impactos benéficos para o pecuarista, pois ocorre melhora na eficiência de uso da proteína dietética, o que representa redução dos custos com alimentação dos animais. Como já destacado anteriormente, dietas para ocasionar altos desempenhos exigem fontes protéicas de excelente valor biológico, que sejam suficientemente degradáveis no rúmen para atingir as necessidades microbianas e que tenham boa quantidade de PNDR e sejam de bom perfil aminoacídico.

Geralmente, alguns subprodutos agroindustriais de custos acessíveis aos produtores, possuem menor digestibilidade da proteína bruta (DPB) como, por exemplo, o caroço de algodão que apresenta DPB de 68,71%, enquanto o farelo de soja apresenta 95,97% de DPB (Valadares Filho et al., 2006). Frente a isso, o uso de tanino condensado junto com esse tipo de alimento poderia diminuir a relação proteína bruta/proteína metabolizável (PB/PM) e, talvez, causar ganhos semelhantes aos obtidos quando se utilizam fontes protéicas de alto valor biológico, como, por exemplo, o farelo de soja.

Loyola et al. (1998), em experimento *in vitro* com solução de pepsina ácida e solução tampão fosfato contendo pancreatina, observaram que a digestibilidade intestinal da PNDR aumentou de 35,9 para 40,7%, quando foi adicionado 15% de tanino de acácia negra ao farelo de canola, mostrando que, além do possível aumento na quantidade de PNDR, o tanino condensado também pode aumentar a digestibilidade intestinal da proteína.

Aharoni et al. (1998) indicaram que os efeitos dos TC nas características de degradação ruminal se devem, fundamentalmente, a um menor ritmo de degradação em virtude da privação de substratos para os microrganismos, como consequência dos complexos formados entre os taninos condensados e as proteínas, fazendo com que fiquem, dessa forma, inacessíveis aos microrganismos ruminais (Mangan, 1988; McAllister et al., 1994).

Muitos trabalhos têm comprovado a diminuição da degradabilidade da proteína bruta no rúmen em função do uso de tanino, sendo a maioria baseada em ensaios *in situ* (Min et al., 2006) ou *in vitro* (Loyola et al., 1998; Battestin et al., 2004; Guimarães-Beelen et al., 2006), os quais sugerem que há um possível aumento da PM da dieta, quando se inclui tanino condensado. Porém, métodos *in vitro* apenas simulam a

dinâmica ruminal, com algumas limitações principalmente no que diz respeito a movimentos peristálticos do trato gastrintestinal, ruminação dos animais, entrada de nutrientes e saída de produtos, variações no pH, concentração de produtos da fermentação e temperatura. Por outro lado, os métodos *in situ* mostram-se um pouco mais próximos do real, porém, ainda com limitações, principalmente frente à ruminação animal (Singer, 2007). Devido a isso, ensaios de digestibilidade e degradabilidade *in vivo* se tornam muito importantes, entretanto são menos usados, pois geralmente possuem alto custo e apresentam dificuldades de execução.

Os taninos condensados, quando adicionados às dietas, podem exercer efeito sobre a incidência e o grau de timpanismo nos animais. Quando fornecidas dietas de alta degradabilidade protéica e com grande quantidade de carboidratos solúveis, a rápida liberação de proteína solúvel no interior do rúmen promove aumento da formação de polissacarídeos, o que pode aumentar a tensão superficial e a viscosidade do líquido ruminal, fazendo com que as bolhas de gases presentes na espuma persistam dispersas na digesta por longos períodos e não se desfaça, impossibilitando a eliminação dos gases, caracterizando, portanto, o timpanismo espumoso (Clarke & Reid, 1972). O tanino é capaz de alterar a taxa de proteólise, fazendo com que a atividade microbiana diminua e, conseqüentemente, reduzindo a liberação imediata de polissacarídeos e a incidência ou o grau de timpanismo (Clarke & Reid, 1972). Min et al. (2006) observaram um decréscimo linear na incidência de timpanismo com o aumento da suplementação com tanino condensado.

O extrato de quebracho comercial utilizado é uma combinação de taninos condensados e compostos simples (Iason & Murray, 1996) extraído do quebracho (*Schinopsis* sp.). Seu conteúdo de tanino condensado é de aproximadamente 76%, sendo os outros 24% compostos por outros fenóis e cinzas. Iason & Murray (1996) relataram que esses compostos fenólicos simples também poderiam exercer algum efeito sobre a degradação ruminal, visto que, como os taninos condensados, alguns deles também possuem alta afinidade pelos grupos peptídicos das proteínas. Por esta razão, o extrato de quebracho é amplamente utilizado (Makkar et al., 1995; Salawu et al., 1997a; 1997b) como composto “modelo” de TC, sendo que os resultados observados podem ser atribuídos aos seus efeitos.

É conveniente ressaltar que os resultados encontrados na literatura acerca dos efeitos dos TC sobre a digestibilidade dos componentes da dieta são consideravelmente variáveis, provavelmente, devido à elevada variedade entre a estrutura dos taninos, as doses utilizadas e as espécies animais utilizadas.

Aumento da eficiência de síntese de proteína microbiana e diminuição da degradabilidade da proteína dietética no rúmen são benéficos para ruminantes para fins de produção, resultando em maior produção de leite, carne e lã e/ou em menor custo de produção. Além disso, esses efeitos levam a efeitos poupadores de proteínas em ruminantes, reduções na produção de metano e excreção de nitrogênio para o ambiente, reduzindo assim a emissão de poluentes ambientais.

Neste contexto, de acordo com os pressupostos aqui apresentados, definiu-se como objetivo, nessa dissertação, avaliar a eficiência da inclusão de tanino condensado a dietas de bovinos de corte submetidos a altos níveis de concentrado, com diferentes fontes protéicas, sobre a perfil protéico, consumo, digestibilidade aparente total e parcial, fluxo de nutrientes, perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal, eficiência microbiana e balanço de nitrogênio.

Os trabalhos a seguir foram redigidos seguindo as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHARONI, Y.; GILBOA, N.; SILANIKOVE, N. Models of suppressive effect of tannins. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. **Animal Feed Science and Technology**, v.71, n.3-4, p.251-267, 1998.
- ALVES, A. R. ; GUIMARÕES-BEELEN, P.M. ; GONZAGA NETO, S. et al. Consumo e digestibilidade do feno de sabiá por caprinos e ovinos recebendo suplementação com polietilenoglicol. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, p.1-4, 2006.
- ALVES, D.D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.3, p.265-271, 2004.
- ANUALPEC 2009. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Angra FNP Pesquisas, 2009. 360p.
- ATKINSON, R. L., TOONE, C. D.; LUDDEN. P. A. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on site and extent of digestion and ruminal characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.85, n.12, p.3322–3330, 2007.
- BARRY, T.N.; MANLEY, T.R.; DUNCAN, S.J. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influence by dietary reactive tannin concentration. **British Journal of Nutrition**, v.55, n.1, p.123-137. 1986.
- 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, n.4, p.263-272, 1999.
- BATTESTIN, V., MATSUDA, L.K., MACEDO, G.A. Fontes e aplicação de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n.1, p.63-72, 2004.
- BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S.M.; MARTINEZ, T.F. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions for cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.8, p.1990-1996, 2007.
- BULLE, M.L.M; RIBEIRO, F.G.; LEME, P.R. et al. Desempenho de tourinhos cruzados em dietas de alto teor de concentrado com bagaço de cana-de-açúcar como único volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.444-450, 2002.
- CABRAL FILHO, S.L.S., ABDALLA, A.L., BUENO, I.C.S. et al. Ruminal fermentation and degradability of sorghum cultivar whole crop, and grains, using an in vitro gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**. v.123-124, n.1 , p.329-339. 2005.
- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; KAZAMA, R. Proteína degradável no rúmen associada a fontes de amido de alta ou baixa degradabilidade: digestibilidade *in vitro* e desempenho de novilhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.452-460, 2007.

- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1094-1102, 2008.
- CLARKE, R. T. J., REID C. S. W. Foamy bloat of cattle. A Review. **Journal of Dairy Science**, v.57, n.7, p.753-785, 1972.
- COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, digestibilidade e características de carcaça de novilhos zebuínos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.268-279, 2005.
- COSTA, J.C.B. **Otimização de arraçamento do sistema de produção de carne bovina em confinamento**. 1996. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 1996. 122p.
- FRUTOS, P., HERVÁS, G., GIRÁLDEZ F. J. et al. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.134, n.1, p. 101-108, 2000.
- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T. B.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes** 1.ed. Jaboticabal: FUNEP, SP. p.1-21. 2006.
- GUIMARÃES-BEELLEN, P.M., BERCHIELLI, T.T., BUDDINGTON, R. et al. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-arido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.910-917, 2006.
- HERVÁS, G. **Los taninos condensados de quebracho en la nutricion de ovejas. Efecto sobre la fermentacion en el rumen y la digestibilidad, toxicidad y utilización como protectores frente a la degradación ruminal**. Tese (Ph.D). Universidad de Leon, Leon. Espanha. 212p, 2001.
- HERVÁS, G., FRUTOS, P., MANTECÓN, A. R. et al. Effect of the administration of quebracho extract on rumen fermentation and diet digestibility in sheep. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2; n.1, p. 63-70. 2004.
- IASON, G.R.; MURRAY, A.H. The energy costs of ingestion of naturally occurring nontannin plant phenolics by sheep. **Physiological Zoology**, v.69, n.3, p.532-546, 1996.
- KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G.; McNEILL, D.M. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, n.1-2, p.59-72, 2001.
- LAZZARINI, I, DETMANN, E; SAMPAIO, C.B. et al. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.10, p.2021-2030, 2009.
- LELIS, C. C. R.; GONÇALVES, A . C. Teores de taninos da casca da madeira de cinco leguminosas arbóreas. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1, p.167-173, 2001.

- LONG, R. Quebracho based polyphenols for use in Wood panel adhesive system. **Holz als Roh-und Werkstoff**, v.49, n.12, p.485-487, 1991.
- LOYOLA, V.R.; SANTOS, T.S.; ZEOULA, M.L. et al. Digestibilidade *in vitro* do farelo de canola tratado com calor e, ou, tanino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.1037-1041, 1998.
- MAKKAR, H.P.S. Effects and fates of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, n.3, p.241-256, 2003.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; ABEL, H. et al. Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.69, n.4, p.495-500, 1995.
- MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, v.1, n.1, p.209-231, 1988.
- McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.72, n.11, p.3004-3018, 1994.
- McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1, p.83-93, 2001.
- MIN, B.R.; HART, S.P. Tannins for suppression of internal parasites. **Journal of Animal Science**, v.81, n.1-4, p.E102-109, 2003.
- MIN, B.R.; PINCHAK, W.E.; ANDRESON, R.C. et al. Effects of condensed tannins supplementation level on weigh gain and *in vitro* and *in vivo* bloat precursors in steers grazing winter wheat. **Journal of Animal Science**, v.84, n.9, p.2546-2554, 2006.
- NOZELLA, E.F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP. 2001.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7ed. Washington, D.C.: 348p. 2000.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7ed. Washinton, D.C.: 381p. 2001.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; CALDAS NETO, S.F. Digestibilidade dos nutrientes de dietas com diferentes níveis de proteína degradável no rúmen e fonte de amido de alta degradabilidade ruminal em ovinos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, n.4, p.521-527, 2004.
- PUCHALA, R.; MIN, B.R.; GOETSCH, A.L. et al. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal of Animal Science**, v.83, n.1, p.182-186, 2005.

- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n. 4, p.1223-1234, 2000.
- RUSSEL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: I - Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3551-3581, 1992.
- SALAWU, M.B.; ACAMOVIC, T.; STEWART, C.S. et al. Assessment of the nutritive value of *Calliandra calothyrsus*: *in sacco* degradation and *in vitro* gas production in the presence of Quebracho tannins with or without Browse plus. **Animal Feed Science and Technology**, v.69, n.1-3, p.219-232, 1997b.
- SALAWU, M.B.; ACAMOVIC, T.; STEWART, C.S. et al. Quebracho tannins with or without Browse Plus (a commercial preparation of polyethylene glycol) in sheep diets: effect on digestibility of nutrients *in vivo* and degradation of grass hay *in sacco* and *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v.69, n.1-3, p.67-78, 1997a.
- SANCANARI, J.B.D.; EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L. et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.286-294, 2001.
- SINGER, C.C.D.; MUHLBACH, P.R.F.; SANCHEZ, L.M.B. et al. Comparação entre métodos químicos, *in situ* e *in vitro* para a estimativa do valor nutritivo de silagens de milho. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.835-840, 2007.
- TURGEON, O.A.; SZASZ, J.I.; KOERS, W.C. et al. Manipulating grain processing method and roughage level to improve feed efficiency in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.284-295, 2010.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CAPELLE, E.R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos (CQBAL 2.0)**. 2.ed. Viçosa, MG. 2006, 329p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.
- WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D. Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* value of ryegrass (*Lolium perenne*) fed to sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, n.2, p.291-297, 1995.
- WRIGHT, M.D.; LOERCH, S.C. Effects of rumen-protected amino acids on ruminant nitrogen balance, plasma amino acids concentration and performance. **Journal of Animal Science**, v.66, n.8, p.2014-2027, 1998.
- ZEOULA, L.M.; FERELI, F.; PRADO, I.N. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2179-2185, 2006.

CAPITULO 1 - Consumo, digestibilidade total e parcial e fluxo de nutrientes de novilhos de corte suplementados com tanino condensado

RESUMO - Quatro bovinos de corte, com peso corporal médio de 407 ± 12 kg, fistulados no rúmen e abomaso, foram distribuídos em um quadrado latino 4×4 em esquema fatorial 2×2 , com o objetivo de avaliar a eficiência da inclusão de tanino condensado a dietas de bovinos de corte submetidos a altos níveis de concentrado, variando a fonte protéica (farelo de soja ou caroço de algodão), sobre o consumo, digestibilidade aparente total e parcial, fluxo de nutrientes e excreção de nitrogênio e uréia pela urina. A alimentação basal dos animais foi composta por ração contendo 87% de concentrado e constituída por milho (moído grosso), caroço de algodão, bagaço de cana *in natura* e núcleo mineral, fornecida *ad libitum*. Os quatro tratamentos foram: dieta com farelo de soja e tanino condensado (FST); dieta com farelo de soja sem tanino condensado (FS); dieta sem farelo de soja e com tanino condensado (CAT) e dieta sem farelo de soja e sem tanino condensado (CA). Como fonte de tanino condensado utilizou-se extrato de quebracho. Não foi verificado efeito ($P > 0,10$) da suplementação com TC sobre o consumo de MS e de nutrientes. Verificou-se efeito positivo ($P < 0,10$) da suplementação com TC sobre a digestibilidade do extrato etéreo. Os valores de nitrogênio uréico na urina (NUU) e nitrogênio total na urina (NU) foram menores ($P < 0,10$) com a suplementação de tanino condensado. Os níveis de nitrogênio uréico no soro (NUS) não foram diferentes ($P > 0,10$) entre os tratamentos avaliados. Verificou-se efeito da interação ($P < 0,10$) entre tanino condensado e farelo de soja sobre a digestibilidade ruminal da proteína bruta (PB) e taxa de digestão da PB, sendo que a suplementação conjunta com TC e farelo de soja (FS) reduziu a taxa de digestão e, conseqüentemente, a degradabilidade ruminal da PB. Verificou-se aumento do consumo de proteína bruta ($P < 0,10$) frente à inclusão de farelo de soja. As digestibilidades ruminal e total do extrato etéreo foram maiores com a remoção do farelo de soja da dieta. A taxa de passagem da MS não diferiu entre os tratamentos avaliados. A inclusão de farelo de soja à dieta acarretou em aumento ($P < 0,10$) nas taxas de digestão da MO, PB e FDNcp e diminuição da taxa de digestão do EE. Os níveis de NUU e NU foram mais elevados com a suplementação com FS. Verificou-se que a utilização de tanino condensado (0,4% da MS total da dieta) como aditivo para bovinos de corte alimentados com dietas de alto teor de concentrado e com farelo de soja como fonte de proteína verdadeira diminui a taxa de digestão e degradabilidade ruminal da proteína bruta, sem alterar o consumo dos animais.

Palavras chave: caroço de algodão, extrato de quebracho, farelo de soja.

Influence of condensed tannin on intake, ruminal and total digestibility, rate of digestion, and excretion of urea and total nitrogen in urine of beef steers fed high concentrate diet

ABSTRACT - This trial was conducted to evaluate the effect of condensed tannin (TN) associated or not with a true protein source on intake, ruminal and total digestibility, ruminal digestion rate and urinary nitrogen excretion in beef steers fed high concentrate diet (87% of DM). Four crossbred steers (407 kg of average BW) fitted with rumen cannula were assigned to a 4x4 latin square design, arranged in a 2x2 factorial arrangement. Steers were fed a basal diet based on cracked corn, whole cottonseed, sugar-cane bagasse, mineral mixture and 1 out of four supplements: soybean meal with condensed tannin (SMT); soybean meal without condensed tannin (SM); condensed tannin without soybean meal (TN) and a treatment without both soybean meal and condensed tannin (BS). Quebracho extract were used as tannin source, included to provide 4 g of tannin/100 g of diet DM. Intake of DM and nutrients was not affected ($P>0.10$) by TN supplementation. However, there was an effect ($P<0.10$) of TN supplementation on ether extract digestibility. A smaller ($P<0.10$) concentration of urinary urea nitrogen (71.94 vs. 53.62) and total nitrogen (86.43 vs. 74.07) were observed in the animals supplemented with condensed tannin. Serum urea nitrogen concentration did not differ ($P>0.10$) among treatments. There was an interaction ($P<0.10$) between condensed tannin and soybean meal on ruminal digestibility and digestion rate of crude protein (CP), where when supplemented with soybean meal the condensed tannin reduced the ruminal digestibility of 46.92 to 33.46 and consequently, reduced the digestion rate of CP. Crude protein intake increased ($P<0.10$) with the inclusion of soybean meal in the supplement. No differences in DM passage rate were observed ($P>0.10$) among treatments. Urinary urea nitrogen and total nitrogen were higher in the animals supplemented with soybean meal. The use of condensed tannin as an additive in cattle fed high concentrate diet using soybean meal as true protein source decreases the digestion rate and ruminal degradability of crude protein without affecting feed intake.

Key words: quebracho extract, soybean meal, whole cottonseed.

Introdução

Na tentativa de aumentar a produtividade e/ou reduzir custos de produção, busca-se conhecer todos os fatores que influenciam o consumo, degradabilidade, digestibilidade e eficiência de uso dos alimentos e quais, em cada caso, limitam a resposta animal (Paulino, 2001), sendo um dos pontos fundamentais a eficiência de utilização da proteína, a qual, em muitos casos, é o fator limitante da expressão ótima do desempenho em bovinos de corte criados em condições tropicais.

Quando a dieta tem baixa quantidade de proteína, é desejável que esta seja degradada no rúmen e, com isso, convertida em proteína microbiana, pois essa possui um excelente perfil aminoacídico. Entretanto, quando se trata de dietas com maiores teores de proteína bruta, deve-se minimizar relativamente sua degradação ruminal, de modo que parte da proteína seja digerida no intestino delgado, evitando possíveis perdas de aminoácidos no rúmen decorrentes da fermentação microbiana, pois a transformação de proteína bruta dietética em proteína microbiana possui uma ineficiência de cerca de 10% (NRC, 2000). Desse modo, não seria interessante uma degradação excessiva, sendo o ideal ter degradação ruminal proteica apenas para que as necessidades microbianas máximas sejam atingidas. Para isso, procura-se fornecer alimentos com menor degradabilidade ruminal da fração proteica (Prado et al., 2004; Zeoula et al., 2006; Atkinson et al., 2007; Caldas Neto et al., 2008) ou proteger parte da proteína dietética para que não ocorram desperdícios.

De modo geral, técnicas para aumentar a proteína não degradada no rúmen (PNDR) da dieta são caras ou ineficientes. O tanino condensado é historicamente conhecido como um fator antinutricional por provocar adstringência no animal e, com isso, reduzir o consumo. Entretanto, quando usado em baixas concentrações na dieta, traz importantes benefícios, como aumento de proteína não degradada no rúmen (PNDR) e, até mesmo, segundo alguns estudos, acarreta redução da produção de metano (Woodward et al., 2001; Makkar, 2003; Morais et al., 2006). Esse aumento de PNDR se explica pela complexação do tanino com a proteína, que acontece por meio de ligações de hidrogênio, impedindo, assim, sua degradação ruminal. Com isso, parte da proteína dietética chega intacta ao abomaso. Essa complexação depende de pH e, sendo assim, é reversível. Quando o pH do meio está entre de 3,5 e 7,0 a complexação é efetiva, mas quando o pH cai para menos de 3,5 as ligações se quebram e as proteínas se tornam novamente livres (Nozella, 2001). O pH abomasal,

bem mais ácido que o ruminal, ocasiona o rompimento das ligações entre tanino e proteína, fazendo com que a proteína seja, então, digerida no abomaso para que, posteriormente, ocorra a absorção de aminoácidos ao longo do intestino delgado. Desse modo, o animal consegue aproveitar de forma muito mais eficiente a proteína, que é um dos mais caros constituintes da dieta, melhorando a eficiência de sua utilização.

A diminuição da taxa de degradação ruminal da proteína indica um possível aumento do fluxo de PNDR e, conseqüentemente, de proteína metabolizável (PM), desde que a síntese de proteína microbiana e a digestibilidade intestinal da fração protéica não sejam afetadas pela inclusão de tanino à dieta. O aumento da PM, sem alteração da PB da dieta, pode trazer grandes impactos benéficos para o pecuarista, pois ocorre uma melhora na eficiência protéica. Conforme discutido anteriormente, dietas elaboradas para dar suporte a elevados desempenhos exigem fontes protéicas de excelente valor biológico, ou seja, de bom perfil aminoácido, que sejam suficientemente degradáveis no rúmen para atender as necessidades microbianas e que tenham uma boa quantidade de PNDR.

Objetivou-se, portanto, avaliar os efeitos da suplementação com tanino condensado sobre o consumo, digestibilidade total e parcial e fluxo de nutrientes, concentração de uréia no soro e excreção de uréia e nitrogênio na urina de bovinos de corte alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada entre fevereiro e junho de 2009.

Foram utilizados quatro bovinos, zebuínos, machos não-castrados, fistulados no rúmen e abomaso, segundo técnica descrita por Leão & Coelho da Silva (1980), com peso corporal (PC) médio de 407 ± 12 kg e idade média de 24 meses, distribuídos em delineamento experimental em quadrado latino 4 x 4. Ao longo do período experimental, foram mantidos em confinamento do tipo *tie stall*, em baias individuais cobertas, dotadas de comedouro de alvenaria, com 3x3 m de área, piso de cimento e bebedouros automáticos.

Inicialmente, todos os animais foram pesados, identificados, vermifugados contra ecto e endoparasitas e submetidos a um período de adaptação à dieta com alta proporção de concentrado, no qual as quantidades ofertadas de MS foram paulatinamente aumentadas, desde 1% do PC até que o consumo voluntário fosse atingido, aumentando-se 0,2% do PC em MS a cada três dias. Caracterizou-se como consumo voluntário o momento em que as sobras remanescentes no cocho estivessem em torno de 10% da MS fornecida, fato ocorrido no 15º dia.

A alimentação basal foi composta de ração contendo 87% de concentrado, com base na MS total da dieta. O volumoso foi constituído de bagaço de cana *in natura* moído e os concentrados foram formulados à base de milho moído grosso (peneira de 6 mm), farelo de soja, caroço de algodão e núcleo mineral, conforme a Tabela 1. A composição química das dietas e dos ingredientes é apresentada na Tabela 2.

Os tratamentos experimentais consistiram da inclusão ou não de 0,4% de tanino condensado purificado de quebracho, na MS total da dieta, de forma a permitir a ingestão de aproximadamente 1 g de TC por cada 10 kg de PC e uso ou não de farelo de soja como fonte de proteína verdadeira. Dessa forma, quatro tratamentos experimentais foram avaliados: (i) dieta com farelo de soja e tanino condensado (FST); (ii) dieta com farelo de soja e sem tanino condensado (FS); (iii) dieta sem farelo de soja e com tanino condensado (CAT) e (iv) dieta sem farelo de soja e sem tanino condensado (CA).

Tabela 1 - Proporção de ingredientes nas dietas experimentais, em percentual na base da matéria seca

Ingrediente	Dieta experimental (% da MS)	
	Sem farelo de soja	Com farelo de soja
Bagaço de cana	13,0	13,0
Milho Grão (peneira 6 mm)	67,1	67,4
Farelo de soja	-	5,0
Uréia	1,4	1,25
Caroço de algodão	15,0	9,9
Núcleo mineral ¹	3,4	3,4

¹/Composição (%): fosfato bicálcico, 41,66; sal comum, 56,79; sulfato de cobre, 0,20; sulfato de zinco, 1,19; iodato de potássio, 0,03; sulfato de cobalto, 0,05; e selenito de sódio, 0,08. Níveis de garantia (por kg do núcleo): fósforo, 31,5 g; enxofre, 31 g; sódio, 95 g; magnésio, 50 g; manganês, 1200 mg; zinco, 3000 mg; ferro, 600 mg; cobre, 600 mg; iodo, 36 mg; selênio, 10 mg; flúor, 315 mg (no máximo).

Tabela 2 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos (CNF) das dietas experimentais e dos ingredientes utilizados, com base na matéria seca

Nutriente	Dieta experimental	
	Sem farelo de soja	Com farelo de soja
MS (%)	80,11	80,05
MO	95,00	94,94
PB	13,59	14,94
EE	5,42	4,47
FDNcp	28,32	27,06
CNF	50,22	50,74

Nutriente	Ingrediente			
	Bagaço de cana	Milho	Farelo de soja	Caroço de algodão
MS (%)	47,96	86,15	87,23	88,34
MO	92,58	99,07	93,49	96,70
PB	1,93	9,00	50,26	23,72
EE	0,92	3,15	2,23	19,28
FDNcp	82,81	11,25	8,12	46,17
CNF	6,92	75,67	32,88	7,53

Como fonte de tanino condensado foi utilizado extrato de quebracho, com pureza de 76%, sendo os restantes 24% compostos por outros fenóis e cinzas. Os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia, às 08:00 hs e ajustados de forma a manter as sobras entre 5 e 10% do fornecido, para garantia de consumo *ad libitum* de alimentos pelos animais, com água permanentemente à disposição.

O TC foi pré-misturado ao núcleo mineral, à uréia e ao farelo de soja no tratamento FST. No tratamento CAT, a pré-mistura foi apenas composta pelo núcleo mineral, uréia e tanino condensado. Para os tratamentos sem tanino condensado foram feitas pré-misturas com o núcleo mineral, uréia e farelo de soja, sendo o último ausente do tratamento CA. As pré-misturas foram incorporadas ao restante da ração imediatamente antes do fornecimento aos animais. A quantidade de ração oferecida e a quantidade de sobras foram registradas diariamente.

Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo 14 destinados à adaptação dos animais à dieta e os outros sete às coletas. Na avaliação e comparação dos efeitos dos tratamentos testados foram observados o consumo voluntário, a digestibilidade aparente total e parcial da MS e dos nutrientes e o fluxo de nutrientes.

Para quantificação de consumo voluntário de MS total foram considerados os alimentos fornecidos, bem como, as sobras, computados do décimo quinto dia ao décimo sétimo dia de cada período experimental. Para quantificação dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes foram feitas coletas totais de fezes, durante três dias consecutivos, durante os mesmos dias usados para quantificação do consumo. Ao final de cada dia de coleta, as fezes foram pesadas e homogeneizadas e uma amostra de aproximadamente 250 gramas foi retirada, pesada, e pré-seca em estufa de ventilação forçada, a 65°C por 72 horas, moída em moinho de facas, com peneira contendo crivos de 1 mm, sendo então elaborada uma amostra composta por animal, em cada período, com base no peso seco total referente a cada dia de coleta.

Durante o período de coleta de fezes, foram coletados aproximadamente 200 mL de digesta abomasal, pela fístula abomasal, em intervalos de 15 horas, no seguinte esquema: dia 15, coletas às 07:00 e 22:00 h; dia 16, às 13:00 h; dia 17, às 04:00 e 19:00 h e dia 18, às 10:00 hs (Allen & Linton, 2007). Uma alíquota de 10 mL da digesta abomasal coletada foi acrescentada a um recipiente contendo 0,2 mL de H₂SO₄ (1:1), em cada coleta, e congelada a -20°C para posterior análise de nitrogênio amoniacal abomasal, segundo o método colorimétrico descrito por Chaney & Marbach (1962) e adaptado pelo Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios - UFV (Oliveira, 2003). O restante das amostras foram congeladas em ultra-freezer a -80°C e, depois, liofilizadas por 72 horas para retirada da água por meio de sublimação, sendo este processo caracterizado como pré-secagem. Posteriormente, foram moídas em moinho tipo faca, com peneira contendo crivos de 1 mm, e elaborada uma composta por animal por período.

Para estimar o fluxo de matéria seca abomasal, foi utilizado óxido crômico, o qual foi acondicionado em cartuchos de papel e introduzido diretamente no rúmen dos animais, através da fístula, em uma única dose diária de 15 g às 08:00 h, iniciando-se no dia 10 e indo até o dia 18 de cada período experimental. O teor de cromo foi avaliado em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Savastano (1993), utilizando digestão nitroperclórica.

Quatro horas após o fornecimento da ração, no décimo sexto dia de cada período experimental, foi coletada uma amostra de sangue de todos os animais, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio contendo gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 2700 g por 20 minutos, obtendo-se o soro sanguíneo, que foi armazenado a -20°C, para posteriormente ser analisado quanto à sua concentração de nitrogênio uréico.

As amostras de urina, em cada período experimental, foram obtidas a partir de coletas totais de três dias (Valadares et al., 1997a), realizadas nos dias 15, 16 e 17 de cada período. Mangueiras de borracha, acopladas à funis, conduziram a urina até recipientes plásticos, refrigerados, contendo 250 mL de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 20%, para evitar perda de nitrogênio. Ao final de cada dia de coleta, foi determinado o volume de urina, sendo em seguida homogeneizada e retirada uma amostra, sendo então elaborada uma composta por animal em cada período, baseado no volume excretado em cada dia de coleta. Ao final do período de coleta, as amostras de urina foram congeladas para determinação de uréia e nitrogênio total urinário.

No dia 19 de cada período experimental, foi executado um esvaziamento total do rúmen, 4 horas após o fornecimento da dieta, com o intuito de determinar a taxa de passagem e de digestão dos nutrientes, conforme técnica descrita por Allen & Linton (2007). Após o esvaziamento de todo o conteúdo ruminal, a digesta total foi pesada, posteriormente filtrada para separação de sólidos e líquidos, os quais foram pesados e amostrados para posteriores análises. Logo após a amostragem, a digesta foi novamente reconstituída e recolocada no rúmen dos respectivos animais. No dia 20 de cada período de coleta, houve uma pausa para realimentação e descanso dos animais e, no dia 21, retornou-se ao mesmo procedimento de esvaziamento, porém, antes do fornecimento da dieta, ou seja, no momento em que o rúmen se encontrava, pelo menos teoricamente, em seu menor volume. As amostras coletadas foram pesadas, secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, moídas em moinho de facas, com peneira contendo crivos de 1 mm, sendo então elaborada uma composta por animal em cada período. Dessa forma, as amostras compostas foram formadas

pelas amostras secas da parte sólida e da parte líquida dos dois esvaziamentos ruminais (antes da alimentação e quatro horas após a alimentação), com base no peso seco de cada amostra.

As amostras de bagaço de cana *in natura*, ingredientes do concentrado, sobras, fezes e conteúdo ruminal e abomasal foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), nitrogênio total (NT), extrato etéreo (EE) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), seguindo as recomendações de Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram estimados e corrigidos para cinza e proteína, de acordo com as recomendações de Mertens (2002).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com o proposto por Hall (2000), sendo $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ da uréia}) + \%FDN_{cp} + \%EE + \%MM)$. O consumo de energia dos animais foi obtido a partir do produto entre o consumo de matéria seca e a densidade energética das dietas, que foi determinada a partir da fórmula recomendada pelo NRC (2000): $NDT (\%) = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDN_{cp}D$, sendo que PBD, EED, CNFD e FDNcpD significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não-fibrosos digestíveis e fibra em detergente neutro (isenta de cinzas e proteína) digestível, calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade obtidos nesse estudo.

No soro sangüíneo e na urina, foi avaliada a concentração de uréia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A concentração de N-uréico no soro (NUS) foi obtida pela concentração de uréia sérica, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de nitrogênio na uréia.

As taxas de passagem (K_p) foram calculadas através do método “*pool-and-flux*”, descrito por Allen & Linton (2007), de acordo com a equação:

$$K_p = \text{fluxo abomasal} / \text{pool ruminal}$$

em que:

- k_p = taxa de passagem do alimento (%/hora);
- fluxo abomasal = quantidade de MS no abomaso (kg/hora);
- pool ruminal = quantidade total de MS ruminal (kg).

A taxa de digestão (Kd) foi calculada em função da taxa de passagem e da quantidade ingerida por hora, utilizando-se a equação:

$$Kd = (\text{consumo} / \text{pool ruminal}) - Kp$$

em que:

- Kd = taxa de digestão do alimento (%/hora);
- consumo = alimento ingerido (kg de MS/hora).

A Kd para cada nutriente foi calculada utilizando-se as mesmas equações e usando a quantidade de cada nutriente específico em cada variável.

O cálculo da digestibilidade total da MS e dos nutrientes foi realizado determinando-se a quantidade média consumida de MS e nutrientes durante os três dias em que se mediu o consumo dos animais e a quantidade média excretada via fezes durante esses mesmos três dias. Para calcular o coeficiente de digestibilidade ruminal (CDR), utilizou-se a quantidade média consumida e a quantidade estimada de MS e nutrientes no abomaso. E, para o cálculo da digestibilidade intestinal, utilizou-se a quantidade de MS e nutrientes estimada no abomaso e a quantidade da MS nas fezes.

A soma de quadrado para tratamentos foi decomposta segundo esquema fatorial 2 x 2 (fornecimento ou não de farelo de soja e fornecimento ou não de tanino condensado). Segundo modelo matemático exposto abaixo:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + TC_k + FS_l + (TC * FS)_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que:

- Y_{ijkl} : Valor observado no m-ésimo nível de tempo do i-ésimo animal do j-ésimo período recendo o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;

- μ : cConstante geral;
- A_i : efeito aleatório do i-ésimo Animal;
- P_j : efeito aleatório do j-ésimo Período;
- TC_k : efeito fixo do k-ésimo nível de TC;
- FS_l : efeito fixo do l-ésimo nível de FS;
- $(TC*FS)_{kl}$: efeito fixo da interação entre o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;

- ε_{ijkl} : erro aleatório associado com Y_{ijkl} .

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,10 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

A interação entre a inclusão ou não de tanino ou farelo de soja às dietas não foi significativa ($P > 0,10$) para os dados de consumo obtidos (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias e coeficientes de variação de consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), FDNcp, (CFDNcp), carboidratos não fibrosos (CCNF) e nutrientes digestíveis totais (CNDT), em kg/dia, e consumo de MS e FDN em função do peso corporal (CMSPC e CFDNPC), de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
CMS	7,22	7,04	7,64	7,70	10,00	0,876	0,198	0,756
CMO	6,85	6,68	7,26	7,31	10,10	0,877	0,193	0,767
CPB	0,95	0,97	1,16	1,14	10,33	0,940	0,018	0,860
CEE	0,41	0,39	0,34	0,38	10,60	0,656	0,068	0,188
CFDNcp	2,01	1,90	1,81	2,07	8,19	0,374	0,875	0,118
CCNF	3,98	3,68	3,96	4,21	10,69	0,899	0,278	0,234
CNDT	5,25	5,16	4,93	5,59	6,44	0,139	0,755	0,108
CMSPC	1,73	1,70	1,90	1,90	8,50	0,894	0,059	0,856
CFDNPC	0,47	0,45	0,44	0,50	9,65	0,366	0,806	0,103

¹/ FS = farelo de soja; ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

Verificou-se efeito ($P < 0,10$) da adição de farelo de soja sobre o consumo de proteína bruta, extrato etéreo e consumo de matéria seca em função do peso corporal (Tabela 3). Embora as dietas tivessem sido formuladas, previamente ao experimento, para conterem o mesmo teor protéico, verificou-se, após análise dos ingredientes, que a dieta que continha farelo de soja apresentou cerca de 10% a mais de PB (Tabela 1) em relação à dieta em que a principal fonte protéica utilizada foi o caroço de algodão. Assim, como o CMS total foi o mesmo para todos os tratamentos experimentais (Tabela 3), as dietas com farelo de soja propiciaram um maior CPB, sem, porém, nenhuma influência metabólica ou fisiológica, uma vez que o consumo de energia entre as dietas também não diferiu ($P > 0,10$) (Tabela 3). Não houve efeito ($P > 0,10$) da

adição de tanino concentrado (TC) às dietas sobre o consumo de MS (CMS) e de todos os nutrientes (Tabela 3).

A produção animal é função do consumo e do valor nutritivo (composição química e digestibilidade dos nutrientes) da dieta oferecida. O consumo de alimentos é determinante do aporte de nutrientes necessários para o atendimento dos requisitos de manutenção e de produção dos animais. Assim, a produção animal está diretamente associada com o CMS (Paulino, 1999). Portanto, reduções no consumo voluntário poderiam trazer prejuízos ao desempenho animal.

Historicamente, dietas contendo TC em sua composição caracterizam-se por acarretar redução do consumo de ruminantes. Kumar & Vaithyanathan (1990) sugeriram que altas concentrações de tanino poderiam trazer diminuição do consumo, principalmente através de três mecanismos principais: baixa palatabilidade da dieta, devido à adstringência, causada pela ligação do tanino com proteínas salivares e de mucosa; distensão física do rúmen, resultado da diminuição da digestão da matéria seca; e resposta hormonal desencadeada a partir de ligações dos taninos com a parede do intestino delgado. Efeitos semelhantes também foram afirmados por Waghorn et al. (1994) e Makkar et al. (1995).

No entanto, situações de queda de consumo têm sido observadas apenas quando a ração consumida pelo animal contém níveis acima de 3% de tanino condensado, na base da matéria seca (Makkar, 2003). Como neste experimento os animais consumiram dietas com apenas 0,4% de tanino condensado (TC) na MS total, não tiveram queda no consumo, o que está de acordo com McNabb et al. (1993), Wang et al. (1994) e Alves et al. (2006) que também não encontraram decréscimos no consumo quando adicionaram tanino condensado às dietas.

O consumo médio de MS dos animais foi de 1,81 % do peso corporal, sendo um pouco superior ao valor observado por Monnerat et al. (2008) (1,6% do PC), utilizando dietas semelhantes, com 80% de concentrado. No entanto, quando comparado ao consumo obtido com dietas com menores teores de concentrado, o consumo é inferior, pois o mecanismo principal de controle de consumo voluntário é diferente, sendo por enchimento ruminal em dietas com alto teor de FDN e pelo nível energético, em dietas com alto teor de concentrado (NRC, 2001). Sendo assim, quando compara-se animais recebendo dietas com alto teor de concentrado com animais recebendo dietas comumente utilizadas no Brasil (relação volumoso concentrado variando de 50:50 a 60:40), observa-se menor consumo (g MS/kg PC),

pois estas são predominantemente limitadas pelo enchimento ruminal (Mertens, 1994). Entretanto, considerando-se a faixa de peso dos animais utilizados, em torno de 410 kg ao início do experimento, portanto, em fase de terminação, e o tipo de dieta empregada, com alto teor de concentrado, o consumo obtido pode ser considerado normal, estando dentro da faixa comumente observada para bovinos de corte em terminação, alimentados com dietas mais densas energeticamente (Galyean & Defoor, 2003; Turgeon et al., 2010; Uwituze et al., 2010).

A digestibilidade ruminal MS, MO e FDN_{cp} não foram afetadas pelos tratamentos experimentais ($P > 0,10$). Foi observado efeito de interação entre os fatores FS e TC ($P < 0,10$) sobre a DR da proteína bruta (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias e coeficientes de variação para digestibilidade ruminal da matéria seca (DRMS), da matéria orgânica (DRMO), da proteína bruta (DRPB) e da fibra em detergente neutro (DRFDN) em %, de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
DRMS	63,63	62,96	80,37	69,75	21,36	0,780	0,256	0,611
DRMO	61,66	63,64	83,80	73,20	14,29	0,948	0,137	0,269
DRPB	48,42	49,82	64,60	45,89	11,40	0,050	0,105	0,010
DRFDN	76,48	82,65	81,83	93,30	17,12	0,164	0,368	0,367

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

Geralmente, o papel protetor dos taninos frente à degradação ruminal é mais marcante com proteínas do que com a matéria seca total ou outros nutrientes. Isto ocorre devido à maior capacidade dos taninos de formar pontes de hidrogênio com as proteínas, graças à elevada afinidade entre os grupos hidroxilas dos taninos e os grupos carbônicos dos peptídeos (Hagerman & Butler, 1991).

O desdobramento da interação sobre a digestibilidade ruminal da proteína bruta (DRPB) indicou que a suplementação com tanino condensado só reduziu a DRPB na presença de farelo de soja ($P < 0,10$), mas não afetou ($P > 0,10$) esta característica quando a principal fonte protéica empregada foi o caroço de algodão (Tabela 4). Como citado no material e métodos, o farelo de soja foi misturado ao tanino condensado antes do início do experimento e o caroço de algodão só foi misturado ao TC imediatamente antes do fornecimento aos animais, juntamente com os outros ingredientes da dieta. Este fato (maior tempo de contato da proteína do farelo de soja com o TC) pode ter aumentado a quantidade de proteína complexada, já que, segundo Mir et al. (1984) e Loyola et al. (1998) manter a fonte protéica em

contato com o tanino condensado por alguns dias aumenta a quantidade de complexos proteína-TC formado.

Outra possível causa para essa diferença é a forma de apresentação de cada ingrediente, sendo que o farelo de soja apresenta-se moído, com baixa granulometria, enquanto o caroço de algodão apresenta-se inteiro e protegido pelo línter, dificultando o contato do tanino com suas estruturas protéicas. Além disso, o línter do caroço de algodão faz com que ele “flutue” e permaneça mais tempo sobre a camada fibrosa dorsal do rúmen, onde a atividade microbiana é menos intensa (Zinn & Plascencia, 1993) e sua estrutura física só é rompida através da mastigação e ruminação (Rogério et al., 2003).

Diversos autores (Apori et al., 1998; Balogun et al., 1998 e Abdulrazak et al., 2000), trabalhando com amostras de diversos tipos de alimentos, com diferentes quantidades de tanino condensado, observaram que estes compostos exercem um claro efeito negativo sobre a fermentação ruminal da proteína, afetando principalmente o ritmo de degradação, o tempo de início (*lag time*) e a degradabilidade efetiva no rúmen.

A interação entre a inclusão ou não de tanino ou farelo de soja às dietas não foi significativa ($P > 0,10$) para estimativas de digestibilidade intestinal (Tabela 5). A digestibilidade intestinal da PB não foi alterada com a inclusão de tanino condensado, indo contra aos resultados encontrados por Loyola et al. (1998) que observaram maior digestibilidade intestinal da PNDR de alimentos tratados com tanino condensado. E de Muhlbach et al. (1982) que observaram que o tratamento do farelo de soja com tanino apresentou 75,3% de reversibilidade por meio da digestão com pepsina–pancreatina *in vitro*, ou seja, grande parte das ligações entre tanino e proteína foram revertidas, aumentando a digestibilidade enzimática da proteína, quando comparada ao farelo de soja sem a adição de tanino condensado.

Porém, como se observou uma maior quantidade de PNDR chegando até o abomaso (416,02 x 302,24 g/dia para dieta com FS e TC e dieta com FS e sem TC, respectivamente) e a mesma quantidade de proteína microbiana para todos os tratamentos (média 492,36 g/dia) (dados não publicados), pode-se afirmar que, em termos de valor absoluto, a quantidade de proteína digerida no intestino foi maior no tratamento com farelo de soja e com tanino condensado, pois maior quantidade de PB chegou ao intestino.

Tabela 5 - Médias e coeficientes de variação da digestibilidade intestinal da matéria seca (DIMS), matéria orgânica (DIMO), proteína bruta (DIPB) e fibra em detergente neutro (DIFDN) em %, de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem Tanino	Com tanino	Sem Tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
DIMS	36,37	37,04	19,63	30,25	32,39	0,314	0,258	0,920
DIMO	38,34	36,36	16,20	26,80	36,10	0,358	0,055	0,986
DIPB	51,58	50,18	35,40	54,11	13,30	0,172	0,563	0,775
DIFDN	23,52	17,35	18,17	6,70	52,28	0,269	0,701	0,287

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

A digestibilidade intestinal da matéria orgânica foi maior ($P < 0,10$) nos tratamentos que não continham farelo de soja (Tabela 5). Não se observou diferença significativa ($P > 0,10$) para a digestibilidade intestinal dos demais nutrientes e da MS (Tabela 5).

As médias dos tratamentos não diferiram estatisticamente em relação à digestibilidade total dos nutrientes ($P > 0,10$), com exceção da digestibilidade do extrato etéreo ($P < 0,10$) (Tabela 6).

Em diversos estudos (Nemoto et al. 1995; Nelson et al., 1997; Sly et al., 1997), realizados *in vitro*, têm-se observado que o crescimento e a atividade celulolítica de *Fibrobacter succinogenes* são inibidos com concentrações de TC inferiores às necessárias para reduzir o crescimento e a atividade de *Prevotella ruminicola* e *Streptococcus bovis* (Nelson et al., 1997). Igualmente, mas em experimentos *in vivo*, McSweeney et al. (2001) observaram que ovelhas suplementadas com 60 g de TC/kg de MS de alimento reduziram as proporções de *F. succinogenes* e *Ruminococcus* spp., sem afetar a maioria dos microrganismos proteolíticos. Nos experimentos citados, as digestibilidades da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) diminuíram com a suplementação com tanino condensado. Porém, as dietas eram compostas com média a alta quantidade de volumoso, o que indica alta quantidade de carboidratos fibrosos, de forma que as alterações observadas no perfil bacteriano, possivelmente, justificam a diminuição da digestibilidade das dietas. Como houve diminuição nas bactérias degradadoras de FDN (fermentadoras de carboidratos estruturais) houve uma conseqüente diminuição da sua digestibilidade. McSweeney et al. (2001) sugeriram que, dentre as inibições da atividade das enzimas fibrolíticas exercidas pelos taninos, o efeito sobre os complexos enzimáticos hemicelulolíticos é mais intenso que o provocado sobre os celulolíticos.

A diminuição da digestibilidade da fibra também foi descrita como um efeito antinutricional dos TC (Reed, 2001). Cabral Filho et al. (2005) observou diminuição da digestibilidade da FDN com dietas contendo 1,3% de TC na MS em relação ao tratamento controle. Como o presente experimento utilizou dose de 0,4% de TC na MS da dieta, supõe-se que esse nível de tanino condensado, associado ao tipo de dieta utilizada (baixo teor de FDN), não foi suficiente para afetar o CDFDN. Assim, nesse experimento, não verificou-se diminuição da digestibilidade ruminal, intestinal e total da MS e da FDN (Tabelas 4, 5 e 6), pelo fato das dietas conterem apenas 13% de volumoso (Tabela 1) e conseqüente baixo teor de FDN. Como o tanino condensado prejudica, principalmente, a atividade das bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos, sua inclusão não interferiu na digestibilidade dos nutrientes, com exceção da DRPB (no tratamento em que se empregou farelo de soja), que provavelmente foi reduzida devido aos complexos físicos formados entre o tanino e a proteína, os quais impediram ou reduziram a degradação bacteriana.

Tabela 6 - Médias e coeficientes de variação da digestibilidade aparente total da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e teor de NDT, em %, de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
CDMS	63,32	65,8	61,55	65,65	5,82	0,128	0,624	0,679
CDMO	64,65	69,33	62,95	66,84	6,94	0,121	0,366	0,920
CDPB	71,54	75,03	72,63	72,91	4,05	0,249	0,740	0,321
CDEE	85,51	89,10	73,78	78,33	5,85	0,057	0,006	0,682
CDFDN	46,09	51,81	44,64	53,43	16,20	0,117	0,983	0,713
CDCNF	72,64	74,02	69,14	72,02	4,58	0,240	0,148	0,657
NDT	72,71	73,30	74,53	72,60	5,27	0,162	0,155	0,943

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

A inclusão de taninos condensados na alimentação animal é, muitas vezes, vista como um fator anti-nutricional, podendo causar diminuição do consumo de matéria seca e redução da digestão de proteínas e fibras. Segundo Lascano et al. (2001) e Silanikove et al. (2001) o tanino pode prejudicar a digestibilidade de carboidratos fibrosos, amido e proteína. Entretanto, o efeito desse aditivo sobre a alimentação animal depende de vários fatores, tais como: concentração do tanino na dieta fornecida, tipo de tanino utilizado, espécie animal que o consumirá e composição geral da dieta (Barahona et al., 1997; Schofield et al., 2001).

Quando usado em baixas concentrações, esse aditivo pode favorecer o aumento da absorção de nitrogênio no intestino delgado por reduzir a degradação ruminal da proteína, fazendo com que mais proteína não degradada no rúmen (PNDR) chegue até o intestino (Waghorn et al., 1987). Além de reduzir a degradação ruminal da proteína, existem outros efeitos positivos associados às baixas concentrações de tanino condensado na dieta. Dentre eles, destacam-se a diminuição do desperdício de amônia e a prevenção de timpanismo (Animut et al., 2008), além de ação anti-helmíntica (Min & Hart, 2003).

Nsahlai et al. (1998) avaliaram a digestibilidade da parte aérea do sorgo entre cultivares com diferentes níveis de tanino e não encontraram diferenças significativas entre elas. Oposto a isso, diminuições no coeficiente de digestibilidade da MS foram observadas em experimentos *in situ* e *in vitro* que utilizaram cultivares de sorgo com alto e baixo tanino no grão (Campos et al. 2002; Cabral et al., 2003; Souza et al. 2003).

O coeficiente de digestibilidade da proteína bruta também não apresentou diferença ($P > 0,10$) entre os tratamentos (Tabela 6). Muitos trabalhos demonstraram que a diminuição no CDPB é característica da ação dos TC na digestão dos animais, principalmente por estas moléculas possuírem muita afinidade com proteínas, promovendo ligações capazes de indisponibilizar este nutriente para degradação e absorção. Butler (1989) associou a redução da digestibilidade da proteína, causada pelos taninos, à diminuição da atividade de enzimas ligadas à digestão das proteínas, em que, possíveis ligações entre os taninos e estas enzimas seriam as responsáveis por esta inatividade. Já Komolong et al. (2001), trabalhando com níveis crescentes de extrato de quebracho na dieta de ovinos, observaram redução de 10% na digestibilidade aparente do nitrogênio ($R^2=0,97$), associada ao incremento de N das fezes.

Entretanto, a menor digestibilidade da proteína, encontrada em vários trabalhos já citados, é conseqüência da redução da digestibilidade ruminal (diminuição da atividade enzimática e/ou formação de complexo tanino-proteína, impedindo o ataque microbiano). Neste experimento, possivelmente, a não redução da digestibilidade total da proteína bruta está associada a uma maior absorção de aminoácidos no intestino e/ou uma maior digestibilidade protéica no intestino delgado, associado a maior degradação de proteínas no intestino grosso e ceco (Tabela 5), já que houve uma menor digestibilidade ruminal da proteína (Tabela 4) e, conseqüentemente, maior quantidade de PB chegando ao intestino.

Os resultados encontrados para os coeficientes de digestibilidade do extrato etéreo (Tabela 6) mostraram que a inclusão de TC melhorou a digestibilidade da gordura dietética, quando comparada ao não fornecimento do aditivo. Uma possível explicação para esse fato é baseada nos trabalhos de Khiaosa-Ard et al. (2009) e Vasta et al. (2009) que em experimentos *in vitro* e *in vivo* observaram alterações no perfil de ácidos graxos da digesta ruminal frente ao uso de tanino condensado, devido a uma menor biohidrogenação (BH), principalmente na última etapa, onde a BH foi inibida em maior quantidade que nas etapas anteriores, levando ao maior acúmulo do isômero trans C18:1. Essa diferenciação no perfil pode ter facilitado a absorção dos ácidos graxos no intestino, aumentando a digestibilidade do EE.

Em relação à adição de farelo de soja às dietas, somente a digestibilidade do extrato etéreo (CDEE) foi menor ($P < 0,10$). Tal fato pode ser explicado pelo mesmo motivo do aumento da digestibilidade ruminal do EE (Tabela 4). Segundo Palmquist (1989), a vantagem do aumento do extrato etéreo em dietas deve-se ao incremento da densidade calórica da dieta, em razão de seu elevado valor energético (aproximadamente 6 Mcal EL/kg MS), e pode ser explorada de várias maneiras, além de permitir aumento no consumo de energia e balanço mais adequado entre carboidratos fibrosos e não-fibrosos para a otimização do consumo de fibra e energia digestível.

Sabe-se que ruminantes não toleram altos níveis de óleo na dieta, entretanto, os coeficientes de digestibilidade dos outros nutrientes não apresentaram diferenças quando houve aumento do teor de EE da dieta (maior quantidade de caroço de algodão; Tabela 1). A não influência da gordura oriunda do caroço de algodão na digestibilidade dos nutrientes ocorre pelo fato desse alimento ter um revestimento composto por fibra e por possuir línter. Estas características proporcionam lenta liberação de lipídios no ambiente ruminal no decorrer do dia, devido à regurgitação e remastigação das sementes. Isto permite a ação dos microrganismos ruminais em hidrogenar as ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, impedindo o efeito inibidor da gordura sobre a digestibilidade da fibra (Coppock & Wilks, 1991). Smith et al. (1981) sugeriram que a inclusão de sementes integrais de oleaginosas não tem influência negativa sobre a degradação da fibra no rúmen, o que corrobora com os resultados obtidos neste estudo.

No entanto, mesmo na dieta em que se usou somente caroço de algodão como fonte de proteína verdadeira (sem FS), o teor de extrato etéreo, determinado laboratorialmente (5,4%), está abaixo dos recomendados para dietas de alto grão com

menor participação de alimentos fibrosos, em que se utiliza até 7% de EE, base da matéria seca total (Cruz et al., 2010; Turgeon et al., 2010).

A observação das estimativas obtidas e expostas na Tabela 7 evidencia que a taxa de passagem da MS, a taxa de digestão da MS e dos carboidratos não fibrosos (CNF) não sofreram influência ($P > 0,10$) dos tratamentos empregados. Com exceção da taxa de digestão da proteína bruta, não foram verificados efeitos ($P > 0,10$) da interação entre a suplementação com tanino condensado e a adição de farelo de soja nas taxas de digestão e passagem dos demais nutrientes (Tabela 7).

Dalke et al. (1997), trabalhando com dietas com 90% de concentrado, à base de milho, encontraram taxa de passagem da MS de 3,6%/hora, corroborando com os resultados encontrados neste experimento (média de 3,40%/hora). Colucci et al. (1982) indicaram que a taxa de passagem de partículas do rúmen é positivamente correlacionada ($r^2 = 0,76$) com a ingestão de parede celular. Em dietas de alto concentrado (relação concentrado:volumoso maior que 80:20), quanto maior a quantidade de FDN, maior é a taxa de passagem da digesta (Dalke et al, 1997), devido a um efeito favorável sobre a degradação microbiana no ambiente ruminal. Além disso, o aumento do fluxo de saliva e da motilidade ruminal também estão associados ao fornecimento de uma quantidade mínima de volumoso, em dietas de alto teor de concentrado, favorecendo uma maior taxa de passagem (Turgeon et al., 2010).

Tabela 7 - Médias e coeficiente de variação (CV), para taxa de passagem da matéria seca (Kp MS), taxas de digestão (%/hora) da matéria seca (Kd MS), matéria orgânica (Kd MO) proteína bruta (Kd PB) e fibra em detergente neutro (Kd FDN) de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
Kp MS	3,60	3,42	3,40	3,16	12,05	0,346	0,304	0,881
Kd MS	2,43	2,42	3,33	2,67	25,98	0,406	0,1618	0,4114
Kd MO	1,82	1,87	2,96	2,29	32,37	0,387	0,036	0,172
Kd PB	1,52	1,44	3,05	1,26	25,91	0,016	0,009	0,008
Kd FDN	0,72	0,90	1,35	1,29	45,65	0,905	0,095	0,303

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

As taxas de digestão da MO e da FDN foram superiores ($P < 0,10$) nas dietas que continham farelo de soja, possivelmente porque o farelo de soja proporcionou um ambiente ruminal mais favorável à digestão da fibra, apresentando pH ruminal e

concentração de nitrogênio amoniacal mais adequados (dados não apresentados). Segundo Huang et al. (1988) e McGavin et al. (1989), a faixa ótima de pH para as bactérias fibrolíticas seria, usualmente, entre 6,0 e 6,5. O pH ruminal das dietas que continham farelo de soja foi mais próximo dessa faixa do que o observado nas dietas sem farelo de soja (6,6 vs 6,9), o que ajudaria a explicar a maior taxa de digestão da FDN e da MO nas dietas com FS. Segundo Kozloski (2002), o desenvolvimento de bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais é altamente dependente do nível de amônia ruminal para a síntese de suas proteínas. Portanto, níveis de amônia mais elevados propiciaram melhor desenvolvimento desse grupo de microrganismos. As concentrações de amônia ruminal proporcionadas pelas dietas com e sem farelo de soja foram, respectivamente 17,64 e 12,69 mg/dL.

Geralmente, a taxa de digestão da fibra está relacionada ao tipo e nível de volumoso usado na dieta (Uwituze et al., 2010). Porém, segundo Wedekind et al. (1986), em parte, isso pode estar incorreto, pois os grãos também contribuem para uma quantidade substancial da fibra nas dietas de alto concentrado, e diferentes concentrados propiciam diferentes ambientes ruminais, podendo alterar o perfil microbiano do rúmen e, conseqüentemente, a digestão dos alimentos. Esta hipótese corrobora com os resultados deste trabalho, que apresentou diferentes taxas de digestão da FDN em dietas com o mesmo volumoso e uma pequena diferença no concentrado (Tabela 1), a adição de farelo de soja.

Na ausência de farelo de soja, a taxa de digestão do EE aumentou (Tabela 7), sendo influenciada pela maior ingestão de caroço de algodão nas dietas sem farelo de soja (Tabela 1). Smith & Vosloo (1990) e Karalazos et al. (1992) também verificaram aumento da taxa de digestão do EE, quando aumentou-se a quantidade de caroço de algodão na dieta.

O desdobramento da interação sobre a taxa de digestão da proteína bruta (KdPB) indicou que a suplementação com tanino condensado só reduziu a KdPB na presença de farelo de soja ($P < 0,10$) e não afetou esta característica quando a fonte de proteína verdadeira da dieta foi o caroço de algodão (Tabela 7). Como a digestibilidade ruminal se comportou do mesmo modo (Tabela 4), a hipótese para esta modificação é a mesma, pois segundo Allen & Linton (2007), a taxa de digestão ruminal e a degradabilidade ruminal possuem alta correlação, só sendo influenciada pela taxa de passagem.

Mesmo o tanino condensado reduzindo a taxa de digestão da proteína bruta em torno de 142% (3,05% e 1,26% para tratamento com tanino condensado e farelo de soja e tratamento sem tanino condensado e com farelo de soja, respectivamente), não houve prejuízos na taxa de digestão da MO e da FDN, indicando que a parte da proteína solúvel da dieta e não complexada pelos taninos foi suficiente para garantir o crescimento dos microrganismos e, conseqüentemente, a degradação da MO da dieta. Sugerindo que o uso de tanino condensado, na dose empregada, não teria impacto negativo na disponibilização de nutrientes no intestino delgado.

As estimativas de nitrogênio uréico no soro e na urina, nitrogênio total na urina e nitrogênio amoniacal no abomaso são apresentadas na Tabela 8. Não foram verificados efeitos da interação entre a suplementação com tanino condensado e a inclusão de farelo de soja à dieta sobre as concentrações de nitrogênio uréico no sangue e na urina, nitrogênio amoniacal no abomaso e sobre a excreção de nitrogênio total na urina (Tabela 8).

Tabela 8 - Médias e coeficientes de variação (CV) das concentrações de N amoniacal no abomaso (N-NH₃ abomasal), nitrogênio uréico no soro (NUS), em mg/dL e excreções de N total na urina (NU) e de nitrogênio uréico na urina (NUU), de acordo com os tratamentos experimentais

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Valor de Probabilidade ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com Tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
N-NH ₃ abomasal	7,72	7,20	9,17	7,57	12,64	0,180	0,119	0,319
NUS	23,93	18,17	23,54	17,63	22,09	0,071	0,863	0,977
NUU (g)	66,01	48,81	77,87	58,42	12,16	0,003	0,031	0,779
NU (g)	79,78	61,01	93,07	87,13	13,28	0,060	0,010	0,274
NUU/NU (%)	82,74	80,00	83,67	67,05	9,79	0,211	0,694	0,667
NUU(mg/kgPC)	155,48	115,96	191,74	151,96	11,98	0,003	0,013	0,648
NU(mg/kgPC)	192,48	147,23	230,92	187,74	14,18	0,017	0,026	0,941

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente.

Não foram encontradas diferenças (P>0,10) na concentração de N-NH₃ na digesta abomasal, entre os tratamentos avaliados (Tabela 8). Possivelmente, este fato ocorreu pela utilização do nitrogênio pela microbiota ruminal, além da absorção do excesso de nitrogênio pela parede do rúmen, que impediu grandes diferenças na quantidade de N-NH₃ que passou ao abomaso.

Verificou-se efeito da adição de TC sobre o nível de nitrogênio ureico no soro (NUS) (P<0,10), no entanto, não se verificou efeito (P>0,10) da adição de farelo de

soja sobre a concentração de nitrogênio uréico no soro, sendo que a média obtida foi de 21,33 mg/dL. Segundo Swenson & Reece (1996) estes valores estão dentro do considerado normal para bovinos, que varia de 10 a 30 mg/dL. Valadares et al. (1997b), em pesquisa com novilhos alimentados com dietas contendo 7,0; 9,5; 12,0 e 14,5% de PB na dieta, observaram influência do teor protéico da dieta sobre os níveis de nitrogênio uréico no plasma, que foram de 8,1; 9,1; 15,7 e 19,5 mg/dL, respectivamente. Nesse sentido, a concentração sérica de uréia está relacionada à utilização da proteína bruta da dieta e maiores concentrações podem caracterizar ineficiência na utilização da proteína e maior perda de energia.

A amônia que é absorvida no rúmen, ao passar pelo fígado, é metabolizada para formação de uréia, que poderá retornar ao rúmen via saliva ou parede ruminal, ou ser eliminada na urina, representando perda. A uréia sérica, além de representar custo energético pela sua síntese no fígado, durante o catabolismo de proteínas, pode afetar a saúde do animal, pois, valores de amônia acima da capacidade metabólica do fígado proporcionam um aumento na concentração de amônia no sangue, o que leva à formação de carbamato de amônia e à intoxicação do animal por depressão do sistema nervoso central (Alves, 2004). O custo energético para síntese e excreção de uréia é muito elevado, uma vez que, para cada mol de uréia produzido, são gastos quatro moles de ATP (Swenson & Reece, 1996).

O nitrogênio uréico no soro (NUS) não é indicador direto do consumo de proteína, mas pode ser bom indicador da proteína não utilizada (Staples et al., 1993). Frente a isso, possivelmente os animais do atual experimento não estavam sendo capazes de utilizar boa parte da proteína consumida, uma vez que os valores de NUS foram altos (Tabela 8). Staples et al. (1993) sugeriram que valores de NUS acima de 16 mg/dL podem resultar em problemas reprodutivos em vacas lactantes. Os valores do atual experimento ficaram sempre acima destes valores (Tabela 8). No entanto, níveis elevados de nitrogênio uréico no sangue em animais que não são destinados à reprodução, não indiquem problemas fisiológicos (Staples et al., 1993). Podem, entretanto, indicar aumento no custo da dieta (Broderick & Clayton, 1997), devido à ineficiência de uso de parte da PB dietética. Os níveis de NUS dos animais alimentados com TC, mesmo estando superior ao sugerido por Staples et al. (1993), foi mais baixo, indicando que possivelmente houve melhor utilização da proteína por esses animais.

Não verificou-se efeito da adição de farelo de soja ($P > 0,10$) sobre a quantidade de nitrogênio uréico e de nitrogênio total excretado via urina (Tabela 8). Em média, os

valores de excreção de nitrogênio uréico pela urina foram altos (Tabela 8), estando próximos, no entanto, aos valores obtidos por Monnerat et al. (2008) que utilizaram dietas com níveis de concentrado (80%) e teores de proteína (14%), semelhantes aos deste experimento.

A inclusão de farelo de soja à dieta fez com que aumentasse ($P < 0,10$) a excreção de N-uréico na urina (Tabela 8). Pessoa et al. (2009) encontraram valores inferiores de excreção urinária de uréia em dietas que continham caroço de algodão como único ingrediente protéico fornecedor de proteína verdadeira, em comparação com dietas que continham farelo de soja, sendo similar aos resultados encontrados nesse experimento. Tal fato, possivelmente, justifica-se pela maior quantidade de proteína prontamente solúvel em dietas que contêm farelo de soja em sua composição (Valadares Filho et al., 2006).

A excreção de uréia pela urina, ou mesmo de N total, foi menor ($P < 0,10$) nas dietas que continham tanino condensado. De acordo com Santos et al. (2001), quanto menor a degradação da proteína dietética, menor é a produção de amônia ruminal e, conseqüentemente, menores são as perdas de uréia na urina. Isto ocorre porque a maior parte da amônia não utilizada pelos microrganismos é absorvida pela parede ruminal e transportada para o fígado onde é convertida a uréia. Parte dessa uréia é excretada, via urina, e parte pode retornar ao rúmen via saliva ou por difusão através da parede ruminal.

Quando administrados em níveis adequados, os taninos condensados podem exercer efeitos benéficos na utilização de nutrientes, na saúde e na produção animal, reduzindo a taxa de degradabilidade ruminal da proteína (Hervás et al., 2004). Portanto, constatou-se que a menor excreção uréica via urina, dos animais suplementados com tanino condensado, deve-se à menor degradabilidade da proteína (Tabela 4), principalmente devido à formação de complexo tanino/proteína.

A excreção de N pela urina (NU), em ruminantes, está diretamente relacionada com a concentração de N uréico no soro (NUS), Chizzotti et al. (2007), Veras et al. (2007) e Pessoa et al. (2009) observaram relação positiva entre o NUS e nitrogênio na urina e nitrogênio uréico na urina (NUU). Portanto, nesse experimento, a excreção de N via urina foi menor nos tratamentos que possuíam tanino condensado, indicando que a utilização do nitrogênio uréico disponível e circulante no soro foi utilizada de forma mais eficiente nos tratamentos com TC.

Conclusão

A utilização de 0,4% de tanino condensado na MS, como aditivo para bovinos de corte alimentados com dietas de alto teor de concentrado e com farelo de soja como fonte de proteína verdadeira, diminui a taxa de digestão e digestibilidade ruminal da proteína bruta sem alterar o consumo dos animais e a digestibilidade intestinal da PB.

A utilização de tanino condensado purificado ao nível de 0,4% da MS, para bovinos de corte alimentados com dietas com 87% de concentrado, diminui as concentrações de nitrogênio ureico no soro e excreções urinárias de compostos nitrogenados.

Os resultados encontrados sugerem que a utilização de tanino condensado, nas concentrações indicadas, em confinamentos que utilizam dietas com alto teor de concentrado, exerce efeitos benéficos, entretanto ensaios experimentais que avaliem o desempenho dos animais devem ser estudados para confirmar a verossimilhança dos benefícios.

Referências Bibliográficas

- ABDULRAZAK, S.A.; FUJIHARA, T.; ONDIEK, J.K. et al. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, n.1-2, p.89-98, 2000.
- ALLEN, M.S.; LINTON J.A.V. *In vivo* methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 1., 2008, São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, p. 72-89, 2007.
- ALVES, A.R.; GUIMARÕES-BEELLEN, P.M.. ; GONZAGA NETO, S. et al. Consumo e digestibilidade do feno de sabiá por caprinos e ovinos recebendo suplementação com polietilenoglicol. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, p.1-4, 2006.
- ALVES, D.D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.3, p.265-271, 2004.
- ANIMUT, G.; PUCHALA; R.; GOETSCH, A.L. et al. Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v.144, n.3-4, p.212-227, 2008.
- APORI, S.O.; CASTRO, F.B.; SHAND, W.J. et al. Chemical composition, *in sacco* degradation and *in vitro* gas production of some Ghanaian browse plants. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, n.1, p.129-137, 1998.
- ATKINSON, R.L.; TOONE C.D.; LUDDEN, P.A. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on site and extent of digestion and ruminal characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.85, n.12, p.3322–3330, 2007.
- BALOGUN, R.O.; JONES, R.J.; HOLMES, J.H.G. Digestibility of some tropical browse species varying in tannin content. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, n.1-2 p.77- 88, 1998.
- BARAHONA, R.; LASCANO, C.E.; COCHRAN, R. et al. Intake, digestion, and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.1633–1640, 1997.
- BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical of animal and nutrition factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.
- BUTLER, L.G. Effects of condensed tannins on animal nutrition. In: HEMINGWAY, R.W.; KERCHESY, J.J. (Ed.) **Chemistry and significance of condensed tannins**. New York: Plenum Press, p.391-402. 1989.
- CABRAL FILHO, S.L.S., ABDALLA, A.L., BUENO, I.C.S. et al. Ruminal fermentation and degradability of sorghum cultivar whole crop, and grains, using an *in vitro* gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**. v.123-124, n.1, p.329-339, 2005.

- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. et al. Composição químico-bromatológica, produção de gás, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e NDT estimado da silagem de sorgo com diferentes proporções de panículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5 p.1250-1258, 2003.
- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1094-1102, 2008.
- CAMPOS, W.E.; SATURNINO, H.M.; SOUSA, B.M. et al. Degradabilidade *in situ* da silagem de quatro genótipos de sorgo com e sem tanino. I. Matéria seca e proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.2, p.209-215, 2002.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, n.4, p.130-132, 1962.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.
- COLUCCI, P.E.; CHASE, L.E.; VAN SOEST, P.J. Feed intake, apparent diet digestibility, and rate of particulate passage in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.8, p.1445-1456, 1982.
- COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental fat in high energy ration for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield and composition. **Journal of Animal Science**, v.69, n.9, p.3826-3837, 1991.
- CRUZ, G.D.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, J.A.; OLTJEN, J.W. et al. Performance, residual feed intake, digestibility, carcass traits, and profitability of Angus-Hereford steers housed in individual or group pens. **Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.324-329, 2010.
- DALKE, B.S.; SONON, R.N.; YOUNG, M.A. Wheat middlings in high-concentrate diets: feedlot performance, carcass characteristics, nutrient digestibilities, passage rates, and ruminal metabolism in finishing steers. **Journal of Animal Science**, v.75, n.9, p.2561-2566, 1997.
- GALYEAN, M.L.; DEFOOR, P.J. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, suppl. E, p.08-16, 2003.
- HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Tannins and lignins. In **Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites**, pp. 355–376 (Rosental, G.A.; Berenbaum, M.R.). San Diego, CA: Academic Press. 1991.
- HALL, M.B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis, a laboratory manual**. Gainesville: University of Florida, 42p. 2000.
- HERVÁS, G.; FRUTOS, P.; MANTECÓN, A.R. et al. Effect of the administration of quebracho extract on rumen fermentation and diet digestibility in sheep. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2, n.1, p. 63-70, 2004.

- HUANG, L.; FORSBERG, C.W.; THOMAS, D.Y. Purification and characterization of a chloride-stimulated cellobiosidase from *Bacteroides succinogenes* S85. **Journal of Bacteriology**, v.170, n.7, p.2923-2932, 1988.
- KARALAZOS, A.; DOTAS, D.; BIKOS, J. A note on the apparent digestibility and nutritive value of whole cottonseed given to sheep. **Animal Production**, v.55, n.2, p.285-287, 1992.
- KHIAOSA-ARD, R.; BRYNER, S.F.; SCHEEDER, M.R.L. et al. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α -linolenic biohydrogenation by condensed tannins. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.1, p.177-188, 2009.
- KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G.; McNEILL, D.M. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels quebracho tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, n.1-2, p.59-72, 2001.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140p.
- KUMAR, R.; VAITHIYANATHAN, S. Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. **Animal Feed Science and Technology**, v.30, n.1-2, p.21-38, 1990.
- LASCANO, C.E.; SCHMIDT, A.; BARAHONA, R. Forage quality and environment. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19, 2001, São Pedro. **Anais...**São Pedro: Fealq, CD-ROM. 2001.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros: In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 37, 1980.
- LOYOLA, V.R., SANTOS, T.S., ZEOULA, M.L. et al. Digestibilidade *in vitro* do farelo de canola tratado com calor e, ou, tanino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.1037-1041, 1998.
- MAKKAR, H.P.S. Effects and fates of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, n.3, p.241-256, 2003.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; ABEL, H.J. et al. Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.69, n.4, p.495-500, 1995.
- McGAVIN, M.J.; FORSBERG, C.W.; CROSBY, B. et al. Structure of the cel-3 gene from *Fibrobacter succinogenes* S85 and characteristics of the encoded gene product, endoglucanase 3. **Journal of Bacteriology**, v.171, n.10, p.5587-5585, 1989.
- McNABB, W.C.; WAGHORN, G.C.; BARRY, T.N. et al. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the digestion and metabolism of methionine, cysteine and inorganic sulfur in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.70, n.2, p.647-661, 1993.

- McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1, p.83-93, 2001.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, JR., G. C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Wisconsin: American Society of agronomy, 1994. p.450-493.
- MIN, B.R., HART, S.P. Tannins for suppression of internal parasites. **Journal of Animal Science**, v. 81, n.2, p.E102-E109, 2003.
- MIN, B.R.; ATTWOOD, G.T.; MCNABB, W.C. et al. The effect of condensed tannins from *Lotus corniculatus* on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.121, n.1-2, p.45-58, 2005.
- MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T. 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, n.1-4, p.3-19, 2003.
- MIR, Z.; MACKEOOD, G.K.; BUCHANAN-SMITH, J.G. et al. Methods for protecting soybean and canola proteins from degradation in the rumen. **Canadian Journal of Animal Science**, v.64, n.4 p.853-865, 1984.
- MONNERAT, J.P.I.S.; PAULINO, P. V. R. ; DUARTE, M. S. et al. Influência Da Levedura Na Fermentação Ruminal De Bovinos De Corte. In: X Congresso Internacional de Zootecnia – ZOOTEC. João Pessoa – PB. **Anais...** v. CD-ROM. p.1-4., 2008.
- MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T; REIS, R.A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **NUTRIÇÃO DE RUMINANTES**. Jaboticabal: Funep, 2006, 583p.
- MÜHLBACH, P.R.F., LÓPEZ, J., LEBOUTE, E.M. Avaliação in vitro dos taninos de castanheira (*Castanea sativa Mill.*) e acácia negra (*Acacia mearnsii De Willd.*) como agentes de proteção da proteína do farelo de soja. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 11, n. 4, p. 746-762, 1982.
- NELSON, K. E.; PELL, A. N.; DOANE, P. H. et al. Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n.4 p. 1175-1194, 1997.
- NEMOTO, K.; OSAWA, R.; HIROTA, K. et al. An investigation of gram-negative tannin-protein complex degrading bacteria in fecal flora of various mammals. **The Journal of Veterinary Medical Science**. v.57, n.5, p.921-926. 1995.
- NOZELLA, E.F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP. 2001.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7ed.Washington, D.C.: 248p. 2000.

- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7ed. Washinton, D.C.: 381p. 2001.
- NSAHLAI, L.V.; UMUNNA, N.N.; OSUJI, P.O. Complementarity of bird-resistant and non-bird-resistant varieties of sorghum stover with cottonseed cake and nong (*Guizotia abyssinica*) cake when fed to sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.130, n.2, p.229-239, 1998.
- OLIVEIRA, M.V.M. **Utilização do ionóforo monensina sódica na alimentação de ruminantes**. Viçosa – MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) -, Viçosa. 2003.
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídeos para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.11-26. 1989.
- PAULINO, M.F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE, 1, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1999. p.137-156.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. In: SIMCORTE, 2., 2001, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.187-232. 2001.
- PESSOA, A.S.P.; LEÃO, M.I.; FERREIRA, M.A. et al. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-deaçúcar e uréia associados a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.941-947, 2009.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; CALDAS NETO, S.F. Digestibilidade dos nutrientes de dietas com diferentes níveis de proteína degradável no rúmen e fonte de amido de alta degradabilidade ruminal em ovinos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, n.4, p.521-527, 2004.
- REED, J.D. Effects of proanthocyanidins on digestion of fiber in forages. **Journal of Range Management**, v.54, n.4, p.466-473, 2001.
- ROGÉRIO, M.C.P.; BORGES, I.; SANTIAGO, G.S. et al. Uso do caroço de algodão na alimentação de ruminantes. **Arquivos Ciências Veterinária e Zoologia**, v.6, n.1, p.85-90, 2003.
- SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras. In: SINLEITE - NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2.; 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.225-248. 2001.
- SAVASTANO, S. **Efeito do concentrado sobre os parâmetros digestivos do feno de capim gordura (*Melinis minutiflora Pal de Beauv*), em bovinos**. Belo Horizonte: Escola Veterinária, 1993, 142p. Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1, p.21–40, 2001.

- SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVEZA, F.D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1-2, p.69-81, 2001.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa: Imprensa Universitária – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 165 p.
- SLY, L. I.; CAHILL, M. M.; OSAWA, R. et al. The tannin-degrading species *Streptococcus gallolyticus* and *Streptococcus caprinus* are subjective synonyms. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.47, n.3, p.893–894, 1997.
- SMITH, N.E.; COLLAR, L.S.; BATH, D.L. et al. Digestibility and effects of whole cottonseed fed to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.11, p.2209-2215, 1981.
- SMITH, W.A.; VOSLOO, L.P. Digestibility of diets containing cottonseed and the effect of supplementary lanolin thereon in sheep. **South African Journal of Animal Science**, v.20, n.4, p.216-222, 1990.
- SOUZA, V.G.; PEREIRA, O.G.; MORAES, S.A. et al. Valor nutritivo da silagem de sorgo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.753-759, 2003.
- STAPLES, C.R.; GARCIA-BOJALIL, C.; OLDICK, B.S. et al. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 4., 1993, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University of Florida, p.37-52. 1993.
- SWENSON, M.J.; REECE, W. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 856p. 1996.
- TURGEON, O.A.; SZASZ, J.I.; KOERS, W.C. et al. Manipulating grain processing method and roughage level to improve efficiency in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.284-295. 2010
- UWITUZE, S.; PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K. et al. Evaluation of dried distillers grains and roughage source in steam-flaked corn finishing diets. **Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.258-274. 2010
- VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. (Eds.) **Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-Corte**. Viçosa, MG: Suprema Gráfica, 142p. 2006.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentração de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997a.

- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidade e balanços de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1259-1263, 1997b.
- VASTA, V.; MAKKAR, H.P.S.; MELE, M. et al. Ruminant biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.102, n.1, p.82-92, 2009a.
- VASTA, V.; MELE, M.; SERRA, A. et al. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. **Journal of Animal Science**, v.87, n.8, p.2674–2684, 2009b.
- VÉRAS, R.M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVÊDO, J.A.G et al. Níveis de proteína na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1199-1211. 2007 (supl.).
- WAGHORN, G.C., ULYATT, M.J.; JOHN, A. et al. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus*. **British Journal of Nutrition**, v.57, n.1, p.115–26, 1987.
- WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; McNABB, W.C. et al. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **Journal of Agricultural Science**, v.123, n.1, p.109-119, 1994.
- WANG, Y.; WAGHORN, G.C.; BARRY, T.N. et al. The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on plasma metabolism of methionine, cystine and inorganic sulphate by sheep. **British Journal of Nutrition**, v.72, n.6 p.923-935, 1994.
- WEDEKIND, K.J.; MUNTIFERING, R.B.; BARKER, K.B. Effects of diet concentrate level and sodium bicarbonate on site and extent of forage fiber digestion in the gastrointestinal tract of wethers. **Journal of Animal Science**, v.62, n.5 p.1388-1398, 1986.
- WOODWARD, S.L.; WAGORN, K.R.; ULYATT, M.J. et al. Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emission from ruminants. In THE NEW ZELAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION. **Proceedings...** v.61, p. 23-26. 2001.
- ZEOULA, L.M.; FERELI, F.; PRADO, I.N. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2179-2185, 2006.
- ZINN, R.A.; PLASCENCIA, A. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. **Journal of Animal Science**, v.71, n.1, p.10-17, 1993.

CAPITULO 2 - Parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana, eficiência protéica e balanço de nitrogênio em novilhos de corte suplementados com tanino condensado

RESUMO - Quatro bovinos de corte, com peso vivo médio de 407 kg, fistulados no rúmen e abomaso, foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4 em esquema fatorial 2 x 2, com o objetivo de avaliar a eficiência da inclusão de tanino condensado e/ou farelo de soja (FS) a dietas de bovinos de corte submetidos a altos níveis de concentrado, com diferentes fontes protéicas, sobre o balanço de nitrogênio (BN), perfil protéico, perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal e eficiência microbiana. A alimentação basal dos animais foi composta por ração contendo 87% de concentrado e constituída por milho (moído grosso), caroço de algodão, bagaço de cana *in natura* e núcleo mineral, fornecida *ad libitum*. Os quatro tratamentos foram: dieta com farelo de soja e tanino condensado (FST); dieta com farelo de soja sem tanino condensado (FS); dieta sem farelo de soja e com tanino condensado (CAT) e dieta sem farelo de soja sem tanino condensado (CA). Como fonte de tanino condensado utilizou-se extrato de quebracho. O balanço de nitrogênio (BN) indicou que a utilização de tanino condensado melhorou a eficiência de utilização de nitrogênio ($P < 0,10$). Verificou-se efeito da interação ($P < 0,10$) entre tanino condensado e farelo de soja sobre a proteína não degradada no rúmen (PNDR), estimativa de proteína metabolizável (PM) e sobre a razão entre PM:PB. Sendo que a suplementação conjunta com TC e farelo de soja aumentou a PNDR, a estimativa de proteína metabolizável e melhorou a relação entre PM:PB. A quantidade de proteína microbiana no abomaso e a eficiência microbiana não sofreram alterações dos tratamentos avaliados ($P > 0,10$). Não houve diferença no pH, AGV e nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) ruminal frente à adição de tanino condensado, porém, os parâmetros ruminais foram influenciados pelo tempo de coleta das amostras. Houve aumento do N ingerido e do N excretado via urina e fezes ($P < 0,10$) quando adicionado farelo de soja à dieta, não havendo modificação no BN ($P > 0,10$). O $N-NH_3$ aumentou e o pH ruminal diminuiu com a inclusão de farelo de soja ($P < 0,10$). As concentrações de AGV não diferenciaram-se com a adição de farelo de soja. Verificou-se que a utilização de tanino condensado como aditivo para bovinos de corte alimentados com dietas de alto teor concentrado e com farelo de soja como fonte de proteína verdadeira implica em efeitos positivos sobre a utilização da proteína bruta, aumentando os níveis proteína metabolizável e diminuindo o desperdício de nitrogênio sem alterar os parâmetros ruminais, otimizando a assimilação de nitrogênio no ambiente ruminal.

Palavras-chave: caroço de algodão, extrato de quebracho, farelo de soja, PNDR.

Influence of condensed tannin supplementation on protein efficiency, microbial protein yield, nitrogen balance and ruminal fermentation characteristics in beef steers fed high concentrate diet

ABSTRACT - This trial was conducted to evaluate the effects of condensed tannin (TN) associated or not with a true protein source on protein efficiency, microbial protein yield, nitrogen balance and ruminal fermentation characteristics (RFC) in beef steers fed high concentrate diet (87% of DM). Four crossbred steers (407 kg of average BW) fitted with rumen cannula were assigned to a 4x4 latin square design, arranged in a 2x2 factorial arrangement. Steers were fed a basal diet based on cracked corn, whole cottonseed, sugar-cane bagasse, mineral mixture and one out of four supplements: soybean meal with condensed tannin; soybean meal without condensed tannin; condensed tannin without soybean meal and, a treatment without both soybean meal and condensed tannin. Quebracho extract were used as tannin source, included to provide 4 g of TN/100 g of diet DM. The nitrogen balance indicated that the use of TN improved the efficiency of nitrogen utilization ($P < 0.10$), however, no differences were observed when soybean meal was added to the diet ($P > 0.10$). There was an interaction ($P < 0.10$) between condensed tannin and soybean meal supplementation on flux of rumen undegradable protein (RUP), metabolizable protein (MP) and on the ratio MP:CP. In the presence of soybean meal the addition of TN increased the flux of RUP (302.24 to 416.02), MP (540.23 to 671.03) and improved the ratio MP:CP (58.69 to 46.54). The yield of microbial protein on the abomasum and the microbial efficiency did not differ among treatments ($P > 0.10$). There was no effect of TN supplementation ($P > 0.10$) on ruminal pH, VFA and ammonia (N-NH₃) concentration. N-NH₃ increased and ruminal pH decreased with the inclusion of soybean meal ($P < 0.10$) in the diet. The utilization of condensed tannin as an additive in cattle fed high concentrate diet using soybean meal as true protein source implies in positive effects on efficiency of N utilization, increasing the flux of metabolizable and decreasing nitrogen excretion with no changes in ruminal fermentation, optimizing the nitrogen assimilation by the animal.

Key words: quebracho extract, RUP, whole cottonseed, soybean meal.

Introdução

A necessidade de se buscar a redução do ciclo pecuário, produzindo uma carcaça de melhor qualidade, em um menor espaço de tempo, tem sido a tônica da pecuária de corte na atualidade, no sentido de se buscar maior retorno financeiro na atividade, atendendo, concomitantemente, aos anseios do mercado, seja ele interno ou externo. Várias ferramentas são utilizadas para acelerar o processo produtivo, dentre elas, o confinamento terminal. O uso de dietas com alto teor de concentrado tem sido justificado, nesse tipo de sistema de produção, visando proporcionar rápido ganho de peso, alta eficiência de conversão alimentar, menor gastos com mão de obra, menor necessidade de armazenamento de alimentos e, geralmente, maior uniformidade no desempenho (Bulle et al., 2002), além de melhorar as características da carcaça, como área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea (Costa et al., 2005). Adicionalmente, o emprego de volumosos na dieta dos animais, em empreendimentos de confinamento de grande porte, implica em dificuldades gerenciais e operacionais (Britton & Stock, 1987).

Entretanto, a obtenção de altos ganhos de peso, em curtos períodos de tempo, como tem sido observado nos confinamentos brasileiros, onde ainda se explora o ganho compensatório, implica em elevadas exigências nutricionais de energia e proteína, induzindo o uso de alimentos de boa qualidade nutricional, sendo que, alimentos protéicos, geralmente, representam maior custo de aquisição (Costa, 1996). Como estratégia para diminuição de custo, pode-se lançar mão de um maior aproveitamento da proteína pelo animal. Uma dessas estratégias é a utilização de taninos condensados, que são polímeros fenólicos solúveis em água, resultantes do metabolismo secundário das plantas, que no ambiente ruminal, atuam complexando proteínas, protegendo-as da degradação microbiana.

Segundo Van Soest (1994) e Lazzarini et al. (2009), as necessidades mínimas dos microrganismos ruminais, para que haja boa degradabilidade ruminal dos alimentos e bom desenvolvimento da flora microbiana é uma dieta, fornecida *ad libitum*, com 7 a 8% de proteína bruta (PB). De modo geral, quando uma dieta é balanceada para que os animais atinjam ganho médio diário (GMD) superior a 1,8 kg, observa-se que as exigências protéicas são superiores a 13% de PB na matéria seca (MS) da ração (NRC, 2000), dando a entender que os microrganismos estão sendo supridos, com sobra de proteína verdadeira oriunda da dieta, a qual passaria para o intestino delgado intacta, caracterizando a PNDR. Entretanto, quando se fornecem altos níveis de PB, não somente o necessário para o desenvolvimento pleno dos

microrganismos é utilizado, pois quase toda a proteína está disponível para degradação e a atividade microbiana no rúmen é intensa.

A conversão de proteína dietética em proteína microbiana possui uma ineficiência de cerca de 10% (NRC, 2000), pois, no processo de degradação, os microrganismos utilizam a proteína para seu crescimento, convertendo proteína da dieta em proteína microbiana ou a desaminam, liberando esqueletos de carbono e amônia. Esses dois produtos resultantes da fermentação microbiana têm sua importância no ambiente ruminal, principalmente frente à digestão de fibras. A amônia é reutilizada por outros microrganismos ruminais para síntese de proteína microbiana, ou pode ser absorvida via epitélio ruminal, indo para a corrente sanguínea. Ao passar pelo fígado, ela é metabolizada para formação de uréia, que poderá retornar ao rúmen via saliva e parede ruminal, ou ser eliminada na urina, representando perda. Além das perdas diretas através da excreção, a uréia sérica possui custo energético pela sua síntese no fígado (Alves, 2004). Devido aos processos metabólicos supracitados, não seria interessante uma degradação excessiva, sendo o ideal ter degradação protéica apenas para que as necessidades microbianas máximas sejam atingidas.

A diminuição da taxa de degradação ruminal da proteína indica um possível aumento da proteína não degrada no rúmen (PNDR) e, com isso, um aumento do fluxo de proteína metabolizável (PM), desde que a produção de proteína microbiana e a digestibilidade intestinal da proteína não sejam prejudicadas.

O aumento da PM, sem alteração da PB da dieta, pode trazer grandes impactos benéficos para o pecuarista, pois ocorre uma melhora na eficiência protéica. Como já dito, dietas para ocasionar altos desempenhos exigem fontes protéicas de excelente valor biológico, ou seja, de bom perfil aminoacídico, que sejam suficientemente degradáveis no rúmen, para atingir as necessidades microbianas e que tenham uma boa quantidade de PNDR.

Objetivou-se, portanto, avaliar a eficiência da inclusão de tanino condensado a dietas de bovinos de corte, submetidos a altos níveis de concentrado, com diferentes fontes protéicas, sobre a eficiência protéica, perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal, eficiência microbiana e balanço de nitrogênio.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada entre fevereiro e junho de 2009.

Foram utilizados quatro bovinos, zebuínos, machos não-castrados, fistulados no rúmen e no abomaso, segundo técnica descrita por Leão & Coelho da Silva (1980), com peso corporal (PC) médio de 407 ± 12 kg e idade média de 24 meses, distribuídos em um delineamento experimental em quadrado latino 4 x 4. Foram mantidos em confinamento do tipo *tie stall*, em baias individuais cobertas, com 3,3 m de área, dotadas de comedouros de alvenaria, piso de cimento e bebedouros automáticos.

Inicialmente, todos os animais foram pesados, identificados, vermifugados contra ecto e endoparasitas e submetidos a um período de adaptação à dieta com alta proporção de concentrado, no qual as quantidades de matéria seca (MS) ofertadas foram paulatinamente aumentadas de 1 % PC de MS até que o consumo voluntário fosse atingido, aumentando-se 0,2% do PC em MS a cada três dias. Caracterizou-se como consumo voluntário o momento em que as sobras remanescentes no cocho estivessem em torno de 10% da MS fornecida, fato ocorrido no 15º dia do período de adaptação.

A alimentação basal foi composta de ração contendo 87% de concentrado, com base na MS total. O volumoso foi constituído de bagaço de cana *in natura* moído e os concentrados foram formulados à base de milho moído grosso (peneira de 6 mm), farelo de soja, caroço de algodão e núcleo mineral (Tabela 1). A composição química das dietas e dos ingredientes é apresentada na Tabela 2.

Os tratamentos experimentais consistiram da inclusão ou não de 0,4% de tanino condensado purificado de quebracho, na MS total da dieta, de forma a permitir a ingestão de aproximadamente 1 g de TC por cada 10 kg de peso corporal (PC) e uso ou não de farelo de soja como fonte de proteína verdadeira. Dessa forma, quatro tratamentos experimentais foram avaliados: (i) dieta com farelo de soja e tanino condensado (FST); (ii) dieta com farelo de soja e sem tanino condensado (FS); (iii) dieta sem farelo de soja e com tanino condensado (CAT) e (iv) dieta sem farelo de soja e sem tanino condensado (CA).

Tabela 1 - Proporção de ingredientes nas dietas experimentais, em percentual na base da matéria seca

Ingrediente	Dieta experimental (% da MS)	
	Sem farelo de soja	Com farelo de soja
Bagaço de cana	13,0	13,0
Milho Grão (peneira 6 mm)	67,1	67,4
Farelo de soja	-	5,0
Uréia	1,4	1,25
Caroço de algodão	15,0	9,9
Núcleo mineral ¹	3,4	3,4

¹Composição (%): fosfato bicálcico, 41,66; sal comum, 56,79; sulfato de cobre, 0,20; sulfato de zinco, 1,19; iodato de potássio, 0,03; sulfato de cobalto, 0,05; e selenito de sódio, 0,08. Níveis de garantia (por kg do núcleo): fósforo, 31,5 g; enxofre, 31 g; sódio, 95 g; magnésio, 50 g; manganês, 1200 mg; zinco, 3000 mg; ferro, 600 mg; cobre, 600 mg; iodo, 36 mg, selênio, 10 mg; flúor, 315 mg (no máximo).

Tabela 2 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos (CNF) das dietas experimentais e dos ingredientes utilizados, com base na matéria seca

Nutriente	Dieta experimental	
	Sem farelo de soja	Com farelo de soja
MS (%)	80,11	80,05
MO	95,00	94,94
PB	13,59	14,94
EE	5,42	4,47
FDNcp	28,32	27,06
CNF	50,22	50,74

Nutriente	Ingrediente			
	Bagaço de cana	Milho	Farelo de soja	Caroço de algodão
MS (%)	47,96	86,15	87,23	88,34
MO	92,58	99,07	93,49	96,70
PB	1,93	9,00	50,26	23,72
EE	0,92	3,15	2,23	19,28
FDNcp	82,81	11,25	8,12	46,17
CNF	6,92	75,67	32,88	7,53

Como fonte de tanino condensado foi utilizado extrato de quebracho, com pureza de 76 %, sendo os 24% remanescentes compostos por outros fenóis e cinzas. Os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia, às 8h00 e ajustados de forma a manter as sobras entre 5 e 10% do fornecido, para garantia de consumo *ad libitum* de alimentos pelos animais, com água permanentemente à disposição.

O tanino condensado foi pré-misturado ao núcleo mineral, à uréia e ao farelo de soja no tratamento FST. No tratamento CAT, a pré-mistura foi apenas composta pelo núcleo mineral, uréia e o tanino condensado. Para os tratamentos sem tanino condensado forem feitas pré-misturas com o núcleo mineral, uréia e farelo de soja, sendo o último ausente do tratamento CA. As pré-misturas foram incorporadas ao restante da ração imediatamente antes do fornecimento aos animais. A quantidade de ração oferecida e a quantidade de sobras foram registradas diariamente.

Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo 14 destinados à adaptação dos animais à dieta e os outros sete às coletas de amostras e dados. Na avaliação e comparação dos efeitos dos tratamentos testados, foram observados o balanço de nitrogênio, produção de proteína microbiana, eficiência protéica e parâmetros ruminais.

Para estimar o fluxo de matéria seca abomasal, foi utilizado óxido crômico, o qual foi acondicionado em cartuchos de papel e introduzido diretamente no rúmen dos animais, através da fístula, em uma única dose diária de 15 g, às 08 horas, iniciando-se no dia 10 e indo até o dia 18 de cada período.

Durante os dias 15, 16, 17 e 18 de cada período experimental, foram coletados aproximadamente 200 mL de digesta abomasal de cada animal, em intervalos de 15 horas no seguinte esquema: dia 15; coletas às 07:00 e 22:00 hs; dia 16, coleta às 13:00 hs; dia 17, coleta às 04:00 e 19:00 hs e dia 18 às 10:00 hs. Imediatamente após as coletas, as amostras foram congeladas em ultra-freezer a -80°C e, depois, liofilizadas por 72 horas para retirada da água por meio de sublimação, sendo este processo caracterizado como pré-secagem. Posteriormente, foram moídas em moinho tipo faca, com peneira contendo crivos de 1 mm.

Para avaliação do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃), foram realizadas coletas de líquido ruminal no décimo oitavo dia de cada período experimental. As amostras foram coletadas, manualmente, às 08:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00, 18:00 e 20:00 hs, portanto 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a alimentação dos animais. As leituras de pH foram feitas imediatamente após as coletas, utilizando-se potenciômetro digital. Depois de obtidas as leituras de pH, alíquotas de 50 mL de líquido ruminal foram filtradas em uma camada tripla de gaze e adicionadas em um recipiente contendo 1mL de H₂SO₄ (1:1) e, então, congeladas a -20°C para posterior análise quanto às concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal,

segundo o método colorimétrico descrito por Chaney & Marbach (1962) e adaptado pelo Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios - UFV (Oliveira, 2003).

No mesmo dia, para a avaliação da concentração dos ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, foram coletadas amostras de 50 mL de líquido ruminal, nos horários de zero (antes da primeira alimentação), duas, quatro, seis e oito horas após o fornecimento da dieta, simultaneamente à avaliação de pH e N-NH₃ ruminal. Posteriormente, as amostras de cada animal foram filtradas em camada tripla de gaze e armazenadas a -20°C para posterior análise. Após o descongelamento, alíquotas de 2 mL foram retiradas de cada amostra, às quais se adicionou 1 mL de ácido metafosfórico a 20%. Em seguida, foram centrifugadas a 38.000 g, por 15 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para as leituras das concentrações de ácido acético, propiônico e butírico. As leituras de AGV foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC), marca SHIMADZU SPD-10 A VP, com detector ultravioleta (UV) e em comprimento de onda de 210 nm. A coluna usada foi C18 (fase reversa). Utilizou-se como fase móvel ácido fórmico 0,1% em água, com fluxo de 1,5 mL/minuto, pressão da coluna de 168 kgf e volume injetado de 20 µL.

Durante o décimo nono dia de cada período experimental, foram realizados os procedimentos de isolamento de microrganismos ruminais, conforme metodologia descrita por Cecava et al. (1990). As análises laboratoriais das amostras de bactérias ruminais foram realizadas segundo Silva & Queiroz (2002).

As amostras de bagaço de cana *in natura*, ingredientes do concentrado, sobras, fezes e conteúdo abomasal foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), seguindo as recomendações de Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram estimados e corrigidos para cinza e proteína, de acordo com as recomendações de Mertens (2002).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos foi calculado pelas bases de purinas, segundo o método descrito por Ushida et al. (1985). O fluxo de N microbiano na digesta abomasal foi calculado utilizando-se a relação N purina:N total, obtida no experimento. A estimativa de proteína microbiana no abomaso (Pmic) foi obtida pela quantidade de N microbiano no abomaso, multiplicado por 6,25, correspondente ao teor de N na proteína.

O cálculo do balanço de nitrogênio foi realizado determinando-se a quantidade média de nitrogênio ingerido durante os três dias (15^o ao 17^o) em que se mediu o consumo dos animais, descontando-se desse valor a quantidade excretada pelos animais. O nitrogênio excretado foi calculado a partir da quantidade média de nitrogênio nas fezes e na urina, durante os dias de coleta. Por sua vez, a concentração total de nitrogênio na urina, nas fezes e nos alimentos foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme descrito por Silva & Queiroz (2002).

O fluxo de proteína não degradada no rúmen (PNDR) foi determinado por diferença, sendo a quantidade de proteína bruta total no abomaso subtraída da quantidade de proteína bruta microbiana proveniente do rúmen, não sendo consideradas as perdas endógenas de proteína para os cálculos.

$$PNDR = PB\ abom - Pmic$$

em que:

- PNDR = fluxo de proteína não degradada no rúmen (kg/dia);
- PB abom = PB total no abomaso (kg/dia);
- Pmic = proteína microbiana no abomaso (kg/dia).

A determinação da quantidade de proteína degradada no rúmen (PDR) foi obtida subtraindo-se, da proteína bruta (PB) ingerida pelos animais, a PNDR:

$$PDR = PB\ ingerida - PNDR$$

em que:

- PDR = proteína degradada no rúmen (kg/dia);
- PB ing = proteína bruta ingerida (kg/dia).

Para a quantificação da disponibilidade de proteína metabolizável (PM), foi utilizada a equação abaixo, onde 0,64 (0,8 x 0,8) representa a digestibilidade da proteína microbiana e a quantidade de proteína verdadeira dos microrganismos e 0,8 a digestibilidade intestinal da proteína não degradada no rúmen (PNDR), segundo NRC (2000).

$$PM = Pmic \times 0,64 + PNDR \times 0,8$$

A soma de quadrado para tratamentos foi decomposta, segundo esquema fatorial 2 x 2 (fornecimento ou não de farelo de soja e fornecimento ou não de tanino condensado).

A análise das estimativas de medidas repetidas no tempo (AGV, pH e amônia) foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED (PROC MIXED) do SAS, sendo que os parâmetros foram estimados pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML). Testou-se os efeitos de tempo, presença ou ausência de tanino condensando (TC) ou farelo de soja (FS) nas dietas, bem como todas as possíveis interações. O modelo utilizado para as análises foi:

$$y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + TC_k + FS_l + T_m + (TC * FS)_{kl} + (TC * T)_{km} + (FS * T)_{lm} + (TC + FS + T)_{klm} + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde

- Y_{ijklm} : valor observado no m-ésimo tempo de coleta do i-ésimo animal do j-ésimo período recebendo o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;
- μ : constante geral;
- A_i : efeito aleatório do i-ésimo animal;
- P_j : efeito aleatório do j-ésimo período;
- TC_k : efeito fixo do k-ésimo nível de TC;
- FS_l : efeito fixo do l-ésimo nível de FS;
- T_m : efeito fixo do m-ésimo tempo (hora de coleta);
- $(TC*FS)_{kl}$: efeito fixo da interação entre o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;
- $(TC*T)_{km}$: efeito fixo da interação entre o k-ésimo nível de TC e m-ésimo tempo;
- $(FS*T)_{lm}$: efeito fixo da interação entre o l-ésimo nível de FS e m-ésimo tempo;
- $(TC*FS*T)_{klm}$: efeito fixo da interação entre o k-ésimo nível de TC, l-ésimo nível de FS no m-ésimo tempo;
- ε_{ijklm} : erro aleatório associado com Y_{ijklm} .

Caso o efeito tempo (T_m) tenha sido significativo, foi verificado qual o melhor modelo para a característica em função do tempo, por meio de contrastes de polinômios ortogonais até o modelo quártico.

Para as demais análises (balanço de nitrogênio e eficiência de utilização da proteína) foi utilizado o seguinte modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + TC_k + FS_l + (TC * FS)_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que:

- Y_{ijkl} : valor observado no m-ésimo nível de tempo do i-ésimo animal do j-ésimo período recendo o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;

- μ : constante geral;

- A_i : efeito aleatório do i-ésimo animal;

- P_j : efeito aleatório do j-ésimo período;

- TC_k : efeito fixo do k-ésimo nível de TC;

- FS_l : efeito fixo do l-ésimo nível de FS;

- $(TC*FS)_{kl}$: efeito fixo da interação entre o k-ésimo nível de TC e l-ésimo nível de FS;

- ε_{ijkl} : erro aleatório associado com Y_{ijkl} .

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*), adotando-se 0,10 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Não foi verificado efeito de interação ($P > 0,10$) entre a suplementação com tanino condensado e inclusão de farelo de soja à dieta sobre o balanço de nitrogênio, a quantidade de nitrogênio ingerido (N ingerido), excretado nas fezes e na urina e sobre a eficiência de utilização de nitrogênio (Tabela 3).

Verificou-se efeito ($P < 0,10$) da adição de farelo de soja sobre a quantidade de N ingerido, N nas fezes e N na urina (Tabela 3), o que ocorreu, provavelmente, em virtude da maior concentração de PB (14,84% *versus* 13,67% de PB) das dietas em que se incluiu farelo de soja (Tabela 3) já que o consumo de MS total foi o mesmo entre os tratamentos (dados não apresentados). O aumento do consumo de nitrogênio com o aumento do teor de proteína bruta da dieta tem sido observado em vários estudos (Valadares et al., 1997; Ítavo et al., 2002; Cavalcante et al., 2006; Pessoa et al., 2009), embora no presente estudo se buscou obter dietas isoprotéicas.

Tabela 3 - Médias e coeficiente de variação (CV), dos compostos nitrogenados (N) ingeridos, excretados nas fezes (N fezes) e urina (N urina), balanço dos compostos nitrogenados (BN) e eficiência de uso do nitrogênio (EfN), expressos em g/dia, de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Efeito ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
N ingerido	152,25	153,91	185,73	182,92	10,33	0,940	0,018	0,860
N fezes	43,33	38,43	50,84	49,55	14,92	0,602	0,063	0,258
N urina	79,78	61,01	93,07	87,13	13,28	0,060	0,010	0,274
BN	29,14	54,47	41,83	46,24	32,55	0,039	0,958	0,614
EfN (%) ³	19,14	35,39	22,52	25,28	29,63	0,017	0,151	0,285

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente. ³/ Percentual expresso em função dos compostos nitrogenados ingeridos.

Uma maior excreção de N nas fezes está relacionada à magnitude do consumo de N, já que, quanto maior o nível de nitrogênio fornecido, menor é o seu coeficiente de digestibilidade e, conseqüentemente, maior quantidade de N excretado (Cavalcante et al., 2006).

A excreção de nitrogênio na urina foi maior ($P < 0,10$) nos animais alimentados com as rações contendo farelo de soja (Tabela 3). Segundo Van Soest (1994), a excreção de nitrogênio na urina é maior quando a concentração de PB na dieta e a ingestão de nitrogênio pelo animal aumentam. Valadares et al. (1997) também observaram maior excreção de nitrogênio na urina de novilhos zebuínos em função do aumento do teor protéico da dieta.

O balanço de nitrogênio não foi influenciado ($P > 0,10$) pela retirada de farelo de soja da dieta (Tabela 3) e apresentou valor médio de 42,9 g/dia. Nas dietas em que a fonte de proteína verdadeira foi o caroço de algodão, tanto a ingestão quanto a excreção de N foram inferiores (Tabela 3) em relação às dietas com farelo de soja, resultando, no balanço final, na mesma retenção de N. A porcentagem de nitrogênio retido em relação ao nitrogênio consumido também não foi influenciada ($P > 0,10$) pela retirada do farelo de soja da dieta (Tabela 3).

O consumo e a excreção fecal de nitrogênio dos animais alimentados com ração sem tanino condensado foram semelhantes ($P > 0,10$) ao daqueles mantidos com dieta que continha TC (Tabela 3), uma vez que essas dietas apresentaram teores de proteína bruta muito próximos e não apresentaram diferenças no consumo de MS e na digestibilidade aparente total da proteína bruta (dados não apresentados).

A excreção de nitrogênio na urina foi menor ($P < 0,10$) para os animais suplementados com tanino condensado (Tabela 3), em relação àqueles que não receberam esse aditivo em suas dietas. O TC, quando adicionado à dieta de ruminantes em níveis adequados, diminui a degradação ruminal da proteína (Hervás et al., 2004). De acordo com Santos et al. (2001), quanto menor a degradação da proteína dietética, menor é a produção de amônia ruminal e, conseqüentemente, menores são as perdas de nitrogênio na urina. Diversos trabalhos têm verificado que a adição de tanino à dieta de ruminantes resulta em menor excreção urinária de N e, conseqüentemente, maior retenção e eficiência de uso desse nutriente (Driedger & Hatfield, 1972; Nsahlai et al., 1999; Komolong et al., 2001; Bengaly et al., 2007).

O balanço de nitrogênio e a eficiência de utilização de nitrogênio apresentaram resultados ($P < 0,10$) favoráveis à adição de tanino condensado (Tabela 3). Em média, os animais alimentados com as dietas contendo tanino retiveram mais 42,91% de nitrogênio, que foi depositado com uma eficiência 45,63% superior em relação aos animais que não tiveram acesso ao tanino (Tabela 3). Em alguns trabalhos que avaliaram a retenção e o balanço de nitrogênio em ruminantes alimentados com forrageiras contendo diferentes concentrações de TC, observaram-se aumento das perdas de N pelas fezes e diminuição destas perdas pela urina (Ramirez et al., 1998; Sliwinski et al., 2002). Estes resultados indicam maior retenção de nitrogênio em dietas com níveis moderados de TC (0,5-3 % da MS da dieta).

Portanto, como neste trabalho, observou-se mesmo consumo de N (168,70 g/dia), mesma excreção fecal de nitrogênio (45,54 g/dia) e menor excreção de N na urina (86,43 *versus* 74,07 g/dia) quando foi adicionado TC, obteve-se, conseqüentemente, maior eficiência de utilização de nitrogênio (20,83 vs 30,34%). A retenção de nitrogênio foi maior nas dietas contendo TC, mostrando uma melhor utilização do nitrogênio pelos animais. Tal fato permite inferir que, quando se adiciona tanino condensado em dietas de alto teor de concentrado, possibilita ao animal um melhor uso da proteína ingerida, pois os resultados obtidos indicam maior assimilação da mesma.

Calculando-se as proporções de N urinário em relação ao consumo total de N, obtêm-se os resultados de 51,4 e 43,9% para as dietas sem e com TC, respectivamente. Ou seja, os animais pertencentes aos tratamentos sem tanino condensado excretaram 7,5 unidades percentuais a mais de N na urina, proporcionalmente ao N consumido, comparados aos dos tratamentos com TC, os quais apresentaram maior eficiência do uso de nitrogênio.

Não houve efeito ($P < 0,10$) da interação entre adição de tanino condensado x adição de farelo de soja para os parâmetros proteína bruta ingerida (PB), proteína degradada no rúmen (PDR), porcentagem de proteína não degradada no rúmen (PNDR) e PDR, síntese de proteína microbiana (Pmic) e eficiência microbiana, sendo que a interação entre os fatores foi significativa ($P < 0,10$) para a estimativa do fluxo de PNDR, proteína metabolizável (PM) e sobre a razão PM:PB (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias e coeficientes de variação (CV) da proteína bruta ingerida (PBI), proteína não degradada no rúmen ingerida (PNDR), proteína degradada no rúmen ingerida (PDR), síntese de proteína microbiana (Pmic) e disponibilidade de proteína metabolizável (PM), expressos em g/dia, porcentagem de PNDR, PDR e PM em relação a PB ingerida, e eficiência de síntese microbiana (Ef. mic), de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Efeito ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
PBI	951,56	961,94	1160,83	1143,28	10,33	0,940	0,018	0,860
PNDR	232,26	253,26	302,24	416,02	28,01	0,161	0,033	0,093
PDR	719,30	708,68	858,59	727,26	9,05	0,083	0,060	0,127
PNDR (%)	24,41	26,33	26,04	36,39	26,33	0,132	0,157	0,425
PDR (%)	75,59	73,67	73,96	63,61	10,53	0,132	0,157	0,425
Pmic	491,63	483,07	466,31	528,45	13,36	0,447	0,771	0,324
PM	500,45	511,78	540,23	671,03	9,71	0,039	0,010	0,069
PM:PB	52,59	53,20	46,54	58,69	3,96	0,001	0,425	0,002
Ef. Mic ³	93,64	93,62	94,59	94,53	13,62	0,936	0,807	0,786

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente ³/ Espresso em g/kg de NDT ingerido.

O desdobramento da interação em relação à quantidade de proteína não degradada no rúmen (PNDR), disponibilidade de proteína metabolizável (PM) e razão entre a proteína metabolizável e proteína bruta (PM:PB) indicou que os animais que receberam o tratamento com farelo de soja e tanino condensado tiveram maior quantidade de proteína passando intacta do rúmen para o abomaso, possivelmente aumentando a quantidade de proteína metabolizável no intestino e melhorando a conversão de PB ingerida em PM, o que não ocorreu quando o tanino foi adicionado à dieta, cuja fonte de proteína verdadeira foi exclusivamente o caroço de algodão (Tabela 4).

A avaliação conjunta dessas variáveis sugere que a diminuição da degradabilidade ruminal da proteína bruta no tratamento farelo de soja + tanino foi suficiente para propiciar aumento da quantidade de PNDR que chegou ao intestino para ser absorvida. Como não houve diminuição ($P > 0,10$) na quantidade de proteína

microbiana chegando ao abomaso (Tabela 4) em função dos tratamentos, houve, conseqüentemente, um aumento da quantidade de proteína disponível para a absorção no intestino delgado, ou seja, a inclusão de tanino condensado à dieta com farelo de soja resultou em um aumento médio de 24,21% no fluxo de PM (Tabela 4).

Nesse estudo, para estimar a proteína metabolizável (PM) utilizou-se a equação sugerida pelo NRC (2000), a qual considera que a digestibilidade da PNDR é a mesma para qualquer tipo de alimento (80% de absorção intestinal). Tal fato, pressuposto pelo NRC (2000), pode gerar dúvidas quanto à absorção dos aminoácidos (AA) no intestino e à utilização destes pelo animal, pois diferentes alimentos possuem diferentes perfis aminoacídicos (Valadares Filho et al., 2006), com digestibilidades intestinais também diferentes (Marcondes et al., 2009). No entanto, Loyola et al. (1998) e Alipour & Rouzbehan (2009), em testes *in vitro*, observaram maior digestibilidade intestinal da PNDR de alimentos tratados com tanino condensado. Os motivos de tal aumento ainda não estão bem claros, porém, provavelmente, o perfil aminoacídico da PNDR que passa por tratamento com TC é diferente da PNDR de dietas controle (sem TC), pois esta apresenta proteínas em seu perfil que, sem a formação do complexo tanino-proteína, seriam degradadas pelos microrganismos ruminais e o perfil de aminoácidos dessas proteínas pode possuir maior digestibilidade intestinal.

Como encontrado nesse trabalho, e de acordo com várias outras pesquisas (Makkar et al., 1988; Min et al., 2003), os taninos condensados são capazes de reduzir a degradação ruminal da proteína e, possivelmente, aumentar o aporte de aminoácidos no intestino (Kariuki & Norton, 2008). O aumento do aporte de PNDR, por meio da utilização de TC em baixas concentrações, pode acarretar em maior desempenho animal (Wang et al., 1996a e 1996b; Min et al., 1999), devido a um aumento no fluxo de aminoácidos essenciais para o intestino e aumento na absorção de aminoácidos para o sangue (Waghorn & Shelton, 1997).

Além disso, alguns trabalhos (Bandyk et al. 2001; Atkinson et al. 2007a, 2007b) utilizando diferentes níveis de PNDR na dieta, difundiram a hipótese de que a PNDR não só vai fornecer proteína metabolizável adicional para a deposição de tecido, mas também servirá como fonte de N para a reciclagem endógena, sendo que a deaminação e conseqüente produção de N uréico dos AA da PNDR, que ocorre no fígado, ocorre de forma mais lenta que a formação de uréia através da reciclagem de amônia proveniente do rúmen. Este fato, além de moderar os níveis de amônia ruminal, imediatamente após a suplementação (Bohnert et al., 2002), favorece a

formação de um ambiente ruminal mais estável, resultando em um aumento na eficiência de utilização de N pelo animal e, concomitantemente, um potencial aumento de produção.

Ainda sobre a PNDR, os animais dos dois tratamentos que receberam farelo de soja apresentaram maior fluxo de PNDR no abomaso ($P < 0,10$) em relação aos que não receberam farelo de soja (Tabela 4), ocorrendo o mesmo quanto à ingestão de proteína degradada no rúmen (PDR). Como a relação percentual de PDR e PNDR em relação à PB da dieta não diferiu entre esses tratamentos ($P > 0,10$) e o consumo de PB total foi superior nos tratamentos recebendo farelo de soja ($P < 0,10$), o aumento da PDR e PNDR frente à adição de farelo de soja é dado pelo aumento do consumo total de PB.

A modificação na razão PM:PB, observada quando foi adicionado tanino condensado e farelo de soja (Tabela 4), indicou que houve aumento na eficiência de utilização da PB total da dieta da ordem de 26%, o que pode acarretar em diminuições nos custos de produção (melhor utilização da proteína) e diminuição na excreção de nitrogênio que seria ambientalmente interessante (Hesse et al., 2006).

Apesar de os resultados de digestibilidade ruminal, associados à digestibilidade aparente total da PB e do balanço de nitrogênio terem apontado uma menor perda de nitrogênio pelos animais que receberam TC na dieta, as determinações da proteína de origem microbiana (Pmic) no conteúdo abomasal não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,10$), indicando que os TC não diminuíram a atividade microbiana do rúmen (Tabela 4).

Segundo Scalbert (1991), os taninos condensados atuam sobre a diminuição ou inibição de microrganismos ruminais, podendo levar à diminuição da eficiência microbiana. Essa toxicidade ocorre através da inibição de enzimas e privação de substrato, ação do TC nas membranas celulares e privação de íons metálicos e proteína. Porém, diversos autores têm identificado cepas de bactérias ruminais capazes de tolerar os taninos (Nelson, 1996; Silanikove et al., 2001). Valores de 62,5; 56,25; 81,25 e 81,25 g de Pmic por dia foram encontrados por Komolong et al. (2001), utilizando 0, 20, 40 e 60 g/dia de extrato de quebracho, em dietas para ovinos. Estes valores não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,10$), apesar dos autores também terem encontrado diferenças significativas nos valores de digestibilidade ruminal do nitrogênio ($P < 0,10$), o que corrobora com os resultados desse trabalho.

Além disso, testes *in vitro*, feitos com tanino já complexado à proteína, mostraram que o tanino condensado não afetou o crescimento de microrganismos sensíveis aos taninos e que a adição de polietilenoglicol [agente complexante do tanino que impede sua ação (Makkar, 2003)] ao meio de incubação, contendo microrganismos ruminais e FDN e rico em taninos condensados, aumentou a produção de gás em até 100% (Makkar, 2003). Estes resultados sugerem que TC já complexados às proteínas parecem ser inertes e não afetam a fermentação microbiana. Porém, quando liberados no meio, podem afetar a fermentação microbiana. Esse pressuposto sugere que, no atual experimento, houve complexação prévia entre os taninos condensados e as proteínas, uma vez que os TC foram misturados ao farelo de soja bem antes do fornecimento aos animais, de forma que não foram capazes de reduzir a atividade da fauna ruminal e a síntese de proteína microbiana (Tabela 4).

Estudos de Makkar et al. (1995; 1997) mostraram que os efeitos benéficos dos taninos condensados *in vivo* também poderiam ser devido à maior eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen. A conclusão de que a eficiência de síntese de proteína microbiana é maior na presença de taninos foi efetuada através de duas abordagens diferentes: (i) utilizando taninos purificado (Makkar et al., 1995) e (ii) usando polietileno glicol (PEG), onde sua presença diminuiu a eficiência de síntese de proteína microbiana. No segundo caso (Makkar et al., 1997), o PEG agiu liberando nutrientes que estavam complexados com TC. Isso seria benéfico no caso de dietas com alta concentração de tanino, o qual reduziria a digestibilidade dos nutrientes. No entanto, a adição de PEG, apesar de aumentar a disponibilidade dos nutrientes dos alimentos, diminuiu a eficiência da sua utilização para síntese de proteína microbiana, provavelmente devido a desperdícios de energia liberada.

A partir da discussão acima, fica evidente que os taninos, em níveis e situações específicas, têm o potencial de modular a fermentação ruminal, maximizando a síntese de proteína microbiana. A diminuição da taxa de digestão da proteína dos alimentos pelos taninos poderia ajudar a sincronizar a disponibilidade de vários nutrientes, que, por sua vez, pode ser responsável por aumentar a eficiência microbiana (Makkar, 2003). A concentração ideal de tanino para validar essa hipótese ainda é desconhecida (Makkar, 2003), porém, ela deve ser alta o suficiente para complexar substratos e baixa o suficiente para que a digestibilidade verdadeira dos substratos (com exceção da proteína) não seja diminuída (Makkar et al., 1995). A vantagem proporcionada pela maior eficiência de síntese de proteína microbiana (maior

conversão de substrato alimentício em massa microbiana) reflete na diminuição do valor absoluto do substrato verdadeiramente degradado, levando a uma maior eficiência de utilização da PDR pelos microrganismos.

Como é bem conhecido, existem determinados parâmetros indicativos da fermentação ruminal (pH, amônia e AGV) que podem ilustrar as alterações observadas nas características de degradação ruminal. Dentre esses, não foram verificados efeitos ($P > 0,10$) da interação entre a suplementação com tanino condensado e a inclusão de farelo de soja à dieta (Tabela 5). Frente à inclusão de TC, o pH ruminal se manteve em uma faixa normal em todos os horários (6,3 - 7,4; Figura 2), sendo afetado somente pela inclusão de farelo de soja às dietas (Tabela 5). Do mesmo modo, as concentrações de amônia e ácidos graxos voláteis totais também não mostraram diferenças ($P > 0,10$) com a adição de tanino condensado às dietas (Tabela 5), sendo que somente o ácido propiônico sofreu alteração ($P < 0,10$) pela inclusão de TC.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação do pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃), em mg/dL, concentração total dos ácidos graxos voláteis, concentração de ácidos acético, propiônico e butírico, expressos em mmol/dL no líquido ruminal; proporções de ácidos acético, propiônico e butírico e relação acetato/propionato, de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Sem FS ¹		Com FS ¹		CV (%)	Efeito ²		
	Sem tanino	Com tanino	Sem tanino	Com tanino		Tanino	FS	Tanino x FS
pH ruminal ³	6,9	6,8	6,7	6,6	7,56	0,519	0,036	0,932
Amônia ruminal ³	13,60	11,78	20,17	15,11	56,03	0,212	0,063	0,393
	mmol/dL							
AGV ^{4,5}	9,86	10,26	10,77	10,19	42,12	0,990	0,642	0,569
Ácido acético ⁴	6,71	6,75	7,41	6,73	51,17	0,688	0,673	0,647
Ácido propiônico ⁴	1,91	2,34	2,22	2,41	44,65	0,077	0,154	0,425
Ácido butírico ⁴	1,28	1,25	1,10	1,13	24,69	0,855	0,037	0,690
	% de AGV							
Ácido acético ⁴	65,12	63,75	64,02	63,57	15,20	0,678	0,770	0,832
Ácido propiônico ⁴	20,15	21,19	22,45	22,42	25,85	0,746	0,260	0,732
Ácido butírico ⁴	14,71	15,05	13,51	13,99	57,65	0,727	0,331	0,950
Acetato/Propionato ⁴	3,67	3,34	3,18	2,91	39,27	0,401	0,205	0,945

¹/ FS = farelo de soja. ²/Tanino, FS e Tanino x FS = efeitos relativos à suplementação com tanino, inclusão de farelo de soja à dieta e sua interação, respectivamente ³/Valores médios obtidos em sete avaliações. ⁴/Valor médio obtido em cinco avaliações. ⁵/ soma de ácido acético, propiônico e butírico em mmol/dL.

Não foram observadas interações ($P>0,10$) entre os efeitos do momento de amostragem (tempo), adição de tanino condensado (TC) ou farelo de soja às dietas para todas as variáveis repetidas no tempo. Para as variáveis concentração molar de ácido butírico e porcentagem de ácidos acético propiônico e butírico a análise estatística demonstrou que não houve influência do tempo ($P>0,10$) de amostragem. Portanto, as respostas condizentes a estas variáveis geradas pelos tratamentos são estatisticamente constantes ao longo do tempo. Logo, não existe uma relação entre as variáveis e o tempo, impossibilitando a geração de equação. Para as demais variáveis, o tempo foi significativo ($P>0,10$) e as equações geradas estão nas Figuras 1, 2, 3 e 4.

De modo geral, várias pesquisas (Waghorn et al., 1994; Wang et al., 1996b; Barry & McNabb, 1999; McSweeney et al., 2001) indicaram que a ingestão de TC reduz a degradação de proteína e também a concentração de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) no rúmen. No entanto, alguns autores (Makkar et al., 1995; Waghorn & Shelton, 1997) afirmaram que, com concentrações de TC inferiores a 50 g/kg de MS ingerida, seus efeitos não se refletem nos parâmetros indicativos da fermentação ruminal (pH, amônia e AGV). Contudo, quando fornecidas dietas com concentrações de TC maiores que 50 g/kg de MS têm-se uma redução nos produtos finais da fermentação, em função das maiores alterações sofridas no rúmen. Como a concentração de TC empregada no presente estudo foi baixa (4 g/kg MS), a não observação de seus efeitos sobre os parâmetros ruminais pode ser considerada normal, muito embora a digestibilidade ruminal da proteína tenha sofrido redução (dados não apresentados).

Na Figura 2, são demonstradas as estimativas do pH do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta das amostras, de acordo com os tratamentos experimentais. Verificou-se comportamento quártico (Figura 2) com queda do pH 1,2 horas após o fornecimento de alimento até 7,4 horas após a alimentação, quando então se estabilizou. Tal comportamento se deve, provavelmente, à intensificação do processo de fermentação pós-prandial e ao conseqüente aumento das concentrações de ácidos graxos voláteis (Figura 3) após as primeiras horas após alimentação.

A concentração ruminal de $N-NH_3$ observada nos animais dos tratamentos que continham tanino condensado não diferiu ($P>0,10$) da observada no grupo controle (Tabela 5), obtendo-se valor médio de 15,16 mg/dL. Os valores encontrados para as máximas concentrações de N-amoniacal ruminal, em função do tempo de coleta (Figura 1), estão de acordo com Mehrez et al. (1977), os quais sugeriram que a máxima atividade fermentativa ocorreria quando as concentrações de N amoniacal estiverem entre 19 e 23 mg/100 mL de líquido ruminal. Satter & Slyter (1974)

sugeriram que concentrações ruminiais de NH_3 abaixo de 5,0 mg/dL poderiam restringir a produção de proteína microbiana. Em quaisquer dos tempos de coleta, em todos os tratamentos, os valores de N-NH_3 sempre estiveram acima desse valor limite, o que explicaria, também, a ausência de efeito de tratamentos sobre a produção de proteína microbiana (Tabela 4).

As concentrações de N-NH_3 foram influenciadas cúbicamente (Figura 1) pelos tempos de coleta, sendo máximas em torno de 3,6 horas após o fornecimento das rações, independentemente do tratamento.

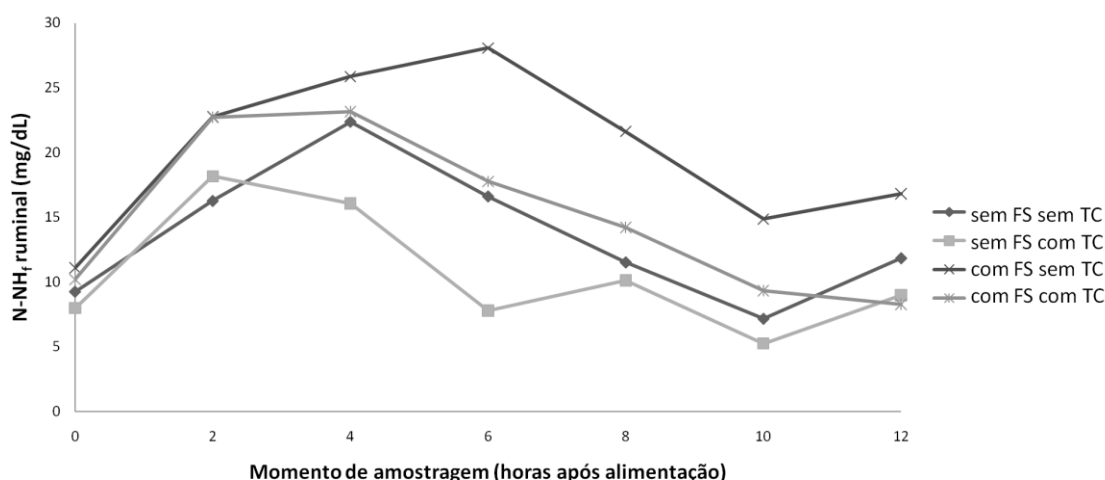


Figura 1 - Valores médios de N-NH_3 ruminal em função do momento de amostragem e tratamentos. Equação do comportamento do N amoniacal ruminal: $\text{N-NH}_3 = 9,7717 + 8,1765 \times \text{tempo} - 1,5117 \times \text{tempo}^2 + 0,0703 \times \text{tempo}^3$.

As proporções molares de AGV totais no fluido ruminal não apresentaram diferenças ($P > 0,10$) quando se adicionou farelo de soja e/ou tanino condensado às dietas (Tabela 5 e Figura 3). Estudos *in vitro* demonstraram uma maior proporção de propionato no sistema de fermentação com a adição de taninos (Makkar et al., 1995). No entanto, as proporções molares de ácidos graxos de cadeia curta frente ao uso de tanino condensado são inconsistentes em ensaios *in vivo* (Wang et al., 1996a), ainda deixando dúvidas sobre qual é seu verdadeiro efeito e, conseqüentemente, quais são suas causas. No entanto, a maior ($P < 0,10$) concentração de ácido propiônico nos tratamentos com tanino condensado (Tabela 5), provavelmente seja devida a alterações no perfil microbiano ruminal.

O comportamento da concentração de AGV totais devido ao efeito dos tempos de coleta das amostras foi cúbico ($P < 0,10$) (Figura 3). O pico de concentração de AGV foi obtido 6,2 horas após a alimentação, em todos os tratamentos. Aproximadamente nas primeiras duas horas após o fornecimento do alimento, o nível de AGV total se

manteve estável, depois aumentando até a sexta hora, quando, então, começou a decair. Este comportamento ocorreu devido à intensificação do processo de fermentação ruminal após o início da alimentação e à provável diminuição na intensidade de consumo após algumas horas de alimentação, caracterizando o aumento e a queda da concentração de AGV total, respectivamente.

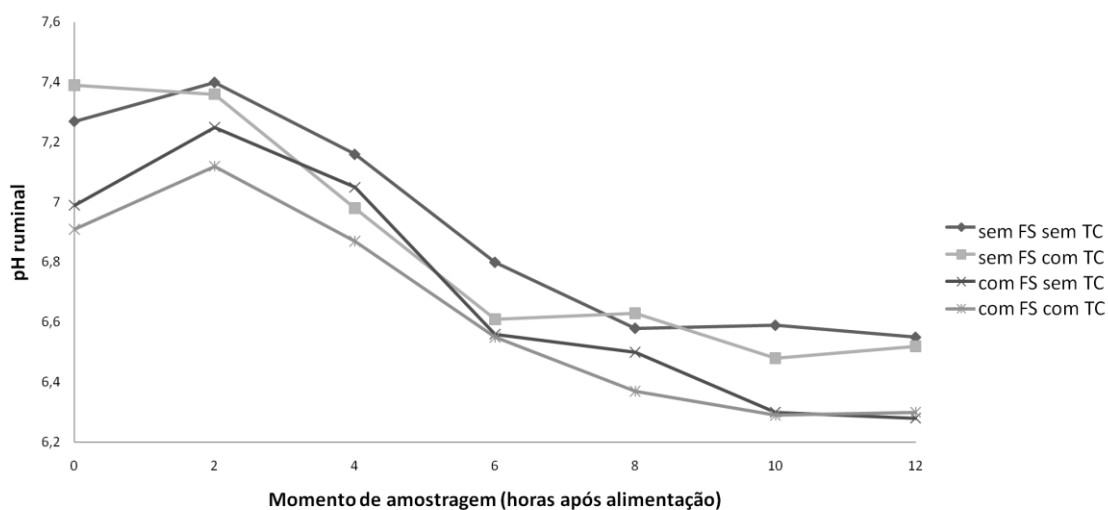


Figura 2 - Valores médios do pH ruminal em função do momento de amostragens amostragens e dos tratamentos. Equação do comportamento do pH ruminal: $pH = 7,1443 + 0,2562 \times tempo - 0,1174 \times tempo^2 + 0,0129 \times tempo^3 - 0,00044 \times tempo^4$.

O comportamento da concentração de ácido acético devido ao efeito dos tempos de coleta das amostras foi cúbico ($P < 0,10$) (Figura 4), apresentando menor concentração uma hora após alimentação e maior concentração 6,4 horas após alimentação, sendo semelhante ao comportamento dos ácidos graxos voláteis totais (Figura 3). E o comportamento da concentração de ácido propiônico devido ao efeito dos tempos de coleta das amostras foi quadrático ($P < 0,10$) (Figura 4), apresentando maior concentração predita quatro horas e meia após a alimentação.

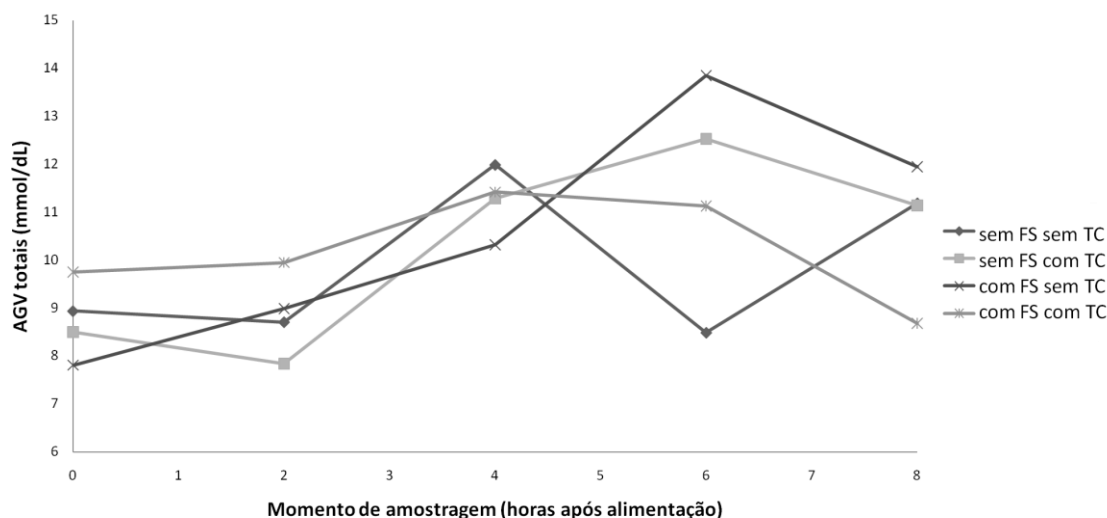


Figura 3 - Valores médios da concentração de ácidos graxos voláteis totais (AGV) ruminais em função do momento de amostragem e tratamentos. Equação do comportamento dos ácidos graxos totais: $AGV_t = 9,1382 - 0,6310 \times \text{tempo} + 0,4137 \times \text{tempo}^2 - 0,0388 \times \text{tempo}^3$.

Dietas com alto teor de concentrado proporcionam grandes benefícios, principalmente quando os custos dos concentrados são vantajosos e a produção e manipulação de volumosos passam a se tornar difíceis em função do tamanho do empreendimento de confinamento. Em contrapartida, o uso dessas dietas pode produzir, no rúmen, grandes quantidades de ácido láctico, que podem vir a causar problemas ruminais, como a acidose e a paraqueratose. Os menores valores de pH observados (Figura 2) situaram-se próximos ao limite superior proposto como ideal por Owens & Goetsch (1988), que sugeriram que o pH do fluido ruminal varia entre 5,5 e 6,5 para dietas ricas em concentrado. Esse elevado pH possivelmente ocorreu devido à presença de monensina sódica (em todos os tratamentos, a qual limita a proliferação de bactérias produtoras de lactato (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* spp.); à granulometria do milho fornecido (6 mm), fazendo com que a superfície específica de contato fosse reduzida, diminuindo a taxa e extensão da digestão ruminal do amido (Turgeon et al., 2010); e devido à utilização de bagaço de cana *in natura*, que, por possuir alto teor de fibra com alta efetividade, é capaz de estabilizar o ambiente ruminal por meio de maior salivacção e ruminação, promovendo menor taxa de passagem e elevando, dessa forma, o tamponamento ruminal (Bulle et al., 2002).

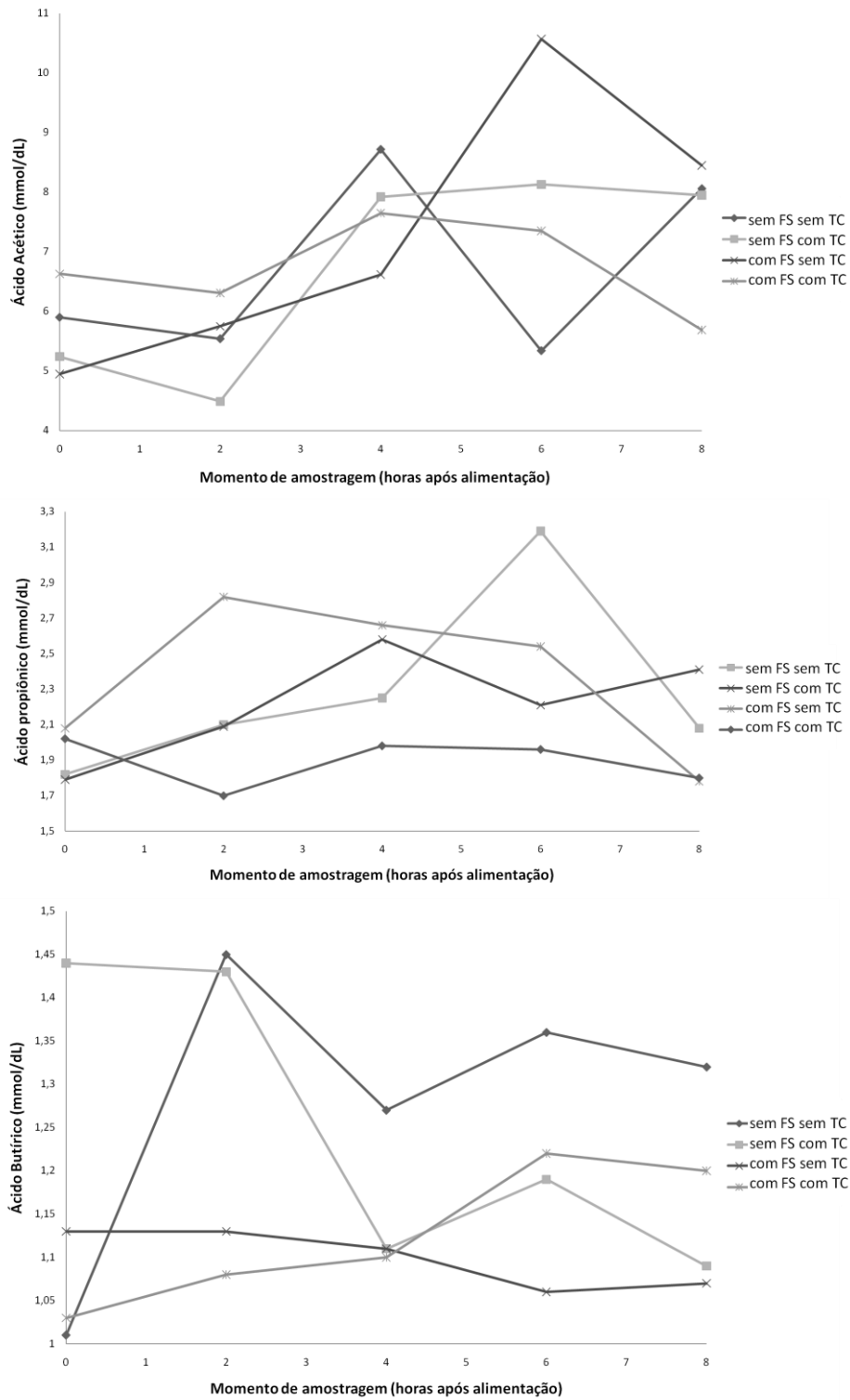


Figura 4 - Valores médios da concentração ruminal dos ácidos acético, propiônico e butírico em função do momento de amostragem e tratamentos. Equação do comportamento do propionato e do acetato, respectivamente:
 Propionato = $1,9033 + 0,2592 \times \text{tempo} - 0,0296 \times \text{tempo}^2$.
 Acetato = $5,9372 - 0,6128 \times \text{tempo} + 0,3616 \times \text{tempo}^2 - 0,0326 \times \text{tempo}^3$.

Bergman et. al. (1990) sugeriram que as proporções ruminais de ácidos acético, propiônico e butírico têm relação direta com o pH, onde, quanto mais alto o pH

do rúmen, menor é a quantidade proporcional de ácido propiônico e maior a de ácido acético. Esses mesmos autores apontaram que a relação molar de acetato, propionato e butirato varia de 75:15:10 a 40:40:20. Nesse experimento, a relação média entre os principais ácidos graxos de cadeia curta foi de 64:21:15, para acetato, propionato e butirato, respectivamente

Segundo Oba & Allen (2003), o tempo após a alimentação em que o pH encontra-se mais baixo situa-se entre quatro e seis horas. No entanto, o menor pH encontrado com os resultados desse experimento foi em torno de sete horas após a alimentação, corroborando com Robles et al. (2007), que também encontraram resultados semelhantes fornecendo o alimento uma única vez durante o dia, às oito da manhã.

Os tratamentos com farelo de soja apresentaram menores valores de pH (Tabela 5), diferindo do tratamento sem inclusão do farelo ($P < 0,10$). As dietas sem farelo de soja apresentavam maiores teores de caroço de algodão (Tabela 1). Kowalczyk et al. (1977) sugeriram que a adição de gordura influencia positivamente o pH ruminal e, neste enfoque, especula-se que dietas com sementes oleaginosas têm efeito tamponante.

Conclusão

A utilização de tanino condensado como aditivo para bovinos de corte alimentados com dietas de alto teor de concentrado e com farelo de soja como fonte de proteína verdadeira implica em efeitos positivos sobre a utilização da proteína bruta, aumentando os níveis de proteína metabolizável e diminuindo o desperdício de nitrogênio, sem alterar os parâmetros ruminais, otimizando a assimilação de nitrogênio no ambiente ruminal.

Os resultados encontrados sugerem que a utilização de tanino condensado, nas concentrações indicadas, em confinamentos que utilizam dietas com alto teor de concentrado, exerce efeitos benéficos, entretanto ensaios experimentais que avaliem o desempenho dos animais devem ser estudados para confirmar a verossimilhança dos benefícios.

Referências Bibliográficas

- ALIPOUR, D.; ROUZBEHAN, Y. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. **Livestock Science** (in press). 2009.
- ALVES, D.D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.3, p.265-271, 2004.
- ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; LUDDEN, P.A. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on site and extent of digestion and ruminal characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.85, n.12, p.3322–3330, 2007a.
- ATKINSON, R.L.; TOONE, C.D.; ROBINSON, T.J. et al. Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.85, n.12, p.3331–3339, 2007b.
- BANDYK, C.A.; COCHRAN, R.C.; WICKERSHAM, T.A. et al. Effect of ruminal vs postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.79, n.,1 p.225–231, 2001.
- 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, n.4, p.263-272, 1999.
- BENGALY, K.; MHLONGO, S.; NSAHLAI, I.V. The effect of wattle tannin on intake, digestibility, nitrogen retention and growth performance of goats in South Africa. **Livestock Research for Rural Development**, v.19, n.4, artigo 50.
- BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acid from gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v.70, n.2, p.567-590, 1990.
- BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J. et al. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: II. Ruminal fermentation characteristics. **Journal of Animal Science**, v.80, n.11, p.2978–2988, 2002.
- BRITTON, R.A.; STOCK, R.A. Acidosis, rate of starch digestion and intake. In: SYMPOSIUM ON FEED INTAKE BY BEEF CATTLE, 1., 1987, Stillwater. **Proceedings...** Stillwater: Oklahoma State University, 1987. p.125-137.
- BULLE, M.L.M; RIBEIRO, F.G.; LEME, P.R. et al. Desempenho de tourinhos cruzados em dietas de alto teor de concentrado com bagaço de cana-de-açúcar como único volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.444-450, 2002.
- CAVALCANTE, M.A.B.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.203-210, 2006.

- CECAVA, J.M.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, n.4, p.130-132, 1962.
- COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, digestibilidade e características de carcaça de novilhos zebuínos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.268-279, 2005.
- COSTA, J.C.B. **Otimização de arraçamento do sistema de produção de carne bovina em confinamento**. 1996. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 1996.
- DRIEDGER, A.; HATFIELD, E.E. Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. **Journal of Animal Science**, v.34, n.3, p.465-468, 1972.
- HERVÁS, G., FRUTOS, P., MANTECÓN, A.R. et al. Effect of the administration of quebracho extract on rumen fermentation and diet digestibility in sheep. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2, n.1, p.63-70, 2004.
- HESS, H.D.; TIEMANN, T.T.; STÜRM, Ch.D. et al. Effects of tannins on ruminal degradation and excretory pattern of N and implications for the potential N emissions from the manure. **International Congress Series**, v.1293, p.339-342, 2006.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Produção microbiana e parâmetros ruminais de novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1553-1561, 2002 (supl.).
- KARIUKI, I.W.; NORTON, B.W. The digestion of dietary protein bound by condensed tannins in the gastro-intestinal tract of sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.142, n.3-4, p.197-209, 2008.
- KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G.; McNEILL, D.M. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels quebracho tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, n.1-2, p.59-72, 2001.
- KOWALCZYK, J.; ØRSKOV, E.R.; ROBINSON, J.J. Effect of fat supplementation on voluntary food intake and rumen metabolism in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.37, n.2, p.251-257, 1977.
- LAZZARINI, I, DETMANN, E; SAMPAIO, C.B. et al. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.10, p.2021-2030, 2009.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros: In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 37, 1980.

- LOYOLA, V.R.; SANTOS, T.S.; ZEOULA, M.L. et al. Digestibilidade *in vitro* do farelo de canola tratado com calor e, ou, tanino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.1037-1041, 1998.
- MAKKAR, H.P.S. Effects and fates of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, n.3, p.241-256, 2003.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; ABEL, H.J. et al. Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.69, n.4, p.495-500, 1995.
- MAKKAR, H.P.S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. In vitro rumen apparent and true digestibilities of tannin-rich forages. **Animal Feed Science and Technology**, v.67, n.2-3, p.245-251, 1997.
- MAKKAR, H.P.S.; SINGH, B.; DAWRA, R.K. Effect of tannin-rich of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. **British Journal of Nutrition**, v.60, n.2, p.287-296, 1988.
- MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. et al. Degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta de alimentos para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2247-2257, 2009.
- McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1-2, p.83-93, 2001.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443, 1977.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002.
- MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T. 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, n.1-4, p.03-19, 2003.
- MIN, B.R.; McNABB, W.C.; BARRY, T.N.; et al. The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**, v.132, n.3, p.323-334, 1999.
- NELSON, K.E. **Tannins and ruminal bacteria**. Tese (Ph.D.). Cornell University, Ithaca, NY (Estados Unidos). 1996.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.
- NSAHLAI, I.V.; UMUNNA, N.N.; OSUJI, P.O. Influence of feeding sheep on oilseed cake following the consumption of tanniferous feeds. **Livestock Production Science**, v.60, n.1, p.59-69, 1999.

- OBA, M.; ALLEN, M.S. Effect of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two levels of dietary NDF: 1. Feeding behavior and nutrient utilization. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.6, p.1333-1341, 2003.
- OLIVEIRA, M.V.M. **Utilização do ionóforo monensina sódica na alimentação de ruminantes**. Viçosa – MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Viçosa. 2003.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminant fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, p.145-171. 1988.
- PESSOA, R.A.S.; LEÃO, M.I.; FERREIRA, M.A.; et al. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e uréia associados a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.941-947, 2009.
- RAMIREZ, R.G.; LARA, J.A. Influence of native shrubs *Acacia rigidula*, *Cercidium macrum* and *Acacia farnesiana* on digestibility and nitrogen utilization by sheep. **Small Ruminant Research**, v.28, n.1, p.39-45, 1998.
- ROBLES, V.; GONZÁLEZ, L.A.; FERRET, A. et al. Effects of feeding frequency on intake, ruminal fermentation, and feeding behavior in heifers fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.85, n.10, p.2538–2547, 2007.
- SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras. In: SINLEITE - NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2.; 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.225-248. 2001.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.
- SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVEZA, F. D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1-2, p.69-81, 2001.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa: Imprensa Universitária – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 165 p.
- SLIWINSKI, B.J.; KREUSER, M.; WETTSTEIN, H.R.; et al. Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emission of nitrogen and methane. **Archives of Animal Nutrition**, v.56, n.6, p.379-392, 2002.
- TURGEON, O.A.; SZASZ, J.I.; KOERS, W.C. et al. Manipulating grain processing method and roughage level to improve feed efficiency in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.284-295, 2010.

- USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, n.6, p. 1037-1046, 1985.
- VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JUNIOR, V. R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos (CQBAL 2.0)**. 2.ed. Viçosa, MG. 2006, 329p.
- VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell, 476p. 1994.
- WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.128, n.3, p.365-372, 1997.
- WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; McNABB, W.C. et al. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **Journal of Agricultural Science**, v.123, n.1, p.109-119, 1994.
- WANG, Y.; DOUGLAS, G.B.; EAGHORN, G.C. et al. Effect of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and lucerne (*Medicago sativa*). **Journal of Agricultural Science**, v.126, n.1, p.87-98, 1996a.
- WANG, Y.; DOUGLAS, G.B.; WAGHORN, G.C.; et al. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon lactation performance in ewes. **Journal of Agricultural Science**, v.126, n.3, p. 353-362, 1996b.