

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANDRÉ SANCHES DE AVILA

**TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (*Acacia mearnsii*) NA
ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES**

Marechal Cândido Rondon

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANDRÉ SANCHES DE AVILA

**TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (*Acacia mearnsii*) NA
ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Orientadora: Maximiliane Alavarse Zambom

Co-orientador: Antonio Pinheiro Faciola

Co-orientador: Clóves Cabreira Jobim

Marechal Cândido Rondon

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Avila, André Sanches de
Taninos condensados de acácia negra (*Acacia mearnsii*)
na alimentação de ruminantes / André Sanches de Avila;
orientador(a), Maximiliane Alavarse Zambom;
coorientador(a), Antonio Pinheiro Faciola,
coorientador(a)II, Cloves Cabreira Jobim, 2018.
73 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do
Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Taninos. 2. Digestão. 3. Rúmen. 4. Leite. I. Zambom,
Maximiliane Alavarse. II. Faciola, Antonio Pinheiro .
III. Jobim, Cloves Cabreira. IV. Título.

ANDRÉ SANCHES DE AVILA

Taninos condensados de acácia negra (*Acacia mearnsii*) na alimentação de ruminantes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Doutor em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Ruminantes/Forragicultura”, APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:


Orientadora – Prof.^a Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon


Membro – Prof. Dr. Ériton Egídio Lisboa Valente
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon


Membro – Dr.^a Mirna Adriane Syperreck
NutriQuest/TechnoFeed Nutrição Animal


Membro – Dr.^a Karina Toledo da Silva
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)


Membro – Prof. Dr. José Antônio de Freitas
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina

Marechal Cândido Rondon, 6 de dezembro de 2018.

Aos meus pais, Agenor Rodrigues de Avila e Evanir de Fátima Sanches de Avila, por toda ajuda, confiança e amor. Aos meus avós, Clementino Sanches e Otelina Ribeiro Sanches. Aos irmãos, Gelsemar Sanches de Avila e Andressa Sanches de Avila. À minha noiva, Andressa Faccenda, pela ajuda em todos os momentos, pelo carinho e compreensão.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida e as bênçãos recebidas,

À Unioeste e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelas oportunidades;

À CAPES, pelo suporte à pesquisa no Brasil e no doutorado sanduíche nos Estados Unidos, por meio do processo 88881.135508/2016-01;

À orientadora Maximiliane Alavarse Zambom, por toda atenção, suporte, ensinamentos e confiança;

Ao coorientador Antonio Pinheiro Faciola pela acolhida no exterior e ensinamentos e ao coorientador Clóves Cabreira Jobim;

À minha noiva Andressa Faccenda, pela ajuda em todos os momentos, encarando os desafios juntos, pelo carinho e amor;

Aos professores do programa de pós-graduação pelos ensinamentos;

Aos colegas do grupo Qualhada pela ajuda em todas as situações e pelas grandes amizades;

Ao secretário do programa de Pós-graduação Paulo Morsch que esteve sempre disponível para esclarecer todas as dúvidas;

À empresa Seta/SA na pessoa do Sr. Renato Konrath pela doação dos taninos condensados, atenção e disponibilidade;

À Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa e o Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), pela ajuda com as análises do leite;

À pós-doutoranda Mirna Adriane Syperreck pela ajuda na condução do experimento e análises laboratoriais e ao colega Lucas Wacholz que realizou as análises sanguíneas e pela amizade;

Aos funcionários da fazenda que ajudaram na condução dos experimentos, em especial ao Giovan Bast;

A todos que ajudaram durante essa caminhada.

O presente estudo foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 Definição e estruturas dos taninos condensados.....	11
2.2 Taninos condensados de Acácia Negra (<i>Acacia mearnsii</i>).....	13
2.3 Taninos na alimentação de ruminantes.....	14
2.4 Efeito dos taninos sobre as proteínas.....	17
2.4 Efeitos dos taninos sobre a degradação da fibra.....	18
2.5 Efeitos sobre a população de protozoários ruminais.....	20
2.6 Efeito dos taninos sobre a produção e composição do leite.....	21
2.7 Ação antioxidante dos taninos.....	23
2.8 Referências.....	25
3 INCLUSÃO DE TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (<i>Acacia mearnsii</i>) NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO.....	31
3.1 Introdução.....	33
3.2 Material e métodos.....	34
3.3 Resultados.....	40
3.4 Discussão.....	44
3.5 Conclusão.....	48
3.6 Referências.....	49
4 INCLUSÃO DE TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (<i>Acacia mearnsii</i>) SOBRE OS PARÂMETROS RUMINAIS E DIGESTIVOS EM BOVINOS.....	54
4.1 Introdução.....	56
4.2 Material e métodos.....	57
4.3 Resultados.....	62
4.4 Discussão.....	66
4.5 Conclusão.....	69
4.6 Referências.....	70
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74

TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (*Acacia mearnsii*) NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

RESUMO

A utilização de aditivos para modificar a fermentação ruminal é uma alternativa muito utilizada para melhorar a produtividade animal. Entre os aditivos utilizados, estão os extratos de plantas como os taninos condensados que, dependendo do nível e a fonte utilizada, podem trazer benefícios para a produção de ruminantes. Foram realizados dois experimentos para avaliar a utilização de taninos condensados e seus efeitos sobre o desempenho de vacas em lactação e também com bovinos jersey fistulados. No experimento com as vacas em lactação, foram utilizadas cinco vacas da raça holandês em um delineamento quadrado latino 5x5 em que os tratamentos foram níveis de extrato de taninos condensados de *Acacia mearnsii* (0, 5, 10, 15 e 20 g/kg de MS na dieta total). Os períodos consistiram em 14 dias para adaptação e seis dias para coleta. A utilização dos taninos não influenciou a ingestão de MS, porém apresentou efeito quadrático para a digestibilidade da matéria seca e fibra em detergente neutro, com valores máximos estimados com a inclusão de 12,2 e 11,4 g/kg de MS, respectivamente. Os parâmetros sanguíneos, a síntese de proteína microbiana e a produção de leite em kg/dia não foram influenciados pelos taninos condensados. No entanto, ocorreu redução na produção de leite corrigida para gordura e energia e nos teores de caseína, sendo um efeito indesejável sobre o desempenho dos animais. No segundo estudo, avaliou-se a inclusão de taninos condensados na alimentação de bovinos jersey fistulados. O delineamento experimental utilizado foi um quadrado latino 5x5 com diferentes níveis de inclusão de taninos condensados de *Acacia mearnsii* em 0, 5, 10, 15 e 20 g/kg da MS das dietas. A inclusão de taninos reduziu linearmente a digestibilidade aparente da proteína, no entanto, não influenciou na digestibilidade dos demais nutrientes. Foi observada redução linear no pH ruminal com a inclusão dos níveis de taninos, efeito que pode estar relacionado ao pH do aditivo. A população total de protozoários ruminais e também dos gêneros avaliados não foram alterados, assim como os teores de amônia ruminal não foram influenciados pelo uso de taninos. A inclusão de TC nas dietas reduz as proporções de ácido acético e não influencia na população de protozoários ruminais, porém reduz a digestibilidade aparente da proteína bruta.

Palavras-chave: aditivos, compostos fenólicos, proteína, protozoários

CONDENSED TANNINS OF BLACK WATTLE (*Acacia mearnsii*) IN RUMINANTS FEEDING

ABSTRACT

Additives use to modify ruminal fermentation is an alternative to improve animal productivity. Among the most used additives, plants extracts, as the condensed tannins that according to the level and source used, it can bring benefits to ruminant production. It was conducted a study to evaluate the use of condensed tannins and its effects on lactating Holstein cows performance. It was used five cows in a Latin square design 5x5, where the treatments were levels of condensed tannins from *Acacia mearnsii* (0, 5, 10, 15 and 20 g/kg of DM of total diet), periods consisted in 14 days of adaptation and 6 days for sampling. Condensed tannins use did not influence the dry matter intake, however, it was found a quadratic effect of tannins in the digestibility of dry matter and NDF with maximum values in 12,2 and 11,4 g/kg of tannins in DM respectively. It did not occur major effects on blood parameters and microbial protein synthesis and milk production in kg/day, however, there was a reduction in milk production corrected to fat and energy and in casein contents, being an undesirable effect in animals' performance. In another study carried out it was evaluated tannin levels to feed cannulated jersey steers. The design was a Latin square 5x5 with five animals and treatments were related to the inclusion levels of *Acacia mearnsii* (0, 5, 10, 15 and 20 g/kg of DM). The inclusion of tannins did not influence the nutrients digestibility except for CP that decreases linearly. There was a linear reduction in ruminal pH values, that is related to tannins pH. Population of ruminal protozoans and gender evaluation in the rumen were not influenced as well as the ruminal NNH_3 nitrogen levels were not influenced by tannins. Inclusion of condensed tannins reduces the proportion of acetic acid and did not influence the ruminal protozoa population, however it reduces the apparent crude protein digestibility.

Keywords: additives, phenolic compounds, protein, protozoa

1 INTRODUÇÃO

A modificação da fermentação ruminal pelo uso de aditivos alimentares tem sido uma estratégia para aumentar a eficiência de produção em ruminantes. A utilização de compostos presentes nas plantas torna-se uma alternativa ao uso de antibióticos, visto que estes podem apresentar efeitos indesejáveis como a ocorrência de microrganismos resistentes e resíduos na carne e leite (Anantasook et al., 2015).

Os taninos são compostos secundários presentes em algumas plantas e apresentam variados pesos moleculares, sendo classificados em hidrolisáveis e condensados (McSweeney et al., 2001). Esses compostos são capazes de interferir no metabolismo de proteínas e lipídios no rúmen, formando complexos não degradáveis com proteínas dietéticas e assim modulam várias atividades bacterianas, incluindo a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados (Buccioni et al., 2015).

O efeito dos taninos é dose dependente, sendo necessários cuidados em relação à sua concentração nos ingredientes utilizados na alimentação animal. Níveis elevados podem ocasionar redução no consumo, na eficiência do processo digestivo e, conseqüentemente, perdas na produtividade animal (Oliveira e Berchieli, 2007). Além disso, taninos condensados extraídos de diferentes plantas apresentam grande variação na sua capacidade de ligar-se a carboidratos e proteínas (McAllister et al., 2005).

Dietas com níveis moderados de taninos condensados podem melhorar a utilização do nitrogênio pelos ruminantes, estando ligado à redução da atividade proteolítica dos microrganismos no rúmen, sem reduzir a síntese de proteína microbiana (Min et al., 2003), sendo uma vantagem para o desempenho animal, aumentando assim o fluxo de proteínas não degradadas para o abomaso (Woodward et al., 2000). Desta forma, há uma maior retenção do nitrogênio pelos animais, com melhorias no seu desempenho, redução dos efeitos negativos sobre o meio ambiente e redução nos custos de produção.

Taninos também exercem ações antimicrobianas no rúmen e dependendo do nível e tipo destes compostos, podem ocorrer efeitos adversos na fermentação ruminal e digestão de alimentos, incluindo a redução na digestibilidade de alimentos *in vitro* e *in vivo* (Patra e Saxena, 2010). No entanto, informações sobre o nível em que a toxicidade ocorre em diferentes animais são escassas (Assefa et al., 2008), sendo necessários estudos sobre os níveis adequados de taninos para obter os efeitos desejados sem prejudicar o desempenho animal (Makkar, 2003).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Definição e estruturas dos taninos condensados

As plantas produzem uma ampla variedade de metabólitos secundários, sendo já identificadas mais de 200.000 estruturas (Hartmann, 2007; Patra e Saxena, 2010). Os metabólitos secundários podem ser classificados em três grupos principais: terpenos, compostos contendo nitrogênio e compostos fenólicos, neste último estão incluídos os taninos (Agostini-Costa et al., 2012).

Taninos são polímeros de polifenóis solúveis em água de peso molecular relativamente alto e tem a capacidade de formar complexos principalmente com proteínas devido à presença de um grande número de grupos hidroxila fenólicos. Eles ocorrem em muitas plantas forrageiras, arbustos e leguminosas, frutas, cereais e grãos (Patra e Saxena, 2010).

Baseados em sua estrutura e propriedades químicas, os taninos são divididos em: 1) taninos hidrolisáveis (TH) os quais possuem um núcleo central de carboidrato ao qual os ácidos carboxílicos fenólicos são ligados por ésteres de ácido gálico (galotanino) ou ácido elágico (elagitaninos); e 2) taninos condensados (TC), os quais não possuem carboidrato central e são derivados por condensação de precursores de flavonóides ou polímeros de flavonóides (Baker, 1999) (Figura 1).

Os compostos fenólicos (incluindo taninos) são sintetizados pelas plantas através da via do ácido shikimico, sendo que essa via favorece a produção de taninos hidrolisáveis em períodos de condições ambientais favoráveis, enquanto situações de estresse ambiental estimulam a produção de taninos condensados (TC) (Assefa et al., 2008). Os TC são normalmente chamados de proantocianidinas devido à apresentação de pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delphinidina. Essas moléculas têm ampla variação na estrutura, resultado de padrões de substituições entre unidades flavânicas, e da diversidade de posições das ligações e a estereoquímica (Waghorn, 2008). Os TC consistem de oligômeros e polímeros de subunidades de flavan-3-ol. Essas subunidades são variáveis, mas normalmente a sua ocorrência inclui catequinas, galocatequinas e epigalocatequinas (Naumann et al., 2017). O número de unidades pode variar e isso determina o grau de polimerização para di, tri e tetraflavonóides para oligômeros maiores. Desta forma, pode produzir uma ampla variedade de estruturas químicas e produzir diferentes propriedades biológicas (Waghorn, 2008). Podem conter de duas a cinquenta unidades flavonóides apresentando estruturação complexa. São

resistentes à hidrólise, porém podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo de sua estrutura (Battestin et al., 2004).

Os TC são concentrados nos vacúolos intracelulares das plantas e essencialmente não reativos, somente são liberados quando ocorre uma ruptura celular e, após essa ruptura pode ocorrer uma extensiva ligação com diversas proteínas (planta, animal, microbiana, salivar, enzimas, etc.) (Waghorn e McNaab, 2003). A razão para sua síntese e mobilização ainda não é clara. Waghorn (2008) sugere que sua síntese esteja relacionada à função de proteção contra herbívoros, defesa da planta contra patógenos, conservação de energia (para mobilização em períodos de necessidade) e conservação do nitrogênio.

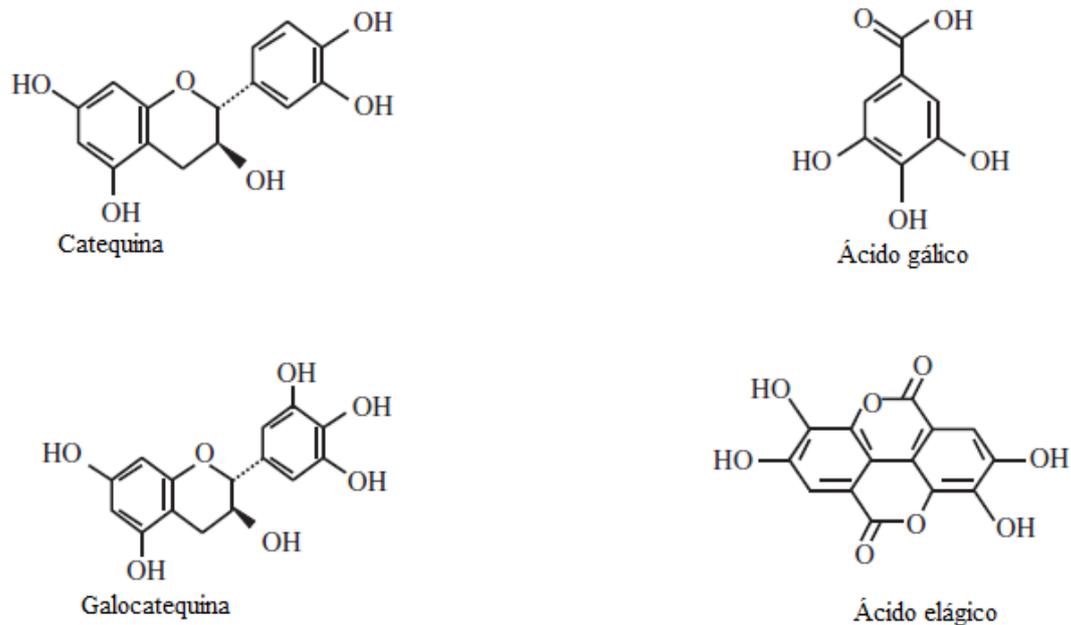


Figura 1: Unidades monoméricas de taninos condensados (catequina e galocatequina) e taninos hidrolisáveis (ácido gálico e ácido elágico). Fonte: Adaptado de Patra e Saxena (2010).

Os TC são utilizados para a adstringência de bebidas populares, como o chá e o vinho (Waghorn, 2008), além de ser utilizado para a estabilização da cerveja e produção de resinas para uso na indústria de painéis de madeira (Battestin et al., 2004). Atualmente, também vem sendo utilizado como aditivo na alimentação animal (Grainger et al., 2009; Griffiths et al. 2013; Aguerre et al., 2016).

2.2 Taninos condensados de Acácia Negra (*Acacia mearnsii*)

A Acácia negra (*Acacia mearnsii*) é natural da Austrália, caracterizando-se por ser uma árvore de folhagem verde escura, que atinge de 10 a 30 m de altura, com boa adaptação em diferentes tipos de solo (Schneider et al., 2000). No Brasil, esta espécie é cultivada principalmente na região sul, para a extração comercial de taninos a partir de sua casca (Higa, 1999; Ribeiro, 2014) também para a produção de energia a partir do carvão, fixação de nitrogênio e recuperação de solos degradados (Grigoletti et al., 2003).

Um dos processos para a obtenção dos taninos a partir da casca da acácia negra inicia-se com a moagem da casca. Posteriormente, é realizada a hidrosolubilização em vasos pressurizados (autoclaves) a uma temperatura de 100 °C, seguida pela evaporação (concentração do extrato) e atomização (aplicação do líquido concentrado na forma de spray em uma câmara de ar quente entre 220 e 250 °C) e obtenção dos taninos na forma de pó (Renner, 2014) (Figura 2). A diferença na coloração da casca influencia no processo de produção para a indústria do couro, pois taninos mais escuros são mais difíceis de alvejar para a padronização do produto (Menezes, 2013).

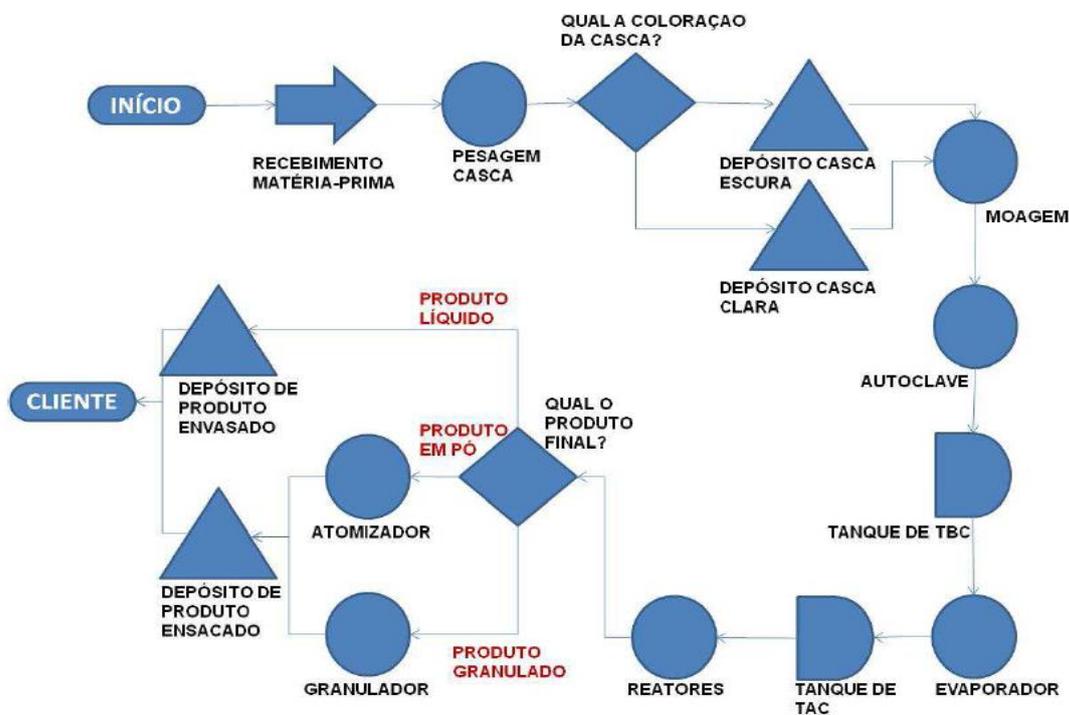


Figura 2. Fluxograma do processo de obtenção de taninos a partir da casca de *Acacia mearnsii*. Em que TAC: tanino de alta concentração; TBC: Tanino de baixa concentração. Fonte: Menezes (2013).

2.3 Taninos na alimentação de ruminantes

Os taninos são frequentemente descritos como fatores anti-nutricionais devido aos impactos negativos causados na produção de ruminantes e não-ruminantes tais como: redução na ingestão de alimento, redução na digestibilidade da proteína e matéria seca, redução no ganho de peso, na produção leiteira e crescimento de lã (Mueller-Harvey, 2006).

Altas concentrações de taninos reduzem a ingestão e degradabilidade da MS (Hervás et al., 2003; Aguerre et al., 2016). Segundo Kumar e Vaithiyathan (1990), a redução na ingestão de alimento pode ocorrer por três motivos: baixa palatabilidade da dieta devido à adstringência causada pela ligação de taninos e proteínas salivares; distensão ruminal, o que ocorre como resultado de uma redução na digestibilidade da MS e uma resposta hormonal induzida pela ligação dos taninos à parede celular do intestino delgado.

Efeitos negativos na digestibilidade dos nutrientes estão associados com a habilidade dos taninos em combinar-se com proteínas dietéticas, celulose, hemicelulose, pectina e minerais, retardando a sua digestão (McSweeney et al., 2001). Também podem prejudicar o processo digestivo devido à formação de complexos com enzimas secretadas e proteínas endógenas (Butler, 1992) (Figura 3).

No entanto, em baixas concentrações os taninos podem agir de forma semelhante a alguns antibióticos, manipulando o ambiente ruminal e promovendo benefícios nutricionais ao animal (Brutti, 2017). A redução na taxa de digestão dos alimentos causada por esses compostos, dependendo do nível e tipo de taninos, pode ajudar a sincronizar a liberação de vários nutrientes que, por sua vez, pode ser responsável por aumentar a eficiência microbiana (Makkar et al., 2003; Bhatta et al., 2009), reduzir a excreção de nitrogênio (Brutti, 2017) e aumentar a secreção de proteína no leite (Barry e McNabb, 1999). Outros benefícios como redução na produção de metano, redução na ocorrência de timpanismo e aumento nas concentrações de ácido linoléico conjugado no leite (Benchaar et al., 2008; Cieslak et al., 2012) também foram relatados.

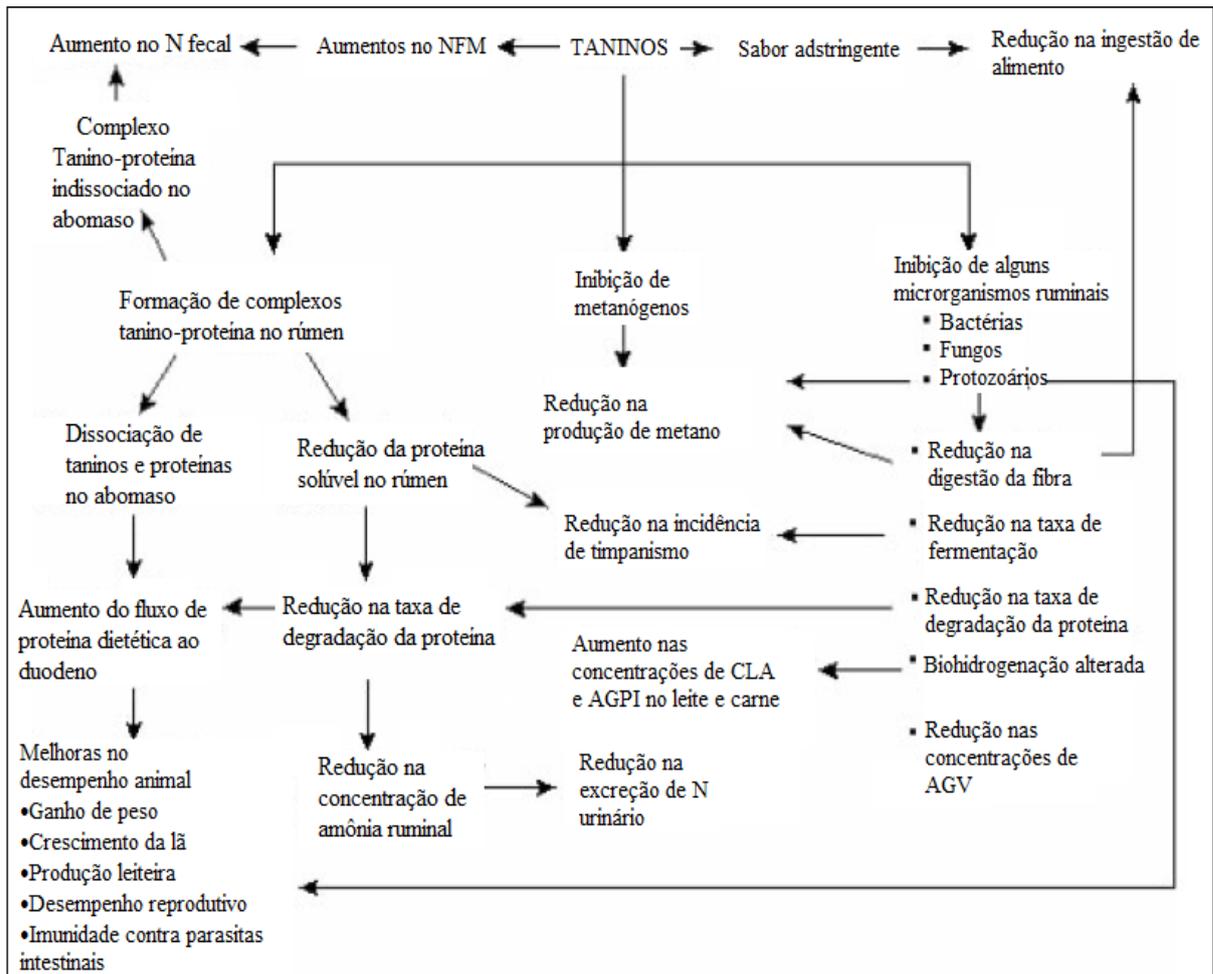


Figura 3. Representação esquemática dos efeitos dos taninos no metabolismo ruminal e desempenho de ruminantes. NFM: nitrogênio fecal metabólico; CLA: ácido linoleico conjugado; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados AGV: Ácidos Graxos Voláteis. Adaptado de Patra e Saxena (2010).

Os efeitos com o uso de taninos dependem da dose e também do tipo de taninos, podendo ser potencializados pela adstringência ou a presença de taninos hidrolisáveis (Grainger et al., 2009). Ahmed et al. (2005) realizaram um estudo para avaliar os tipos de taninos existentes em três diferentes subespécies de acácia nilótica (*A. nilotica adansonii*; *A. nilotica tomentosa*; *A. nilotica nilotica*), ao comparar com *Acacia mearnsii* observaram uma mistura de taninos hidrolisáveis e condensados para a *A. nilotica*, no entanto, nas cascas da espécie *A. mearnsii* foram obtidos apenas taninos condensados (catecol).

Em relação ao desempenho animal, ao se comparar TC da espécie Acácia negra (*A. mearnsii*) com TC da espécie Quebracho (*Schinopsis spp.*), Grainger et al. (2009) afirmaram que TC de Quebracho parece ser menos adstringente e com menor capacidade de influenciar na fermentação animal, uma vez que em alguns estudos foram necessárias maiores concentrações (acima de 5% da MS) de TC de quebracho para ocorrer uma redução na ingestão ou desempenho animal (Landau et al., 2000).

O Quadro 1 demonstra os efeitos obtidos com o uso de extratos de taninos condensados de Quebracho (*Schinopsis* spp.) e Acácia negra (*Acacia mearnsii*) a nível ruminal e desempenho de bovinos, sendo que essas fontes estão entre as mais utilizadas na alimentação de bovinos.

Quadro 1. Principais efeitos do uso de extratos de taninos condensados sobre o desempenho e parâmetros ruminiais de bovinos

Referência	Fonte de tanino	Níveis utilizados	Principais efeitos positivos	Principais efeitos negativos
Dickhoefer et al. (2016)	Quebracho (<i>Schinopsis</i> spp.)	10, 20, 40 e 60 g/kg da MS da dieta	↓ Proporção de acetato:propionato ruminal;	↓ Biomassa microbiana ruminal estimada.
Ahnert et al. (2015).	Quebracho (<i>Schinopsis</i> spp.)	10, 20, 40 e 60 g/kg da MS da dieta	↓ N urinário e ↑ do N fecal.	↓ digestibilidade da PB; ↑ Perdas de proteínas endógenas.
Orlandi et al. (2015).	Acácia negra (<i>Acacia mearnsii</i>)	20, 40 e 60 g/kg da MS da dieta.	Aumento no fluxo de aminoácidos ao duodeno na dose de 18 g/kg.	↓ Eficiência da síntese de proteína microbiana em níveis acima de 18 g/kg de TC na dieta.
Mezzomo et al. (2011)	Quebracho (<i>Schinopsis</i> spp.) (76% de TC)	4 g/kg de MS	↑ valores de proteína metabolizável no duodeno. ↓ taxa de digestão da proteína	Não foram observados efeitos negativos nos parâmetros avaliados.
Krueger et al. (2010)	Acácia Negra (<i>Acacia mearnsii</i>)	14,9 g/kg de MS	Não ocorreram efeitos sobre os parâmetros de fermentação avaliados.	Redução no peso de carcaça quente.
Beauchemin et al (2007)	Quebracho (<i>Schinopsis</i> spp.) (91% de TC)	10 e 20 g/kg da MS	↓ NNH ₃ ruminal ↓ Proporção acetato:propionato	↓ ácidos graxos voláteis ruminiais totais; ↓ Digestibilidade da PB.

2.4 Efeito dos taninos sobre as proteínas

A proteína é um dos componentes dietéticos mais oneroso na nutrição de ruminantes. A utilização de baixas a moderadas concentrações de taninos condensados (20-40 g/kg na MS) na dieta é uma alternativa que pode melhorar o fornecimento de proteínas aos animais (Ahnert et al., 2015). Esse efeito pode ocorrer devido à capacidade dos taninos em se ligar às proteínas através de pontes de hidrogênio, formando complexos tanino-proteínas que são estáveis no rúmen e resistentes à degradação dos microrganismos ruminais, reduzindo a degradação da proteína em nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e aumentando o fluxo de proteína para o intestino delgado (Makkar, 2003; Beauchemin et al., 2007; Al-Dobaib, 2009). Além disso, os taninos podem reduzir a excreção de N na urina e aumentar os teores de N fecais, uma forma mais estável de N (Dschaak et al., 2011), sendo menos prejudicial ao ambiente.

A formação de complexos tanino-proteínas ocorre em pH com valores entre 3,5 e 7 (Oliveira e Berchielli, 2007), sendo o rúmen um ambiente favorável para essa complexação. Todavia, para que esse processo ocorra, é essencial a presença de minerais como cálcio, magnésio, sódio e potássio (Brutti, 2017). A dissociação desses complexos ocorre no abomaso devido ao pH mais baixo, tornando as proteínas disponíveis para a digestão no intestino delgado (Waghorn et al., 1987). Kariuki e Norton (2008) confirmaram a dissociação pós-ruminal dos complexos tanino-proteínas, após observarem que mais de 82% de um complexo tanino-albumina (introduzido via cânula abomasal) foi aproveitado pelo animal.

McSweeney et al. (2001) destacaram que embora os taninos reduzam a população de algumas espécies de bactérias, principalmente as celulolíticas, esse fato pode não comprometer a síntese microbiana, visto que isso pode beneficiar outras populações bacterianas devido à diminuição da competição por substrato. Outro fator que pode influenciar nos resultados com o uso de taninos são as diferentes respostas dos microrganismos ruminais, os quais podem desenvolver mecanismos de adaptação para tornarem-se resistentes, por meio da detoxificação dos taninos, síntese de polímeros complexantes com taninos e formação de glicocalix extracelular (Smith et al., 2005).

Aguerre et al. (2016) avaliaram extratos de taninos de quebracho e castanha para vacas lactantes e observaram que estes compostos protegeram a proteína dietética da degradação ruminal, e conseqüentemente reduziram os teores de amônia ruminal, ácidos graxos de cadeia ramificada e nitrogênio ureico do sangue, o que provavelmente resultou em um aumento do fluxo de proteína do alimento para o intestino. No entanto, os taninos podem ter reduzido a

atividade microbiana ruminal, ocasionando uma menor digestibilidade das frações alimentares (MS, MO, FDN) e fluxo microbiano.

Ahnert et al. (2015) observaram menor fluxo duodenal de proteína microbiana com o uso de TC para novilhos, o que poderia estar relacionado ao efeito inibitório direto dos TC de quebracho na síntese microbiana e na inibição de enzimas extracelulares. Também ocorreu um aumento nos teores de N fecal com as crescentes doses de taninos. Este efeito segundo os autores, é relacionado a um aumento da proteína de escape do rúmen (incluindo aumento nos teores de NIDA), bem como de maiores perdas de proteínas endógenas (ex.: proteínas salivares, enzimas digestivas e muco).

Embora os TC possam se dissociar das proteínas quando o pH reduz abaixo de 3,5, não significa que esta proteína será digerida e absorvida, visto que o pH intestinal aumenta para valores acima de 5,0 após o piloro (Terril et al., 1994), podendo ocorrer uma nova associação entre TC e proteínas (McNabb et al., 1998) ou uma ligação dos TC com enzimas digestivas prejudicando a absorção de aminoácidos (Waghorn et al., 1999). Beauchemin et al. (2007) obtiveram redução na digestibilidade aparente da PB em novilhos. Esse resultado pode indicar que os complexos tanino-proteína podem não ter sido completamente dissociados no abomaso, reduzindo a digestão da proteína no trato total.

A adstringência (capacidade de ligação à proteína) é igualmente importante e a variação entre diferentes fontes de taninos tem frustrado tentativas de relacionar a concentração e o desempenho animal. A estrutura dos TC afeta sua capacidade de ligação, o impacto sobre a digestão e valor nutritivo (Waghorn, 2008). Min et al. (2003) relataram que concentrações equivalentes de diferentes fontes de taninos concentrados tiveram variados efeitos na degradação da proteína bruta, uma vez que a reatividade entre TC e proteínas depende parcialmente do peso molecular, tipo de estrutura terciária e o conteúdo em aminoácidos das proteínas. Segundo Patra e Saxena (2010), geralmente sugere-se que concentrações de taninos maiores que 5% nas dietas em ruminantes, podem ter efeitos adversos na utilização de nutrientes e produtividade dos animais.

2.4 Efeitos dos taninos sobre a degradação da fibra

Além da pronunciada habilidade dos TC em ligar-se a proteínas dos alimentos, eles podem alterar a degradação microbiana de outros polímeros tais como celulose, hemicelulose, pectina e amido (Smith et al., 2005; Ahnert et al., 2015).

Tem sido proposto que os taninos que permanecem livres, sem ligar-se com proteínas, podem reduzir a digestão da fibra por complexar-se com a lignocelulose tornando os substratos indisponíveis para a digestão (McSweeney et al., 2001; Smith et al., 2005; Ahnert et al., 2015). Além disso, pode ocorrer uma ação antimicrobiana dos TC sobre bactérias celulolíticas e fungos (Patra e Saxena, 2009), devido à ligação desses compostos na superfície celular dos microrganismos ou pela redução na atividade de suas enzimas extracelulares (Bae et al., 1993; McSweeney et al., 2001; Patra e Saxena, 2010).

Min et al. (2003) destacaram que ovelhas que pastejavam azevém perene (que não continha TC) e posteriormente foram transferidas para uma dieta de *Lotus corniculatus* contendo 32 g de TC/kg de MS, obtiveram uma redução na população da bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens*. Dentre outras bactérias celulolíticas que foram inibidas pelos taninos, destaca-se também a *Fibrobacter succinogenes* que é uma das mais ativas na digestão de substratos celulósicos no rúmen (Bae et al., 1993; McSweeney et al., 2001).

A redução na taxa de digestão das fibras reduz também a remoção de resíduos de alimentos do rúmen e pode afetar negativamente a ingestão voluntária de alimento, reduzindo a produtividade caso o crescimento microbiano também seja comprometido (Waghorn, 2008). A menor atividade microbiana e a redução na degradação da fibra em resposta ao uso de taninos na dieta, normalmente é ligada a uma redução na produção de ácidos graxos voláteis totais (Bhatta et al., 2009; Castro-Montoya et al., 2011). Em contrapartida, Dickhoefer et al. (2016) obtiveram aumento nas concentrações ácidos graxos voláteis ruminais quando utilizaram taninos de quebracho nos níveis de 1%, 2%, 4% ou 6% na MS da dieta de novilhos.

Ahnert et al. (2015) avaliaram a inclusão de taninos condensados de quebracho em níveis de até 6% para novilhos em crescimento e observaram uma redução na síntese de proteína microbiana. Segundo os autores, esse efeito não está associado à falta de N degradável no rúmen pela ação dos TC visto que as concentrações de N-amoniaco no líquido ruminal estiveram dentro da variação ótima para o crescimento microbiano. Desse modo, a redução na digestibilidade dos carboidratos, provavelmente reduziu a disponibilidade de energia para os microrganismos ruminais e assim influenciou negativamente na síntese de proteína microbiana (Ahnert et al., 2015).

Redução nas proporções de acetato e aumento nas concentrações de propionato ruminal também foram relatadas com o uso de doses crescentes de taninos devido à redução na abundância ou atividade de microrganismos celulolíticos o que pode favorecer outras espécies microbianas que preferivelmente degradam carboidratos não estruturais (Dickhoefer et al., 2016).

2.5 Efeitos sobre a população de protozoários ruminais

Protozoários ciliados desempenham diversas funções no metabolismo ruminal de nutrientes, sendo também predadores de bactérias, este consumo e digestão de bactérias é um processo que leva a um desperdício de energia que contribui para a reciclagem indesejável de nitrogênio no rúmen (Baah et al., 2007).

A ausência de protozoários ruminais (animais defaunados) ou grandes reduções nesta população, influenciam na redução das concentrações de amônia no fluido ruminal e aumentam o fluxo de nitrogênio não amoniacal, aminoácidos e N bacteriano para o intestino (Baah et al., 2007). Embora os protozoários ruminais contribuam para a digestão da fibra, há estudos demonstrando aumentos na digestibilidade da fibra dos alimentos e potencial para melhorias na produtividade de ruminantes mantendo-se os animais defaunados, devido aos protozoários aumentarem a reciclagem de proteína microbiana no rúmen e conseqüentemente reduzindo a eficiência da utilização da proteína em ruminantes (Wallace e McPherson, 1987).

Dependendo da concentração e origem (Benchaar et al., 2008), há uma evidência para a redução no número de protozoários na presença de taninos (Makkar, 2003). Propriedades anti-protozoários dos taninos de diferentes plantas têm sido relatado em alguns estudos (Animut et al., 2008; Bhatta et al., 2009; Tan et al., 2011). No entanto, os efeitos dos taninos sobre os protozoários, bactérias, fungos e metanógenos são variáveis e predominantemente dependentes do tipo de taninos, sua origem e níveis de suplementação (Patra e Saxena, 2010).

Animut et al. (2008) demonstraram que níveis crescentes de taninos (50, 101, 151 g/kg MS) na alimentação de cabras reduziu o número de protozoários ruminais. No estudo de Baah et al. (2007) a utilização de 6 g/kg de taninos condensados de quebracho na dieta reduziu a população de protozoários no rúmen de novilhos em 24% comparado ao tratamento controle. Benchaar et al. (2008) não observaram efeito no número e distribuição genérica dos protozoários (*Dasytricha* spp, *Diplodinium* spp., *Entodinium* spp. *Isotricha* spp. e *Polyplastron* spp.) ruminais de vacas alimentadas com taninos de quebracho a 64 g/kg da IMS.

O gênero *Entodinium* é o gênero de protozoários dominante no rúmen (Hristov et al., 2001), sendo citado como o responsável pela maioria da predação de bactérias ruminais (Ivan et al., 2000). Baah et al. (2007) observaram uma leve redução na população deste gênero com o uso de taninos de quebracho com uma dose de 6 g/kg de MS, o que, segundo os autores pode ser um indicativo de que o gênero *Entodinium* spp. possui um grau de sensibilidade aos taninos diferente em relação a outros gêneros como o *Holotricha*.

Benchaar et al. (2008) avaliaram os efeitos da inclusão de taninos condensados de quebracho (70% com dose de 150 g/dia) para vacas em lactação e obtiveram efeitos limitados sobre a digestão, características de fermentação ruminal e população de protozoários, os autores sugeriram que a falta de efeitos desses antimicrobianos requerem maiores dosagens para alterar de maneira favorável a fermentação microbiana ruminal.

Makkar et al. (1995) investigaram os efeitos de concentrações crescentes de taninos de quebracho (0,05; 0,1 e 0,2 mg de taninos/mL de fluido ruminal), sobre a contagem total de protozoários, a qual não foi alterada com a adição de TC de quebracho a 0,05 mg/mL, mas reduziu nas concentrações de 0,1 e 0,2 mg/mL. A população do gênero *Entodinium* apenas reduziu nas maiores concentrações de taninos, sendo que o gênero *Holotricha* reduziu em todos os níveis utilizados. Carulla et al. (2005) utilizaram extrato de taninos de acácia para ovelhas e não obtiveram efeitos na contagem total de protozoários, porém ao se avaliar os gêneros individualmente, ocorreu uma redução na população do gênero *Holotricha*.

Microrganismos relacionados à produção de metano são frequentemente ligados aos protozoários ruminais, seja de maneira intracelular ou anexo à superfície celular externa dos protozoários (Anantasook et al., 2015). O H₂ livre e CO₂ são os principais substratos para metanogênicos ruminais (Bhatta et al., 2009), ressaltando que a produção de metano CH₄ representa um processo de desperdício energético para ruminantes (Anderson et al., 2003). A produção de metano é maior quando os protozoários estão presentes em maior quantidade comparados à sua ausência ou quando presentes em menor número (Bhatta et al., 2009). Schönhusen et al. (2003) relataram que a emissão de metano aumentou exponencialmente quando a população de protozoários ruminais foi aumentada, demonstrando um possível efeito de redução na produção de metano ruminal com o uso de TC.

2.6 Efeito dos taninos sobre a produção e composição do leite

Os efeitos dos TC sobre a produção e composição do leite são variáveis e dependem da sua concentração, estrutura e peso molecular (Piluzza et al., 2014). Wang et al. (1996) obtiveram um aumento de 21% na produção leiteira de ovelhas alimentadas com *Lotus Corniculatus* (44,5 g de TC/kg de MS), comparadas a ovelhas dosadas com polietilenoglicol, um agente com alta afinidade aos TC. Esses autores também relataram aumento significativo na eficiência da produção leiteira, aumento na produção de proteína e lactose e uma redução no conteúdo de gordura no leite. O aumento na produção de proteína poderia ser explicado pela

maior disponibilidade de aminoácidos essenciais, especialmente por metionina e lisina os quais são limitantes para a produção leiteira, além de aminoácidos de cadeia ramificada que poderiam melhorar a proteína do leite e também a síntese de lactose (via gliconeogênese) (Wang et al., 1996).

O Quadro 2 demonstra os efeitos do uso de diferentes fontes e níveis de taninos condensados na alimentação de vacas em lactação.

Quadro 2. Principais efeitos do uso de extratos de taninos condensados na alimentação de vacas leiteiras

Referência	Fonte de tanino	Níveis utilizados	Principais efeitos positivos	Principais efeitos negativos
Aguerre et al. (2016)	Castanha (<i>Castanea sativa</i>) + Quebracho (<i>Schinopsis</i> spp.). (Mistura de 30 + 60% respectivamente)	0; 4,5; 9 e 18 g/kg de MS na dieta	↓ nitrogênio (N) na urina ↑ N nas fezes	↓ Ingestão de matéria seca (IMS); ↓ Produção de leite corrigida para gordura; ↓ Digestibilidade aparente dos nutrientes.
Griffiths et al. (2013)	Acácia Negra (<i>Acacia mearnsii</i>) (60,1% de TC)	6; 14; 29 g/kg de MS da dieta (“drench”)	↓ N na urina; ↑ N nas fezes (níveis de 6 g/kg)	↓ IMS (em níveis acima de 14 g/kg);
		12 g/kg de MS da dieta (pellet)	↓ N na urina; ↑ N nas fezes;	↓ produção de leite em 3,5%.
Dschaak et al. (2011)	Quebracho (<i>Shinopsis</i> spp.) (75% de TC)	30 g/kg da MS da dieta	↑ eficiência na produção leiteira nas dietas com menor proporção de forragem (41% x 60%)	↓ IMS; ↓ Nitrogênio ureico do leite.
Grainger et al. (2009)	Acácia Negra (<i>Acacia mearnsii</i>) na forma de “drench”	10,8 e 19,1 g/kg de MS da dieta	↓ N na urina; ↑ N nas fezes; ↓ Produção de metano (CH ₄)	↓ IMS; ↓ Produção leiteira;
Benchaar et al. (2008)	Quebracho (<i>Shinopsis</i> spp.) (70% de TC)	6,4 g/kg de MS da dieta	Não apresentou efeitos sobre a ingestão, digestibilidade e produção de leite	Não apresentou efeitos significativos.

Dschaak et al. (2011) relataram uma redução na ingestão de MS, porém não ocorreu influência sobre a digestibilidade, produção leiteira e fermentação ruminal quando vacas foram alimentadas com taninos de quebracho a 3% da MS da dieta. Anantasook et al. (2015) avaliaram a utilização de vagens de *Samanea saman* (uma mistura de TC e saponinas) para vacas em lactação na dose de 60g/kg da ingestão de MS e verificaram aumentos na produção de ácido propiônico, produção leiteira, proteína e gordura do leite.

Em outros estudos, foram observados efeitos adversos sobre a produção e composição do leite, Aguerre et al. (2016) avaliaram crescentes níveis de uma mistura de taninos de quebracho e castanha (0; 4,5; 9 e 18 g/kg da MS) na dieta de vacas em lactação e obtiveram efeitos negativos na ingestão de MS, produção de leite corrigida para gordura e proteína, proteína verdadeira do leite, produção leiteira e digestibilidade aparente dos nutrientes, particularmente nos níveis de 9 e 18 g/kg da MS da dieta. Grainger et al. (2009) avaliaram níveis de 9 a 15 g/kg de taninos condensados de *Acacia mearnsii* e observaram redução na produção de leite, que foi relacionada ao efeito combinado de redução na ingestão de alimento e na redução na digestibilidade de N e na energia digestível.

Benchaar et al. (2008) avaliaram TC de quebracho em nível de 4,5 g/kg da MS na dieta de vacas da raça holandês e não ocorreram diferenças para a ingestão de MS, digestibilidade aparente e na produção e composição do leite. Dcschaak et al. (2011) utilizaram taninos de quebracho para vacas holandês em nível de 3% da MS em dietas com alto e baixo teor de volumoso (60% e 40% de volumoso respectivamente) e não obtiveram grandes variações na digestibilidade e produção leiteira, mas relataram redução na ingestão de alimento e nas concentrações de nitrogênio ureico do leite e melhor eficiência alimentar no tratamento com taninos e maior proporção de forragem.

2.7 Ação antioxidante dos taninos

A peroxidação de lipídeos é um processo gerado no organismo, principalmente pelo efeito de várias espécies reativas ao oxigênio (radicais hidroxilas, peróxido de hidrogênio etc.) (Milonas e Kouretas, 1999). Taninos são considerados antioxidantes naturais, os quais consistem em um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxilas, os quais podem combinar com radicais livres, retardando o processo de oxidação (Rice-Evans et al., 1996). Os efeitos inibitórios dos TC na peroxidação lipídica são possíveis devido à “remoção” de radicais livres e ativação de defesas antioxidantes endógenas contra esses radicais (Liu et al., 2011),

porém, estudos têm demonstrado que nem todos os taninos apresentam os mesmos efeitos estando possivelmente ligados a diferenças na sua estrutura (Liu et al., 2009).

Luciano et al. (2011) relataram aumento no status antioxidante no músculo de cordeiros alimentados com uma dieta baseada em concentrado, suplementados com taninos de quebracho comparado com a dieta livre de taninos. López-Andrés et al. (2013) avaliaram a presença de proantocianidinas no fígado e plasma, assim como efeitos antioxidantes em cordeiros alimentados com TC de quebracho, com o objetivo de avaliar se a atividade antioxidante poderia ser relacionada à transferência desses compostos aos tecidos dos animais. Os autores observaram maior atividade antioxidante nesses tecidos, porém não detectaram compostos fenólicos no sangue e fígado, sugerindo que essa capacidade antioxidante é um efeito indireto dos TC sobre o metabolismo dos animais. Por outro lado, Gladine et al. (2007) detectaram a presença de epicatequinas (polifenóis) no sangue de ovinos recebendo diferentes extratos de plantas ricas em polifenóis infundidas no rúmen e sugeriram que ruminantes podem ser capazes de metabolizar proantocianidinas monoméricas em compostos biodisponíveis.

No estudo de Liu et al. (2013) com vacas leiteiras, utilizando taninos de castanha (*Castanea sativa*) em 10 g/kg de TC na MS, relataram melhorias na saúde animal pela inibição da peroxidação lipídica e pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes no plasma e fígado, sem prejudicar sua produção leiteira (Liu et al., 2013). Além disso, esses autores também observaram efeito sobre o malondialdeído (MDA) nos tecidos e no leite. Sendo o MDA um produto secundário da peroxidação de lipídeos utilizado como indicador do estresse oxidativo, os resultados obtidos por Liu et al. (2013) indicaram que a suplementação de TC poderiam aliviar o estresse oxidativo na glândula mamária de vacas em lactação uma vez que reduziu esses metabólitos no leite, plasma e fígado. Dey e De (2014) observaram maior atividade antioxidante no sangue de vacas lactantes alimentadas com *Ficus bengalensis* (1,5% de TC na MS).

2.8 Referências

- AGOSTINI-COSTA, T.S.; VIEIRA, R.F.; BIZZO, H.R. et al. Secondary Metabolites. In: **Chromatography and Its Applications**; Dhanarasu, S., Ed. InTech, 2012.
- AGUERRE, M.J.; CAPOZZOLO, M.C.; LENCIONI, P. et al. Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p.4476–4486, 2016.
- AHMED, M.; KHIRSTOVA, P.; ICHO, G. Comparative study of tannins of *Acacia nilotica* an indigenous tanning material in Sudan with *Acacia mearnsii*. **Suranaree Journal of Science and Technology**, n.12, v.4, p.259-265, 2005.
- AHNERT, S.; DICKHOEFER, U.; SCHULZ, F. et al. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. **Livestock Science**, v.177, p.63–70, 2015.
- AL-DOBAIB, S.N. Effect of different levels of Quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. **Animal Science Journal**, v. 80, n. 5, p. 532–541, 2009.
- ANANTASOOK, N.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. et al. Effect of tannins and saponins in *Samanea saman* on rumen environment, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 2, p. 335–344, 2015.
- ANDERSON, R.C.; CALLAWAY, T.R.; VAN KESSEL, J.A.S. et al. Effect of select nitrocompounds on ruminal fermentation; an initial look at their potential to reduce economic and environmental costs associated with ruminal methanogenesis. **Bioresource Technology**, v. 90, n. 1, p. 59–63, 2003.
- ANIMUT, G.; PUCHALA, R.; GOETSCH, A.L. et al. Methane emission by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from lespedeza. **Animal Feed Science and Technology**, v. 144, n. 3–4, p. 212–227, 2008.
- ASSEFA, G.; SONDER, K.; WINK, M. et al. Effect of variety and harvesting management on the concentration of tannins and alkaloids in tagasaste (*Chamaecytisus palmensis*). **Animal Feed Science and Technology**, v. 144, p. 242–256, 2008.
- BAAH, J.; IVAN, M.; HRISTOV, A.N. et al. Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. **Animal Feed Science and Technology**, v.137, n.1–2, p.126–137, 2007.
- BAE, H.D.; MCALLISTER, T.A.; YANKE, J. et al. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, n.7, p.2132–2138, 1993.

- BAKER, S.K. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.50, p.1293-1298, 1999.
- 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 aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos & 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 from cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.8, p.1900-1906, 2007.
- BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T.A.; CHOUINARD, P.Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed Cinnamaldehyde, Quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. **Journal of Dairy Science**, v.91, n. 12, p. 4765-4777, 2008.
- BHATTA, R.; UYENO, Y.; TAJIMA, K. et al. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.11, p.5512-5522, 2009.
- BRUTTI, D.D. **Taninos na fermentação ruminal in vitro do capim Marandu adubado ou não com nitrogênio**. 2017. 57 f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.
- BUCCIONI, A.; SERRA, A.; MINIERI, S. et al. Milk production, composition, and milk fatty acid profile from grazing sheep fed diets supplemented with chestnut tannin extract and extruded linseed. **Small Ruminant Research**, v.130, p.200-207, 2015.
- BUTLER, L.G. Antinutritional effects of condensed and hydrolysable tannins. **Basic Life Sciences**, v.59, p.693-8, 1992.
- CARULLA, J.E; KREUZER, M.; MACHMÜELLER, A. et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.56, p.961-970, 2005.
- CASTRO-MONTOYA, J.M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, n.3, p.433-448, 2011.
- CIESLAK, A.; ZMORA, P.; PERS-KAMCZYC, E. et al. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, n.1-4, p.102-106, 2012.
- DEY, A.; DE, P.S. Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.27, n.3, p.342-348, 2014.

- DICKHOEFER, U.; AHNERT, S.; SUSENBETH, A. Effects of quebracho tannin extract on rumen fermentation and yield and composition of microbial mass in heifers. **Journal of Animal Science**, v.94, n.4, p.1561–1575, 2016.
- DSCHAAK, C.M.; WILLIAMS, C.M.; HOLT, M.S. et al. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.1, p.2508–2519, 2011.
- GLADINE, C.; ROCK, E.; MORAND, C. et al. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. **British Journal of Nutrition**, v.98, n.4, p.691–701, 2007.
- GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M. J. et al. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.89, p.241-251, 2009.
- GRIFFITHS, V.M.; CLARKA, C.E.F.; CLARK, D.A. et al. Supplementing lactating dairy cows fed high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. **Animal**, v.7, n.11, p.1789–1795, 2013.
- GRIGOLETTI, A.; SANTOS, A. F.; HIGA, A. R. et al. **Cultivo da Acácia-Negra**. Colombo: Embrapa Florestas, Sistemas de Produção, n.3, 2003
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v.68, n.22–24, p.2831–2846, 2007.
- HERVÁS, G.; FRUTOS, P.; GIRÁLDEZ, F.J.; et al. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, n.1–4, p.65–78, 2003.
- HIGA, R.C.V.; DEDECEK, R.A. **Acácia-negra**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1999, 2p.
- HRISTOV, A.N.; IVAN, M.; RODE L.M.; et al. Fermentation characteristics and rumen ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high barley based diets. **Journal of Animal Science**, v.79, p.515-524, 2001.
- IVAN, M.; NEILL, L.; FORSTER, R. et al. Effects of *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*, and Total Fauna on Ruminal Fermentation and Duodenal Flow in Wethers Fed Different Diets. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.3, p.776–787, 2000.
- 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.
- KRUEGER, W.K.; GUTIERREZ-BAÑUELOS, H.; CARSTENS, G.E. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass trait in steers fed a high-grain diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, p. 1-9, 2010.

- 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.
- LANDAU, S.; SILANIKOVE, N.; NITSAN, Z. et al. Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, n.69, p.199–213, 2000.
- LIU, H.W.; DONG, X.F.; TONG, J.M. et al. A comparative study of growth performance and antioxidant status of rabbits when fed with or without chestnut tannins under high ambient temperature. **Animal Feed Science and Technology**, v.164, n.1–2, p. 89–95, 2011.
- LIU, H. W.; GAI, F.; GASCO, L. et al. Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. **Meat Science**, v.83, n.4, p.678–683, 2009.
- LIU, H.W.; ZHOU, D.W.; LI, K. Effects of chestnut tannins on performance and antioxidative status of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.9, p.5901–5907, 2013.
- LÓPEZ-ANDRÉS, P.; LUCIANO, G.; VASTA, V. et al. Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.110, n.4, p.632–639, 2013.
- LUCIANO, G.; VASTA, V.; MONAHAN, F.J. et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. **Food Chemistry**, v.124, n.3, p.1036–1042, 2011.
- MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v. 49, p. 241–256, 2003.
- 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.
- MCALLISTER, T.A.; MARTINEZ, T.; HEE, D.B. et al. Characterization of condensed tannins purified from legume forages: Chromophore production, protein precipitation, and inhibitory effects on cellulose digestion. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, n.9, p.2049–2068, 2005.
- MCNABB, W.C.; PETERS, J.S.; FOO, L.Y. et al. Effect of condensed tannins prepared from several forages on the in vitro precipitation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) protein and its digestion by trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, p.201–212, 1998.
- 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.

- MENEZES, C.M. **Determinação direta de taninos e umidade em casca de *Acacia mearnsii* (Acácia - negra) por espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada.** Dissertação (Mestre em Sistemas e Processos Industriais), 134 f. 2013 - Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul.
- MILONAS, C.; KOURETAS, D. Lipid peroxidation and tissue damage. **In vivo**, v.13, n.3, p. 295-309, 1999.
- 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, p.3–19, 2003.
- MUELLER-HARVEY, I. Review: Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2010-2037, 2006.
- NAUMANN, H.D.; TEDESCHI, L.O.; ZELLER, W.E. et al. Invited Review: The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, n.12, p.929-949, 2017.
- OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.1, p.1–9, 2007.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.96, n.4, p.363–375, 2009.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v. 71, n. 11–12, p. 1198–1222, 2010.
- PILUZZA, G.; SULAS, L.; BULLITTA, S. Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: A review. **Grass and Forage Science**, v.69, n.1, p.32–48, 2014.
- RENNER, R.R. **Desenvolvimento de um processo de clareamento de taninos utilizando dióxido de enxofre (SO₂) como alvejante.** 2014. 73 f. Dissertação (Mestre em Sistemas e Processos Industriais) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul.
- RIBEIRO, S.S. **Extrato tanífero de *Acacia mearnsii* como aditivo na nutrição de ruminantes.** 2014. 82 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933–956, 1996.
- SCHNEIDER, P.R.; FLEIG, F.D.; FINGER, C.A.G. et al. Crescimento da acácia-negra, *Acacia mearnsii* De Wild em diferentes espaçamentos. **Ciência Florestal**, v.10, n.2, p.101–112, 2000.

- SCHÖNHUSEN, U.; ZITNAN, R.; KUHLA, S. et al. Effects of protozoa on methane production in rumen and hindgut of calves around time of weaning. **Archives of Animal Nutrition**, v.57, n.4, p.279–295, 2003.
- SMITH, A.H.; ZOETENDAL, E.; MACKIE, R.I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of Dietary Tannins. **Microbial Ecology**, v.50, p.197–205, 2005.
- TAN, H.Y.; SIEO, C.C.; ABDULLAH, N. et al. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v.169, n.3–4, p.185–193, 2011.
- TERRILL, T.H.; WAGHORN, G.C.; WOOLLEY, D.J. et al. Assay and digestion of ¹⁴C-labelled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. **The British Journal of Nutrition**, v.72, n.3, p.467–477, 1994.
- 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* L. **British Journal of Nutrition**, n.57, p.115-126, 1987.
- WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production — Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, p.116–139, 2008.
- WAGHORN, G.C.; MCNABB, W.C. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, n.62, p. 383-392, 2003.
- WAGHORN, G.; REED, J.D.; NDLOVU, L.R. Condensed tannins and herbivore nutrition. In: **Proceedings of the XVIIth International Grasslands Congress**, Calgary, Alta: Association, Management Center, v.3, p. 153-156, 1999.
- WALLACE, R.J.; MCPHERSON, C.A. Factors affecting the rate of breakdown of bacterial protein in rumen fluid. **British Journal of Nutrition**, v.58, n.02, p.313-323, 1987.
- WANG, Y.; DOUGLAS, G.B.; WAGHORN, G.C. et al. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon lactation performance in ewes. **The Journal of Agricultural Science**, v.126, n.03, p.353–362, 1996.
- WOODWARD, S.L.; LABOYRIE, P.J.; JANSEN, E.B.L. *Lotus Corniculatus* and condensed tannins – Effects on milk production by dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.13, p. 521–525, 2000.

3 TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (*Acacia mearnsii*) NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO

Resumo

Objetivou-se avaliar a inclusão de taninos condensados (TC) de acácia negra (*Acacia mearnsii*) e seus efeitos sobre a ingestão, digestibilidade aparente, produção e composição do leite de vacas da raça Holandês. Foram utilizadas 5 vacas da raça holandês ($88 \pm 26,8$ dias em lactação), alocando-as em um delineamento quadrado latino 5 x 5, cada período experimental teve a duração de 20 dias (consistindo em 14 dias para adaptação e seis dias para coletas). Os tratamentos foram os níveis de inclusão de taninos condensados: 0; 5; 10; 15 e 20 g/kg da matéria seca das dietas. Não ocorreu efeito dos níveis de TC sobre as ingestões de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, carboidratos não-fibrosos e fibra em detergente neutro. A digestibilidade da matéria seca e da FDN apresentaram efeito quadrático, com os pontos de máxima estimados nos níveis de 12,2 e 11,4 g/kg respectivamente. Não ocorreu efeito sobre a síntese de proteína microbiana e produção leiteira em kg/dia, no entanto, os teores de caseína reduziram linearmente assim como produção de leite corrigida para gordura e energia. Não foi verificado efeito sobre o perfil oxidativo do leite. A inclusão de taninos condensados dentro da faixa estudada, com níveis de até 20 g/kg da MS não altera a ingestão, digestibilidade dos alimentos e a síntese microbiana, no entanto, reduz a produção de leite corrigida para energia e caseína, sendo um efeito adverso sobre o desempenho dos animais.

Palavras-chave: aditivos, digestibilidade, ingestão, polifenóis

CONDENSED TANNINS OF BLACK WATTLE (*Acacia mearnsii*) IN LACTATING COWS FEEDING

Abstract

The objective was to evaluate the effects of the inclusion of condensed tannins (CT) from Black Wattle (*Acacia mearnsii*) to feed lactating cows and the effects on apparent digestibility, milk production and composition of Holstein cows. Five Holstein cows ($88 \pm 26,8$ days in milk) were allocated in a 5x5 Latin square design, each experimental period lasted 20 days (14 days to adaptation and six for sampling). The treatments were the inclusion levels of condensed tannins (0, 5, 10, 15 and 20 g/day of DM in the diets). It did not occur effect on CT on dry matter intake, organic matter, crude protein, ether extract, non-fiber carbohydrates and neutral detergent fiber (NDF). Digestibility of dry matter, and NDF presented a quadratic effect with the maximum values of 12,2 and 11,4 g/kg respectively. There was no effect on microbial protein synthesis and milk production in kg/day, however, the casein contents reduced linearly, as milk production corrected for fat and energy. It did not occur effect on the milk oxidative profile. Inclusion of condensed tannins in levels up to 20 g/kg of dry matter did not alter the intake, nutrients digestibility and microbial protein synthesis, however, reduced the milk production corrected for fat and energy and casein content, consisting in an adverse effect on animal performance.

Key words: additives, digestibility, intake, polyphenols

3.1 Introdução

Os taninos condensados são metabólitos secundários produzidos pelas plantas os quais apresentam alto peso molecular e podem ser classificados em duas classes: condensados e hidrolisáveis. Possuem a capacidade de formar complexos principalmente com proteínas, polissacarídeos e minerais (Makkar, 2003; Frutos et al., 2004) além disso, podem exercer efeitos sobre os microrganismos ruminais (Benchaar et al., 2008).

Concentrações baixas a moderadas de taninos condensados (2% a 4%) na dieta de ruminantes podem aumentar o fluxo pós-ruminal de nitrogênio não amoniacal devido a sua habilidade de formar complexos reversíveis com as proteínas dos alimentos (Min et al., 2003), promovendo uma maior disponibilidade de aminoácidos no intestino delgado (Oliveira et al., 2008).

A redução na taxa de digestão dos alimentos pode aumentar a eficiência da síntese microbiana ruminal, devido a uma sincronização liberação dos nutrientes (Makkar, 2003). No entanto, elevadas concentrações de taninos podem ocasionar efeitos prejudiciais no desempenho animal, sendo necessários mais estudos com os níveis adequados para se obter o melhor desempenho dos animais (Makkar, 2003; Vasta et al., 2008).

Taninos também podem combinar-se com radicais livres no organismo animal, sendo considerados um tipo de antioxidante natural (Liu et al., 2013), podendo melhorar alguns parâmetros da qualidade dos produtos finais como carne e leite (Vasta e Luciano, 2011).

Entre as diferentes fontes de taninos utilizadas está o extrato de taninos condensados de acácia negra (*Acacia mearnsii*) o qual é disponível comercialmente e tem demonstrado potencial para ser utilizado como aditivo alimentar para ruminantes (Orlandi et al., 2015). No entanto, os resultados ainda são variáveis e dependem da dieta e também da forma em que são fornecidos aos animais (Grainger et al., 2009; Griffiths et al., 2013; Orlandi et al., 2015).

Dessa maneira, a hipótese é que níveis moderados de taninos condensados podem melhorar a eficiência na produção leiteira pelo maior aporte proteico que chega ao intestino, sem alterar a síntese microbiana e a ingestão dos animais e também apresentar efeito positivo sobre o perfil oxidativo do leite. Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito de níveis de taninos de acácia negra (*Acacia mearnsii*) sobre a digestibilidade, desempenho e composição do leite de vacas da raça Holandês em lactação.

3.2 Material e métodos

Produção de gases “*in vitro*”

A produção de gases “*in vitro*” foi realizada a partir da técnica descrita por Theodorou et al. (1994) e adaptada por Mauricio et al. (1999), onde 0,5g das amostras foram incubadas em frascos contendo solução tampão (100 mL) e líquido ruminal (25 mL) o qual foi coletado manualmente de bovinos canulados no rúmen e filtrado com gaze.

O líquido ruminal foi coletado de dois bovinos fistulados da raça Jersey, filtrado em quatro camadas de gaze. O líquido e a solução foram previamente homogeneizados, subsequentemente foi inserido CO₂ nos frascos e após fechados e mantidos em banho metabólico a 39,5 °C. Ao final das 48 horas de incubação, o conteúdo dos frascos foi seco em estufa a 105 °C para a determinação da MS remanescente após a incubação. O volume de gás produzido acumulado foi corrigido para MS fermentada. As dietas utilizadas foram calculadas com as mesmas proporções e ingredientes descritos na Tabela 2.

A produção cumulativa dos gases foi avaliada por meio de sistema computadorizado sem fio (ANKOM RF – Gas production system[®]). Os dados de pressão em psi, foram coletados a cada 10 minutos e posteriormente transformados em mL. Para ajustes de variação, frascos foram considerados brancos contendo apenas as soluções para incubação sem a amostra.

Para a estimativa da cinética dos parâmetros de fermentação ruminal foi utilizado o modelo bicompartimental de Schofield et al. (1994):

$$y = A/\{1+\exp[2+4.B.(C-t)]\}+D/\{1+\exp[2+4.E.(C-t)]\}$$

sendo y = o volume de gás produzido no tempo t; A= o volume de gás (ml) produzido na fração rapidamente degradável; B= taxa de degradação da fração rapidamente degradável (açúcares solúveis e amido); C= lag time (h) para a colonização microbiana; D= volume de gás (ml) produzido da fração lentamente degradável (celulose, proteína verdadeira e hemicelulose); e E= taxa de degradação (/h)da fração lentamente degradável.

Delineamento experimental e dietas

O experimento foi conduzido na fazenda experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) localizada, a 24°31'55.3" latitude sul, 54°01'08.0" longitude oeste

e 392 metros de altitude. O protocolo de experimentação animal foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal da Unioeste (n° 54/16).

Utilizou-se cinco vacas multíparas da raça Holandês com $88 \pm 26,8$ dias em lactação, produção inicial média de $31,4 \pm 4,14$ litros de leite e peso inicial médio de 608 ± 72 kg. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 5 x 5, com períodos experimentais de 20 dias (14 destinados à adaptação das dietas e seis dias para coleta). Os tratamentos foram níveis de inclusão do extrato de taninos condensados de acácia em 0; 6,12; 12,25; 18,42 e 24,58 g/kg na MS da dieta, o qual foi misturado com os demais ingredientes do concentrado (Tabela 1). A fonte de TC foi um produto comercial extraído de Acácia negra (*A. mearnsii*) (Seta S/A, Estância Velha, RS, Brasil), com concentração de taninos condensados de 805,2 g/kg de MS de acordo com o fabricante. Desse modo, considerando a concentração de taninos do produto comercial, a dose foi de 0; 5, 10, 15 e 20 g/kg de TC na MS da dieta (Tabela 2).

Tabela 1. Composição química (g/kg MS) dos ingredientes das dietas

Composição	Silagem de milho	Feno de Tifton 85	Milho moído	Farelo de soja
MS	276,42	856,03	868,69	879,67
MO	943,50	929,33	986,19	928,34
PB	77,00	89,73	91,69	473,86
EE	30,51	15,19	41,95	15,02
FDN	489,78	780,44	116,89	154,59
FDNcp	469,23	729,79	105,41	122,94
CNF ¹	366,76	94,61	747,14	316,51
NDT estimado ²	671,68	559,43	815,69	801,13

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos.

¹CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDNcp).

² Estimado pela equação de Tibo et al. (2000): NDT (%) = 86,0834 - 0,3862 FDN.

Procedimentos de coletas e análises

Os animais foram alojados em estábulo coberto com baias do tipo tie-stall contendo cochos individuais. As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia, as 6:00 horas e 16:00 horas e a alimentação foi fornecida após as ordenhas, nas proporções de 70% e 30%, respectivamente, do total de MS oferecida. A pesagem dos animais foi realizada no início e final de cada período,

antes da alimentação da manhã para ajuste da quantidade de ração fornecida de maneira a garantir sobras entre 5 a 10% da MS.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de MS

Ingredientes	Níveis de inclusão de extratos de taninos condensados (g/kg)				
	0	5	10	15	20
Silagem de milho	300,00	300,00	300,00	300,00	300,00
Feno de Tifton 85	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00
Milho moído	333,27	325,55	318,67	311,08	303,76
Farelo de soja	146,25	147,63	148,47	149,78	150,97
Mistura mineral ¹	14,83	14,82	14,77	14,82	14,82
Fosfato bicálcico	2,17	2,39	2,38	2,43	2,39
Bicarbonato de sódio	3,48	3,48	3,46	3,47	3,47
Extrato de Taninos condensados ²	-	6,12	12,25	18,42	24,58
Composição química					
MS	692,20	692,99	693,46	693,53	693,96
MO	938,63	937,61	937,11	937,19	936,83
PB	138,01	138,99	140,52	140,88	140,26
PDR estimado ³	88,20	89,35	90,57	91,57	91,04
PNDR estimado ³	49,81	49,67	49,95	49,30	49,22
EE	24,59	25,69	25,34	24,45	25,89
FDN	363,35	365,52	366,08	365,99	366,50
FDNcp ⁴	337,50	337,67	336,89	336,47	336,65
CNF ⁵	438,52	435,26	434,36	435,39	434,03
NDT estimado ⁶	710,00	700,00	700,00	690,00	680,00

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidrato não fibroso.

¹Mistura mineral: Ca: 230 g/kg; P: 50 g/kg; Fe: 500 mg/kg; Cu: 235 mg/kg; Mn: 1000 mg/kg; Zn: 1875 mg/kg; Co: 30 mg/kg; I: 30 mg/kg; Se: 12 mg/kg; Na: 55 g/kg; F: 500 mg/kg; Cr: 10 mg/kg; Mg: 8 g/kg; Vitamina A: 300.000 UI/kg; Vitamina D3: 60.000 UI/kg; Vitamina E: 400 UI/kg.

²Concentração do produto comercial de 805,2 g/kg de taninos condensados na matéria seca.

⁴FDNcp: Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína.

⁵CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDNcp)

^{3,6}Valores estimados pelos modelos do NRC (2001).

A ingestão foi mensurada diariamente pela pesagem do alimento fornecido e das sobras, sendo calculada para análise estatística no período de coletas (do 15° ao 20° dia). Amostras diárias foram coletadas e estocadas para posteriores análises. Para a avaliação da digestibilidade, amostras de fezes em uma quantidade de 165 g foram coletadas diretamente do reto conforme a seguinte distribuição: 15° dia as 08:00 horas, 16° dia as 10:00 horas, 17° dia as 12:00 horas, 18° dia as 14:00 horas, 19° dia as 16:00 horas e 20° dia as 18:00 horas. No 19° dia realizou-se a coleta de fezes um pouco antes em relação aos demais dias para não coincidir com o momento da ordenha. Subsequentemente as amostras foram secas em estufa de ar forçado (55°C por 72 horas) e moídas em peneiras de 1 mm. Realizou-se um pool de amostras de cada alimento, sobras e fezes, resultando em uma amostra de cada animal por período.

As amostras foram analisadas de acordo com a metodologia da AOAC (1990) para os teores de matéria seca (MS; método 934.01), extrato etéreo (EE; método 920.85), cinzas (CZ; método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10) e a determinação da fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença entre o conteúdo de cinzas e a MS total. Os carboidratos não fibrosos foram calculados pela equação de Weiss et al. (1999) de acordo com a seguinte fórmula: $CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDN_{cp})$.

Para estimar a excreção fecal diária, a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) foi utilizada como indicador interno. A FDAi foi determinada nas amostras de alimento, sobras e fezes, as quais foram incubadas (método *in situ*) por 264 horas como descrito por Casali et al. (2008). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas foram calculados utilizando a digestibilidade dos nutrientes de acordo com a fórmula proposta pelo NRC (2001): $NDT = PB_d + CNF_d + ((EE_d - 1) * 2,25) + FDN_d - 7$.

A produção leiteira das vacas foi registrada diariamente com o uso de medidores (Waikato MKV) acoplados ao equipamento de ordenha. Para a análise estatística, apenas os dados referentes aos períodos de coletas foram utilizados.

No 15° e 16° dias, amostras de leite foram coletadas e compostas proporcionalmente pelo leite das ordenhas da manhã e da tarde. As amostras foram armazenadas em frascos contendo conservante Bromopol[®] (2-bromo-2-nitropopano-1,3-diol) e analisadas para gordura, proteína, lactose, caseína, nitrogênio ureico do leite (NUL) e conteúdo de sólidos totais por espectroscopia de infravermelho (modelo Bentley 2000; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN) (IDF, 2000). A secreção diária de energia no leite foi calculada pela equação do NRC, (2001) e a produção de leite corrigida para energia (PLCE) foi calculada conforme Dias Júnior et al.

(2017): $PLCE = \text{Secreção diária de energia no leite}/0,7$. A eficiência da produção leiteira foi calculada, dividindo-se a PLCE pela ingestão de MS.

A análise de hidroperóxidos de dieno conjugados no leite foi realizada de acordo com o descrito por Kiokias et al. (2006). Uma alíquota de 50 μL de leite e 2,5 ml de solução isooctano/2-propanol (2:1 v/v) foi homogeneizada com o uso de vórtex por um minuto. A solução foi filtrada em membrana PTFE com 0,22 μm e realizou-se a leitura do filtrado a uma absorbância a 232 nm em espectrofotômetro (UV-M51; Bel Photonics, Piracicaba, SP). A quantidade de dieno conjugados foi expressa em mmol/kg de gordura.

A análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada conforme descrito por Vyncke (1970) com adaptações. Uma alíquota de 500 μL de leite foi misturada com 2 mL de ácido tiobarbitúrico (1:99 w/v), ácido tricloroacético (15:85 w/v) e ácido clorídrico (0,005:99,995 v/v), e a mistura foi aquecida a 100 °C por 15 min. Sequencialmente, a mistura foi submetida a um banho frio de 5 min e uma centrifugação de 3000 g por 10 min. O sobrenadante foi lido a 538 nm em espectrofotômetro. Os valores de TBARS foram expressos em mmol de malondialdeído (MDA) por kg de gordura.

O poder redutor do leite foi analisado conforme descrito por Zhu et al. (2002) com alterações. Utilizou-se 2,5 mL de leite e adicionou-se 2,5 mL de ácido tricloroacético (20:80 w/v), agitou-se a solução em vórtex por 10 min e posteriormente centrifugou-se por 10 min a 3000 g. Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi misturado com 2,5 mL de tampão fosfato (50 mmol/L, pH 7) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio (1:99 w/v) e incubado a 50 °C por 20 min. Sequencialmente, foi adicionado 2,5 mL de ácido tricloroacético (10:90 w/v) e a mistura foi novamente centrifugada a 3000 g por 10 min. O sobrenadante (2 mL) foi recuperado e misturado com 0,5 mL de cloreto férrico (0,1:99,9 w/v) no momento da leitura com absorbância a 700 nm. O poder redutor foi expresso em equivalente de ácido gálico (EAG; mg/L).

Para as estimativas de síntese microbiana, as amostras de leite destinadas a análise de alantoína foram desproteinizadas utilizando 5 mL de ácido tricloroacético, filtradas através de filtro de papel qualitativo e analisadas para a concentração de alantoína pelo método de Chen e Gomes (1992). As amostras de urina spot foram coletadas em aproximadamente 4 horas após a alimentação da manhã no 17° dia de cada período experimental. Uma alíquota de 10 mL de urina foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N) e destinada a quantificação das concentrações de creatinina pelo método colorimétrico de ponto final, ácido úrico pelo método enzimático colorimétrico e alantoína pelo método colorimétrico de acordo com a mesma metodologia utilizada para o leite. A excreção diária de creatinina adotada foi de 24,05 mg/kg

do peso corporal segundo Chizzotti et al. (2007). A absorção de purinas microbianas foi estimada pela equação proposta por Verbic et al. (1990).

Realizou-se a coleta de sangue no 20º dia de cada período experimental na veia coccígea por meio de tubos a vácuo sem anticoagulante. Foram coletadas amostras dos animais antes da alimentação e quatro horas após a alimentação da manhã, e as mesmas foram centrifugadas a 3200 g por 15 minutos para obtenção do soro. Nas amostras coletadas antes da alimentação, foram analisados os teores de nitrogênio ureico do sangue, colesterol, triglicerídeos e glicose pelo método enzimático colorimétrico, creatinina e gama glutamiltransferase (Gama GT) pelo método cinético colorimétrico e a fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), magnésio, fósforo e cálcio pelo método colorimétrico por meio de espectrofotômetro de calibração automática com leitor de alto desempenho (Flexor Biochemical Analisador EL 200; Elitech Group, Vitória, ES). Para as amostras coletadas 4 horas após a alimentação, foram analisados apenas os teores de nitrogênio ureico do sangue (NUS), colesterol, triglicerídeos e glicose. Realizou-se as análises sanguíneas com o uso de padrões comerciais.

Análises estatísticas

Para a produção de gases *in vitro*, realizou-se um delineamento de blocos ao acaso (incubações), sendo realizados dois blocos com duas repetições para cada tratamento (níveis de inclusão de TC) em cada bloco.

O modelo experimental utilizado para a produção de gases *in vitro* foi:

$$\gamma_{ij} = \mu + T_i + b_j + e_{ij}$$

Sendo γ_{ij} = variável dependente; μ = média; T_i = efeito fixo do tratamento ($i= 1$ a 5); b_j = efeito aleatório de bloco (1 a 2); e e_{ij} = erro residual.

No experimento com as vacas em lactação, utilizou-se o procedimento PROC MIXED do SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2). O modelo matemático utilizado foi:

$$\gamma_{ijk} = \mu + T_i + p_j + a_k + \varepsilon_{ijk}$$

Sendo que γ_{ijk} = variável dependente, μ = média, T_i = efeito fixo do tratamento ($i= 1$ a 5), p_j = efeito aleatório do período ($j = 1$ a 5), a_k = efeito aleatório do animal ($k = 1$ a 5), e ε_{ijk} = erro residual.

Para análise estatística, a normalidade dos dados foi testada através do Teste de Shapiro-Wilk. Quando a inclusão dos TC foi significativa, os efeitos dos níveis de taninos foram

avaliados por polinômios ortogonais, testando efeitos lineares e quadráticos e as equações foram geradas utilizando o procedimento PROC REG do SAS. A significância foi declarada a $P < 0,05$ e tendência quando $0,05 < P \leq 0,10$.

3.3 Resultados

A produção total de gases (AD) (Tabela 3) não foi alterada ($P > 0,10$) pelos níveis de taninos das dietas assim como o volume de gases produzido nas frações de rápida e lenta degradação (A e D) e nas respectivas taxas de degradação (B e E), no entanto, a fração C (lag time) apresentou efeito linear crescente ($< 0,01$) com a inclusão dos TC.

A inclusão de taninos condensados (TC) não influenciou ($P > 0,10$) as ingestões de MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e NDT das vacas em lactação (Tabela 4).

As digestibilidades da MS (Tabela 5) e FDN apresentaram efeito quadrático ($P < 0,05$), enquanto a digestibilidade da MO apresentou tendência para o efeito quadrático ($P < 0,10$) sendo que os pontos de máxima obtidos foram estimados em 12,2; 11,4 e 11,9 g/kg de TC na MS da dieta, respectivamente. As digestibilidades da PB, EE e CNF não foram influenciadas ($p > 0,10$) pelos tratamentos. O teor de NDT das dietas aumentou linearmente ($P < 0,05$) com a inclusão de TC.

Tabela 3. Parâmetros da produção de gases “*in vitro*” (mL por 100 mg MS⁻¹ degradada) em dietas para vacas leiteiras com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Parâmetros ¹	Inclusão de TC (g/kg de MS)					EP	Valor de P		
	0	5	10	15	20		Trat	L	Q
A (ml)	12,81	13,35	11,17	14,05	11,62	1,514	0,173	-	-
B (/h)	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04	0,003	0,369	-	-
C ² (lag time, h)	1,72	2,20	2,53	2,96	3,00	0,521	0,001	0,001	-
D (ml)	12,32	15,33	11,31	11,31	12,52	1,899	0,337	-	-
E (/h)	0,13	0,11	0,13	0,13	0,13	0,014	0,929	-	-
AD (ml)	25,13	28,68	22,48	25,36	24,14	1,283	0,099	-	-

¹ Parâmetros da cinética da degradação ruminal segundo modelo bicompartimental de (Schofield et al., 1994) em que A=volume de gás produzido (ml por 100 mg de MS⁻¹ degradada) na fração de rápida degradação, B=taxa de degradação da fração A; C= Lag time; D= volume de gás (ml por 100 mg MS⁻¹ degradada) da fração lentamente degradável; E: taxa de degradação da fração D; AD: produção total de gases (ml/100 mg MS⁻¹ degradada) em 48 horas de incubação. ² $\hat{Y} = 1,7967 + 0,6782x$; Trat – efeito de tratamento; L – linear; Q – quadrático; EP – erro padrão.

Tabela 4. Ingestão de matéria seca e nutrientes de vacas da raça Holandês alimentadas com dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
IMS (kg/d)	21,56	20,99	20,73	19,69	20,01	0,701	0,116	-	-
IMS (g/kg PC)	34,05	33,24	33,61	31,37	31,69	1,234	0,182	-	-
IMO (kg/d)	20,24	19,69	19,43	18,46	18,76	0,651	0,106	-	-
IPB (kg/d)	2,98	2,95	2,94	2,77	2,84	0,106	0,299	-	-
IEE (kg/d)	0,53	0,54	0,53	0,48	0,53	0,033	0,485	-	-
IFDN (kg/d)	7,79	7,55	7,42	7,07	7,26	0,309	0,243	-	-
IFDN (g/kg PC)	12,32	11,94	12,02	11,28	11,51	0,555	0,393	-	-
ICNF (kg/d)	9,49	9,24	9,13	8,71	8,73	0,289	0,180	-	-
INDT (kg/d)	14,11	14,40	14,43	13,88	13,98	0,552	0,807	-	-

IMS – ingestão de matéria seca; IMO – ingestão de matéria orgânica; IPB – ingestão de proteína bruta; IEE – ingestão de extrato etéreo; IFDN – ingestão de fibra em detergente neutro; ICNF - ingestão de carboidratos não-fibrosos; INDT - ingestão de nutrientes digestíveis totais; Trat – efeito de tratamento; L – linear; Q – quadrático; EP – erro padrão.

Tabela 5. Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes (g/kg) em vacas da raça Holandês alimentadas com dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
DMS ¹	632,5	658,4	675,0	680,9	655,9	13,748	0,032	0,044	0,009
DMO ²	662,9	684,1	696,5	706,3	678,5	13,805	0,066	-	0,017
DPB	655,5	667,2	673,9	659,9	646,8	17,346	0,112	-	-
DEE	724,5	749,5	773,6	782,8	766,0	21,540	0,590	-	-
DFDN ³	435,7	476,9	488,0	487,5	460,2	14,125	0,014	0,083	0,002
DCNF	819,9	824,7	835,4	853,2	826,9	15,710	0,297	-	-
NDT ⁴	655,3	683,3	697,6	704,4	697,6	15,421	0,034	0,010	0,083

DMS – digestibilidade da matéria seca; DMO – digestibilidade de matéria orgânica; DEE – digestibilidade do extrato etéreo; DPB – digestibilidade da proteína bruta; DFDN – digestibilidade da fibra em detergente neutro; DCNF – digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos; NDT - nutrientes digestíveis totais: $NDT = PBd + CNFd + ((EEd - 1) * 2,25) + FDNd - 7$; Trat – efeito de tratamento; L – linear; Q – quadrático; EP- erro padrão da média; $^1\hat{Y} = 630,582 + 78,208x - 32,168x^2$; $^2\hat{Y} = 660,591 + 68,203x - 28,768x^2$; $^3\hat{Y} = 436,492 + 96,849x - 42,456x^2$; $^4\hat{Y} = 671,492 + 16,346x$

As excreções de alantoína, ácido úrico, purinas totais e absorvidas, produção diária de proteína microbiana e a eficiência da síntese microbiana em proteína bruta microbiana produzida por kg de NDT (PB-mic/kg NDT) não foram influenciadas ($P>0,10$) pela inclusão dos TC (Tabela 6).

Em relação aos parâmetros sanguíneos (Tabela 7), as concentrações creatinina, AST, Gamma GT, cálcio, fósforo, magnésio e colesterol dos animais antes da alimentação e triglicerídeos, glicose e NUS antes da alimentação e quatro horas após a alimentação não foram influenciados ($P>0,10$) pelos níveis de TC. As concentrações de ALT aumentaram linearmente ($P=0,04$) com a inclusão de TC. O colesterol no horário das quatro horas após a alimentação apresentou tendência de aumento linear com os níveis de TC ($P<0,10$).

A produção leiteira, a eficiência de produção de leite corrigido para energia, os teores de gordura, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico do leite não diferiram ($P>0,10$) com os níveis crescentes de TC (Tabela 8). A produção de leite corrigida para energia e a caseína reduziram linearmente ($P<0,05$) com a inclusão desse aditivo. Ocorreu tendência de redução nos teores de proteína do leite ($P<0,10$).

Tabela 6. Síntese de proteína microbiana vacas da raça Holandês recebendo dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)					EP	Valor de P		
	0	5	10	15	20		Trat	L	Q
Excreções (mmol/dia)									
Alantoína	489,1	450,2	467,1	467,0	443,4	23,218	0,364	-	-
Ácido úrico	36,4	38,9	38,5	40,1	32,8	2,584	0,104	-	-
Purinas totais	525,5	489,1	505,6	507,0	485,8	24,976	0,421	-	-
Purinas Microbianas (mmol/dia)									
PAbs	468,4	432,1	449,2	450,1	430,0	24,910	0,428	-	-
Produção Microbiana (g/dia)									
PB-microbiana	2128,4	1963,4	2041,1	2045,1	1953,7	113,19	0,428	-	-
Efic. Mic.	152,8	139,1	142,0	147,9	142,4	10,994	0,641	-	-

Trat – efeito de tratamento; L – linear; Q – quadrático; EP- erro padrão da média; PAbs – Purinas absorvidas; Efic. Mic - Eficiência de síntese microbiana = PB microbiana/kg de NDT ingerido;

Tabela 7. Parâmetros sanguíneos (mg/dL) de vacas da raça Holandês recebendo dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP ¹	Trat	L	Q
Antes da alimentação									
NUS ²	15,92	17,73	18,60	17,30	17,46	1,292	0,389	-	-
Colesterol	135,6	124,8	145,2	130,8	147,20	8,350	0,909	-	-
Triglicerídeos	7,80	8,00	9,40	10,4	8,80	1,007	0,126	-	-
Glicose	66,0	71,4	68,2	70,8	68,40	3,574	0,618	-	-
Creatinina	94,5	86,1	92,5	106,1	95,34	10,69	0,486	-	-
AST (UI/L) ³	70,4	68,8	74,0	71,6	68,00	4,368	0,675	-	-
ALT (UI/L) ⁴	27,7	26,0	32,7	31,1	32,56	2,309	0,044	0,014	-
Gama GT (UI/L) ⁵	20,2	23,4	21,0	23,2	20,20	1,992	0,484	-	-
Cálcio	9,32	9,47	9,38	9,16	9,40	0,323	0,892	-	-
Fósforo	6,26	6,63	6,80	7,11	6,76	0,648	0,768	-	-
Magnésio	1,74	2,03	1,96	1,76	1,99	0,099	0,033	-	-
4 horas após a alimentação									
NUS	18,20	19,07	19,89	17,73	16,80	1,141	0,132	-	-
Colesterol	132,48	115,16	135,83	137,55	143,83	9,567	0,096	0,056	-
Triglicerídeos	5,80	9,20	9,40	8,60	6,80	1,875	0,284	-	-
Glicose	60,00	57,20	63,00	63,00	60,40	2,289	0,126	-	-

¹Trat – Efeito de tratamento; EP - Erro padrão da média; L - linear; Q - quadrático; ²NUS - Nitrogênio ureico do sangue; ³AST - aspartato aminotransferase; ⁴ALT- alanina aminotransferase; ⁵Gama GT- gama glutamiltransferase; ⁴ $\hat{Y} = 27,053 + 2,974x$

Em relação ao perfil oxidativo do leite (Tabela 9), as concentrações de dieno conjugados apresentaram um aumento linear ($P < 0,03$) com a inclusão de TC, enquanto que o TBARS e o poder redutor não foram influenciados pelos níveis de TC ($P > 0,10$).

Tabela 8. Produção e composição do leite de vacas da raça Holandês recebendo dietas com diferentes níveis de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
PL (kg/dia)	28,63	28,57	29,07	27,90	27,90	1,026	0,746	-	-
PLCEn (kg/dia) ¹	26,59	26,58	27,15	24,82	24,43	0,851	0,027	0,008	-
EPLCE ²	1,26	1,28	1,31	1,27	1,23	0,054	0,676	-	-
Gordura (g/kg)	32,73	32,42	33,24	30,62	30,18	1,335	0,150	-	-
Proteína (g/kg) ³	31,07	31,69	30,72	29,42	28,86	0,932	0,053	0,008	-
Lactose (g/kg)	46,03	45,23	46,30	45,04	45,23	1,086	0,507	-	-
Caseína (g/kg) ⁴	24,36	24,90	24,20	22,79	22,47	0,815	0,046	0,007	-
ST (g/kg)	116,7	117,7	121,8	114,2	114,1	3,302	0,191	-	-
NUL (mg/dL)	14,91	16,27	16,09	15,29	14,92	0,648	0,162	-	-

PL – Produção leiteira; ¹PLCEn – produção de leite corrigida para energia = PL x (0,0929 × % gordura + 0,0547 × % proteína + 0,0395 × % lactose)/0,7; ²EPLCE – Eficiência da produção leiteira corrigida para energia = PLCEn/IMS; ST – sólidos totais; NUL- Nitrogênio ureico do leite; TC – taninos condensados; L – linear; Q – quadrático; EP- erro padrão; ¹Ŷ = 27,126 – 1,213x; ³Ŷ = 31,690 - 1,338x; ⁴Ŷ = 24,922 – 1,178x;

Tabela 9. Perfil oxidativo do leite de vacas da raça Holandês recebendo dietas com diferentes níveis de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de taninos condensados (g/kg)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
DC ¹	39,80	37,23	40,93	40,50	46,42	2,413	0,030	0,010	0,068
TBARS	1,93	1,63	1,46	1,92	1,85	0,225	0,210	-	-
Poder de redução	22,24	19,12	22,17	18,24	16,55	3,147	0,338	-	-

DC: Dienos Conjugados (mmol/kg de gordura); TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (mmol MDA/kg de gordura); Poder de redução (mg EAG/L); TC – taninos condensados; L – linear; Q – quadrático; EP- erro padrão; ¹Ŷ = 37,675 + 3,302x

3.4 Discussão

Na produção de gases *in vitro*, o tempo de colonização das bactérias (“lag time” = C) aumentou linearmente com os níveis dos TC, e esse efeito pode ter ocorrido pela ação de TC reduzindo a velocidade do crescimento microbiano, uma vez que essa fração representa o tempo ocorrido entre o início da incubação e a ação dos microrganismos sobre o substrato (Magalhães et al., 2006). No entanto, a inclusão de TC não alterou a produção total de gases (AD) e demais

parâmetros da cinética de degradação. Esses resultados divergem dos obtidos por Jayanegara et al. (2015) que avaliaram diferentes fontes de taninos condensados: *Mimosa tenuiflora* e *Schinopsis balansae* nas concentrações de 0,5; 0,75 e 1,0 g/kg mg de taninos/ml e observaram redução na produção total de gases, essa diferença pode estar relacionada ao tipo de taninos, dose e dieta utilizada (Grainger et al., 2009).

Taninos condensados utilizados em elevadas concentrações normalmente apresentam efeito negativo sobre a ingestão de alimento, todavia esse efeito pode variar com a fonte de tanino (Dschaak et al., 2011). A redução pode estar relacionada à ligação desses compostos com os nutrientes, ao seu efeito adstringente pela ligação com proteínas salivares e redução da digestibilidade, com consequente aumento na distensão ruminal reduzindo a aceitabilidade pelos animais (Kumar e Vaithiyathan, 1990; Mueller Harvey, 2006; Assefa et al., 2008), no entanto, no presente estudo a inclusão de TC não influenciou a ingestão de MS e dos nutrientes. Desse modo, o tipo e dose de tanino utilizado e a ausência de redução na digestibilidade, podem ser algumas das razões pela qual não foi observada redução na ingestão no presente estudo.

Aguerre et al. (2016) utilizaram uma mistura de taninos condensados e hidrolisáveis de quebracho (*Schinopsis spp.*) e Castanha (*Castanea sativa*) nos níveis de inclusão de 0; 4,5; 9 e 18 g/kg do extrato na MS e observaram uma redução linear na ingestão de MS, demonstrando que a fonte de taninos é uma das possíveis explicações para os diferentes resultados.

As digestibilidades da MS, MO e FDN apresentaram um efeito quadrático com ponto de máxima estimado em 12,2; 11,9 e 11,4 g/kg de TC na MS, respectivamente, o que pode ter ocorrido devido a um maior crescimento de bactéria fibrolíticas até o ponto de máxima, impactando positivamente na digestibilidade da FDN e consequentemente da MS. O efeito de redução na digestibilidade da MS e FDN em níveis acima de 12 g/kg de MS da dieta pode estar ligado à ação dos TC na formação de complexos com a parede celular dos carboidratos, reduzindo a adesão dos microrganismos, ou por efeito direto sobre os microrganismos celulolíticos, impactando negativamente na degradação da fibra (Patra e Saxena, 2009).

O decréscimo no aproveitamento do alimento com níveis mais elevados corrobora com os resultados de Aguerre et al. (2016) que avaliaram a utilização de taninos condensados de Quebracho com a inclusão de até 18 g/kg da MS para vacas em lactação e obtiveram redução nas digestibilidades da MS, MO, PB e FDN.

A ausência de efeito na digestibilidade da PB e CNF podem ser um indicativo que a degradação ruminal destes nutrientes não sofreu grandes alterações com a inclusão de TC, uma vez que a síntese de proteína microbiana não foi alterada. Grainger et al. (2009) utilizaram TC de *Acacia mearnsii*, porém observaram redução na digestibilidade da PB em até 210 g/kg de

PB ingerida com a utilização de 19,1 g/kg de MS de TC na dieta de vacas lactantes. Essa diferença nos resultados com doses semelhantes pode ter ocorrido devido ao fornecimento na forma diluída (drench) aos animais que pode ter sido mais reativa em relação ao presente estudo em que foi fornecido misturado ao concentrado, além das diferentes dietas utilizadas.

Os TC podem formar complexos com proteínas e carboidratos (McSweeney et al., 2001) reduzindo o aporte de nutrientes para a síntese de proteína no rúmen, no entanto, no presente estudo, a síntese microbiana não foi alterada, indicando que não houve limitação na liberação de nutrientes. Além disso, os TC também podem complexar-se com a parede celular da membrana dos microrganismos e com as enzimas secretadas por estes (Smith et al., 2005; Bodas et al., 2012) o que pode reduzir a atividade bacteriana. Em contrapartida, alguns microrganismos ruminais podem apresentar maior tolerância aos taninos ou desenvolver mecanismos de adaptação a esses compostos (McSweeney et al., 2001; Smith et al., 2005) evitando redução na síntese microbiana.

Em relação aos parâmetros sanguíneos, as concentrações de glicose, NUS e triglicerídeos não foram alteradas com a inclusão de TC possivelmente em decorrência da ausência de efeitos na ingestão de alimentos e na digestibilidade da maioria dos nutrientes.

A AST, ALT e Gama GT são importantes enzimas catabólicas que possuem papel importante na função hepática dos animais (Mohamed, 2014), sendo que o aumento na atividade das mesmas está frequentemente ligado a distúrbios no funcionamento desse órgão (Stojevic et al., 2005). A inclusão de TC em até 20 g/kg de MS não interferiu na AST e Gama GT, mas aumentou as concentrações sanguíneas de ALT demonstrando um efeito sobre a atividade hepática dos animais, ao contrário, Dei e De (2014) avaliaram TC de folhas de *Ficus bengalensis* na dose de 15 g/kg da MS para vacas lactantes e não obtiveram diferenças nas concentrações de AST e ALT. Segundo Cozzi et al. (2011) valores de ALT na faixa de 25 a 46 UI/L podem ser considerados normais para vacas Holandês em fase média de lactação, no entanto, Du et al. (2017) consideraram valores de ALT de 35,8 UI/l como níveis indicadores de danos hepáticos para vacas em condição de cetose.

Além da complexação com proteínas, os taninos e outros polifenóis também podem se ligar a alguns minerais (Naumann et al., 2017), no entanto, as concentrações sanguíneas de cálcio, fósforo e magnésio não foram alteradas com a inclusão de TC. Naumann et al. (2017) destacaram que há uma grande variabilidade de efeitos da quelação entre taninos e minerais e como esse efeito pode reduzir a disponibilidade mineral. Waghorn et al. (1994) avaliaram a utilização de TC de *Lotus pedunculatus* (55 g/kg de MS) para ovelhas e relataram que TC

reduziram a absorção de enxofre e aumentaram a absorção líquida de fósforo e zinco, enquanto os efeitos sobre outros minerais (Fe, Cu, Ca, P e Mg) não foram alterados.

A produção leiteira e a eficiência da produção leiteira corrigida para energia (EPLCEn) não foram influenciadas pelos níveis de TC, no entanto, a produção de leite corrigida para energia reduziu linearmente em decorrência da redução na concentração de proteína do leite. Esperava-se que a inclusão de determinado nível de TC poderia aumentar o aporte proteico a nível intestinal, sem afetar a síntese microbiana e conseqüentemente aumentar a eficiência de produção, todavia, esse fato não ocorreu. Estudos que avaliaram a utilização de TC na dieta de vacas lactantes também não obtiveram efeitos sobre a produção leiteira (Benchaar et al., 2008; Dschaak et al., 2011; Aguerre et al., 2016), enquanto outros relataram redução nessa variável (Grainger et al., 2009; Griffiths et al., 2013).

No presente estudo, a concentração de gordura no leite não foi influenciada pelos níveis de TC, esse resultado corrobora com o obtido por outros autores que relataram que diferentes fontes de taninos não influenciaram a concentração de gordura do leite (Benchaar et al., 2008; Dschaak et al., 2011; Griffiths et al., 2013). Grainger et al. (2009) observaram uma redução nos teores de gordura do leite com a utilização de TC, com redução na energia digestível.

A ausência de efeito na síntese de proteína microbiana no rúmen e na digestibilidade aparente da PB, sugerem que o aporte proteico para o animal não tenha sido influenciado. Desse modo, a redução da proteína e da caseína láctea pode ter ocorrido pela maior demanda proteica do intestino e menor aporte desse nutriente para a glândula mamária. Os TC podem aumentar a perda endógena proteica devido a interação desses compostos com proteínas da mucosa do intestino, conseqüentemente esse efeito poderia resultar em uma utilização compensatória desse nutriente para a proteção do epitélio intestinal (McSweeney et al., 2001; Ahnert et al., 2015). Aprianita et al. (2014) utilizaram TC de *A. mearnsii* e obtiveram alterações no metabolismo de proteína e carboidratos o que resultou na redução na produção de proteína e caseína no leite.

Taninos são considerados antioxidantes naturais, pois têm a capacidade de combinar-se com radicais livres e retardar o processo de peroxidação (Rice-Evans et al., 1996), no entanto, a concentração de TBARS e o poder redutor observados neste estudo não foram influenciados pela inclusão de taninos. Luciano et al. (2011) relataram que a utilização de taninos de quebracho em 89 g/kg de MS, melhorou o status antioxidante do músculo de cordeiros, enquanto Liu et al. (2013) observaram redução nos teores de malondialdeído no leite de vacas alimentadas com taninos de castanha (*Castanea sativa*) na dose de 10 g/kg de MS. Os resultados obtidos no presente estudo em relação aos efeitos antioxidantes dos taninos podem estar associados ao tipo e à estrutura dos compostos utilizados, visto que estes apresentam ampla

variedade de estruturas químicas, produzindo diferentes propriedades biológicas (Waghorn, 2008).

A inclusão dos TC aumentou a concentração de dieno conjugados do leite, indicando uma maior peroxidação lipídica. Há relatos na literatura que taninos têm a capacidade de inibir o último passo da biohidrogenação ruminal (Vasta et al., 2009) e por esse motivo poderia aumentar o teor de ácidos graxos insaturados do leite (Buccioni et al., 2015). Um maior teor de ácidos graxos insaturados no leite torna esse produto mais suscetível a peroxidação lipídica (Timmons et al., 2001), visto que esse processo se caracteriza pela reação entre radicais peróxidos e lipídios, desencadeando a síntese de dienos conjugados (Fauteux et al., 2016).

3.5 Conclusão

A utilização de TC de Acácia negra (*A. mearnsii*) na dieta de vacas em lactação influenciou a digestibilidade da MS de forma quadrática com maiores valores no nível de 12,2 g/kg de inclusão, no entanto, impactou negativamente a produção de leite corrigida para energia e nos teores de caseína, necessitando de estudos com diferentes estratégias para evitar efeitos que reduzam o desempenho dos animais.

3.6 Referências

- AGUERRE, M.J.; CAPOZZOLO, M.C.; LENCIONI, P. et al. Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.6, p.4476-4486, 2016.
- AHNERT, S.; DICKHOEFER, U.; SCHULZ, F. et al. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. **Livestock Science**, v.177, p.63-70, 2015.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**.16. ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1025p.
- APRIANITA, A.; DONKOR, O.N.; MOATE, P.J. et al. Effects of dietary cottonseed oil and tannin supplements on protein and fatty acid composition of bovine milk, **Journal of Dairy Research**, v.81, p.183–192, 2014.
- ASSEFA, G.; SONDER, K.; WINK, M. et al. Effect of variety and harvesting management on the concentration of tannins and alkaloids in tagasaste (*Chamaecytisus palmensis*). **Animal Feed Science and Technology**. v.144, p.242-256, 2008.
- BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T.A.; CHOUINARD, P.Y. Digestion, Ruminal Fermentation, Ciliate Protozoal Populations, and Milk Production from Dairy Cows Fed Cinnamaldehyde, Quebracho Condensed Tannin, or Yucca schidigera Saponin Extracts. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.12, p.4765–4777, 2008.
- BODAS, R.; PRIETO, N.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R. et al. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, n.1-4, p.78-93, 2012.
- BUCCIONI, A.; SERRA, A.; MINIERI, S. et al. Milk production, composition, and milk fatty acid profile from grazing sheep fed diets supplemented with chestnut tannin extract and extruded linseed. **Small Ruminant Research**, v.130, p.200–207, 2015.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CHEN, X.B.; GOMES M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of the technical details. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK.(Occasional publication), 1992, 21p.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia 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.

- COZZI, G.; RAVAROTTO, L.; GOTTARDO, F. et al. Short communication: Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.8, p.3895–3901, 2011.
- DEY, A.; DE, P.S. Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.27, n.3, p.342–348, 2014.
- DIAS JUNIOR, G.S.; SILVEIRA, V.A.; ASCARI, I.J. et al. Replacement of raw soybean with roasted soybean increased milk production in Holstein cows. **Ciência Rural**, v.47, n.5, p. 1-7, 2017.
- DSCHAAK, C.M.; WILLIAMS, C.M.; HOLT, M.S. et al. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94,n.5, p.2508–2519, 2011.
- DU, X.; CHEN, L.; HUANG, D. et al. Elevated apoptosis in the liver of dairy cows with ketosis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v.43, p. 568-578, 2017.
- FAUTEUX, M.; GERVAIS, R.; RICO, D.E. et al. Production, composition, and oxidative stability of milk highly enriched in polyunsaturated fatty acids from dairy cows fed alfalfa protein concentrate or supplemental vitamin E. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.6, p.1-16, 2016.
- FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F.J. et al. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v.2, n.2,p.191–202, 2004.
- GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J. et al. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.89, n.2, p.241-251, 2009.
- GRIFFITHS, V.M.; CLARKA, C.E.F.; CLARK, D.A. et al. Supplementing lactating dairy cows fed high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. **Animal**, v.7, n.11, p.1789–1795, 2013.
- IDF - International Dairy Federation. IDF Standard n.141C.Whole milk - determination of milk fat, protein and lactosecontent. **Guidance on the operation of mid-infrared instruments**.International Dairy Federation, Brussels, 2000.
- JAYANEGARA, A.; GOEL, G.; MAKKAR, H.P.S. et al. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation andmicrobial population *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p.60-68, 2015.
- KIOKIAS, S.N.; DIMAKOU, C.P.; TSAPROUNI, I.V. et al. Effect of compositional factors against the thermal oxidative deterioration of novel food emulsions. **Food Biophysics**, v.1, p.115–123, 2006.

- 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.
- LIU, H.W.; ZHOU, D.W.; LI, K. Effects of chestnut tannins on performance and antioxidative status of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.9, p.5901–5907, 2013.
- LUCIANO, G.; VASTA, V.; MONAHAN, F.J. et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. **Food Chemistry**, v.124, n.3, p.1036–1042, 2011.
- MAGALHÃES, R.T.; GONÇALVES, L.C.; MAURÍCIO, R.M. et al. Avaliação de quatro genótipos de sorgo pela técnica “in vitro” semiautomática de produção de gases. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, p.101-111, 2006.
- MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.
- MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.
- 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.
- 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, p.3–19, 2003.
- MOHAMED, G.A.E. Investigation of some enzymes level in blood and milk serum in two stages of milk yield dairy cows at Assiut City. **Assiut Veterinary Medicine Journal**, v.60, n.142, p.110–120, 2014.
- MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2010–2037, 2006.
- NAUMANN, H.D.; TEDESCHI, L.O.; ZELLER, W.E. et al. Invited Review: The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, n.12, p.929-949, 2017.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.
- OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T.; NATARELLI, B. et al. Valor alimentício e aspectos econômicos de dietas com variação no teor de tanino e nível proteico em bovinos de corte. **Revista Ceres**, v.55, n.5, p.467-475, 2008.

- ORLANDI, T.; KOZLOSKI, G.V.; ALVES, T.P. et al. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Animal Feed Science and Technology**, v.210, p.37-45, 2015.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.96, n.4, p.363–375, 2009.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933–956, 1996.
- SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2980-2991, 1994.
- SMITH, A.H.; ZOETENDAL, E.; MACKIE, R.I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. **Microbial Ecology**, v.50, p.197-205, 2005.
- STOJEVIĆ, Z.; PIRŠLJIN, J.; MILINKOVIĆ-TUR, S. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski arhiv**, v.75, n.1, p.67-73, 2005.
- THEODOROU, M.K., WILLIAMS, B.A., DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed and Science Technology**, v.48, p.185-197, 1994.
- TIMMONS, J.S.; WEISS, W.P.; PALMQUIST, D.L. et al. Relationships Among Dietary Roasted Soybeans, Milk Components, and Spontaneous Oxidized Flavor of Milk, **Journal of Dairy Science**, v.84, n.11, 2001.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991.
- VASTA, V.; LUCIANO, G.; The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. **Small Ruminant Research**, v.101, p. 150-159, 2011.
- VASTA, V.; NUDDA, A.; CANNAS, A. et al. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, p.223-246, 2008.
- VASTA, V.; MAKKAR, H.P.S.; MELE, M. et al. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.102, p.82–92, 2009.
- VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v.72, n.12, p.1084–1087, 1970.

- WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production - Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, p.116-139, 2008.
- WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; MCNABB, W.C. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep.1. Non-nitrogenous aspects. **Journal of Agricultural Science**, v.123,p.99-107,1994.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: **Cornell 582 Nutrition Conference for Feed Manufacturers**, Ithaca, p. 176–185, 1999.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R.M.; ENSUNSA, J.L. et al. Antioxidative Activities of Oolong Tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.6929-6934, 2002.

4 EFEITO DE TANINOS CONDENSADOS DE ACÁCIA NEGRA (*Acacia mearnsii*) SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E PARÂMETROS DIGESTIVOS EM BOVINOS

Resumo:

Objetivou-se avaliar a inclusão de taninos condensados (TC) de Acácia negra (*Acacia mearnsii*) sobre a digestibilidade dos nutrientes, NNH_3 , população de protozoários e ácidos graxos voláteis ruminais de bovinos canulados. Utilizou-se cinco machos castrados da raça jersey, com cânula ruminal, os quais foram distribuídos em um delineamento experimental quadrado latino 5x5, com períodos de 20 dias (14 dias para a adaptação e seis dias para coletas). Os tratamentos foram níveis de inclusão de taninos condensados em 0; 5; 10; 15 e 20 g/kg da MS das dietas. Avaliou-se a ingestão de matéria seca, digestibilidade da MS e nutrientes, protozoários, e parâmetros da fermentação ruminal. As ingestões de MS, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos totais e nutrientes digestíveis totais não foram alterados pelos níveis de inclusão de taninos condensados. As digestibilidades da MS, matéria orgânica e fibra em detergente neutro não foram alteradas, no entanto, ocorreu uma redução linear na digestibilidade da proteína. Não ocorreu efeito sobre a população dos protozoários ruminais com o uso dos TC. O pH ruminal reduziu linearmente com os níveis de TC e também apresentou esse efeito em relação ao tempo após a alimentação. Os teores de NNH_3 ruminal não foram alterados pelos taninos condensados. A inclusão de TC nas dietas reduz as proporções de ácido acético e não influencia na população de protozoários ruminais, porém reduz a digestibilidade aparente da proteína bruta.

Palavras-chave: amônia, digestibilidade, protozoários, rúmen

EFFECTS OF CONDENSED TANNINS OF BLACK WATTLE (*Acacia mearnsii*) ON RUMINAL FERMENTATION AND DIGESTIVE PARAMETERS IN STEERS

Abstract

The objective was to evaluate the inclusion of condensed tannins (CT) of black wattle (*Acacia mearnsii*) on nutrient digestibility, ruminal NNH_3 , protozoa population and volatile fatty acids of cannulated jersey steers. Five cannulated steers were used in a 5x5 Latin square design, with periods of 20 days (14 days to adaptation and six for samplings). The treatments were composed by inclusion levels of condensed tannins at 0, 5, 10, 15 and 20 g/kg of dry matter. It was evaluated the dry matter intake, digestibility of dry matter and nutrients, ruminal protozoa and ruminal fermentation parameters. Intakes of dry matter, organic matter, ether extract, crude protein, neutral detergent fiber and total digestible nutrients were not altered using condensed tannins. Digestibility of dry matter, organic matter and neutral detergent fiber were not altered, however, there was a linear reduction in crude protein digestibility. Ruminal pH reduced linearly with tannin levels and presented this effect related to the time after feeding. Ruminal NNH_3 nitrogen levels were not influenced by tannins. The use of tannins reduced the molar proportions of acetic acid and did not influence the ruminal protozoal population, however, it reduces the apparent crude protein digestibility.

Keywords: ammoniacal nitrogen, digestibility, protozoa, rumen

4.1 Introdução

Taninos são metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino das plantas (Frutos et al., 2004). Esses compostos foram inicialmente considerados fatores anti-nutricionais, devido aos seus efeitos adversos na ingestão de alimentos e utilização de nutrientes pelos animais. Porém, recentemente os taninos têm sido reconhecidos como aditivos úteis para modular benéficamente a fermentação ruminal microbiana (Patra e Saxena, 2010).

Taninos condensados (TC) podem ligar-se às proteínas e em baixas concentrações podem protegê-las da degradação ruminal imediata e regular a taxa de liberação do nitrogênio no rúmen, aumentando o fluxo de aminoácidos essenciais ao intestino delgado (Makkar et al., 2007). Esses compostos também podem complexar-se com outros nutrientes como carboidratos e minerais (Ahnert et al., 2015; Naumann et al., 2017).

Taninos também podem modificar a fermentação ruminal com uma maior produção de propionato e menor de acetato (Beauchemin et al., 2007). No entanto, os parâmetros ruminais podem responder de diferentes formas às doses de taninos, além de que algumas espécies de microrganismos são mais tolerantes que outras (Smith et al., 2005).

Protozoários apresentam diferentes funções no metabolismo ruminal de nutrientes, sendo também predadores de bactérias, consistindo em um processo que leva a um desperdício de energia e reciclagem indesejável de nitrogênio no rúmen (Baah et al., 2007). Taninos condensados têm demonstrado reduzir a população de protozoários no rúmen (Patra e Saxena, 2009) sendo possível obter melhorias na eficiência da utilização dos nutrientes. No entanto, elevadas concentrações de TC podem ocasionar redução no consumo, na eficiência do processo digestivo e conseqüentemente perdas na produtividade animal (Oliveira e Berchieli, 2007). Segundo Waghorn, 2008 altas concentrações de taninos condensados podem ter efeitos prejudiciais na utilização dos nutrientes e produtividade dos animais, porém esses efeitos dependem do tipo de taninos e dietas utilizadas.

Desse modo, a hipótese é que em determinado nível, os taninos condensados de acácia podem reduzir os teores de amônia e melhorar os parâmetros de fermentação ruminal, assim como o aproveitamento dos nutrientes pelo animal. Objetivou-se com este estudo avaliar características da fermentação ruminal e digestibilidade em bovinos alimentados com níveis crescentes de TC de *Acacia mearnsii*.

4.2 Material e métodos

Produção de gases “in vitro”

A produção de gases *in vitro* foi realizada a partir da técnica descrita por Theodorou et al., (1994) e adaptada por Mauricio et al., (1999), onde 0,5g das amostras foram incubadas em frascos contendo solução tampão (100 mL) e líquido ruminal (25 mL) o qual foi coletado manualmente de bovinos canulados no rúmen e filtrado com gaze.

O líquido ruminal e solução foram previamente homogeneizados, subsequentemente foi inserido CO₂ nos frascos e após fechados e mantidos em banho metabólico a 39,5 °C. Ao final das 48 horas de incubação, o conteúdo dos frascos foi seco em estufa a 105 °C para a determinação da MS remanescente após a incubação. O volume de gás produzido acumulado foi corrigido para MS fermentada. As dietas utilizadas foram calculadas com as mesmas proporções do experimento com os bovinos (Tabela 2).

A produção cumulativa dos gases foi avaliada por meio de sistema computadorizado sem fio (ANKOM RF – Gas production system®). Os dados de pressão em psi, foram coletados a cada 10 minutos e posteriormente transformados em mL. Para ajustes de variação, frascos contendo apenas as soluções para incubação sem a amostra foram considerados brancos.

Para a estimativa da cinética dos parâmetros de fermentação ruminal, foi utilizado o modelo bicompartimental de Schofield et al. (1994):

$$y = A/\{1+\exp[2+4.B.(C-t)]\}+D/\{1+\exp[2+4.E.(C-t)]\}$$

sendo y = o volume de gás produzido no tempo t; A= o volume de gás (ml) produzido na fração rapidamente degradável; B=taxa de degradação (/h) da fração rapidamente degradável; C= lag time (h) para a colonização microbiana; D= volume de gás (ml) produzido da fração lentamente degradável (celulose, proteína verdadeira e hemicelulose); e E= taxa de degradação (/h) da fração lentamente degradável.

Delineamento experimental e dietas

O experimento foi realizado na fazenda experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná localizada a latitude 24°31'55.3 S", longitude 54°01'08.0 O" e 392 metros de altitude. O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unioeste - CEUA - Protocolo 54/16.

Foram utilizados cinco machos castrados da raça jersey, portadores de cânula ruminal com peso corporal médio de 752 ± 34 kg. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 5x5, sendo que cada período experimental teve a duração de 20 dias, sendo 14 dias para adaptação as dietas e 6 para coletas. Os tratamentos foram cinco níveis de inclusão do extrato de taninos: 0; 6,12; 12,25; 18,42 e 24,58 g/kg de MS da dieta.

O produto utilizado foi um extrato comercial de taninos condensados de *Acacia mearnsii* (Seta S/A, Estância Velha, RS, Brasil) na forma de pó, com concentração total de tanantes de 80,52% com base na MS, o qual foi misturado aos demais ingredientes do alimento concentrado (Tabela 1). Considerando a concentração de taninos totais do produto comercial, a proporção de TC incluído na dieta foi de 0; 5; 10; 15 e 20 g/kg da MS da dieta.

Tabela 1. Composição química (g/kg de matéria seca) dos ingredientes utilizados

Composição	Feno de Tifton 85	Milho moído	Farelo de soja
Matéria seca	850,72	907,22	889,79
Matéria orgânica	920,65	985,79	925,71
Extrato etéreo	16,73	19,97	12,01
Proteína bruta	113,57	82,65	479,44
Fibra em detergente neutro	739,86	113,47	195,86
Carboidratos não fibrosos (CNF)	110,84	782,19	302,51
NDT estimado ²	575,09	817,00	785,18

¹CNF = 100 – (PB + EE + MM + FDNcp)

² Estimado pela equação de Tibo et al. (2000): NDT (%) = 86,0834 - 0,3862 FDN.

Os bovinos foram alojados em instalações do tipo tie stall com cochos individuais e água à vontade. As dietas foram calculadas para garantir as exigências de manutenção dos animais de acordo com o NRC (2001) em uma relação volumoso:concentrado de 60:40 (Tabela 2). A oferta de alimento foi restringida em 22,3 Mcal/dia de energia metabolizável estimada de acordo com NRC (2001). As dietas foram ofertadas como dieta total duas vezes ao dia: às 06:30 e 16:30 horas, na proporção de 70% e 30% respectivamente. Os animais tinham acesso a um piquete de descanso sem pastagem das 11:00 às 14:00 horas e das 18:00 até o horário da alimentação do dia seguinte. No início e no final de cada período experimental, os animais foram pesados antes da alimentação da manhã para ajuste da oferta de alimento.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de MS

Ingredientes	Inclusão de taninos condensados g/kg de MS				
	0	5	10	15	20
Feno de Tifton 85	600,00	600,00	600,00	600,00	600,00
Milho moído	337,86	328,52	322,51	314,15	306,69
Farelo de soja	52,14	55,26	55,05	57,18	58,42
Mistura mineral ¹	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Taninos condensados ²	-	6,22	12,44	18,67	24,89
Composição química					
MS	868,26	866,48	868,77	868,84	873,59
MO	936,85	936,16	935,67	935,71	935,61
EE	19,31	17,92	19,91	20,85	20,39
PB	122,13	117,05	121,58	119,73	121,31
PDR estimado ⁴	88,81	85,47	88,826	87,59	88,82
PNDR estimado ⁴	33,04	31,57	32,75	32,14	32,49
FDN	490,93	486,31	488,16	487,33	487,38
FDNcp	447,30	444,30	444,51	443,48	444,03
CNF ³	348,35	358,19	349,92	351,89	350,12
NDT estimado ⁴	648,00	642,00	637,00	631,00	626,00

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidrato não fibroso.

¹Mistura mineral: Ca: 130 g/kg; P: 65 g/kg; Mg: 5 g/kg; Co: 60 mg/kg; Mn: 1000 mg/kg; Zn: 3000 mg/kg; Se: 10 mg/kg; I: 65 mg/kg; S: 12 g/kg; Fe: 1200 mg/kg; Cu: 1000 mg/kg; Na: 120 g/kg.

²Produto comercial com concentração de 805,2 g/kg de taninos condensados na matéria seca.

³CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDNcp)

⁴Valores estimados pelos modelos do NRC (2001).

Procedimentos de coletas e análises

Do 15° ao 20° dia do período experimental, a ingestão foi mensurada pela pesagem do alimento fornecido e das sobras. Amostras diárias dos alimentos e das sobras foram coletadas e estocadas para posteriores análises. Para a determinação das digestibilidades dos nutrientes, amostras de fezes foram realizadas da seguinte maneira: 15° dia do período experimental às 8:00 horas, 16° dia às 10:00 horas, 17° dia às 12:00 horas, 18° dia às 14:00 horas, 19° dia às 16:00 horas e no 20° dia às 18:00 horas.

As amostras de alimentos, fezes e sobras foram analisadas segundo a metodologia da AOAC (1990) para matéria seca (MS; método 934.01), cinzas (CZ; método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10), extrato etéreo (EE; método 920.85) e a determinação de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença entre cinzas e a MS total. Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados pela equação de Weiss et al. (1999).

Para estimar a excreção fecal diária, utilizou-se a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) como indicador interno. A FDAi foi determinada nas amostras de alimento, sobras e fezes, os quais foram incubados pelo método *in situ*, por 240 horas conforme descrito por Casali et al. (2008). O teor de nutrientes digestíveis totais das dietas foi calculado utilizando as digestibilidades dos nutrientes de acordo com o NRC (2001).

As coletas de líquido ruminal para análise de pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV) foram realizadas no 20º dia de cada período experimental nos horários: antes da alimentação (0 horas) e 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação. A coleta foi realizada das porções dorsal, ventral e central do rúmen sendo o líquido filtrado em tecido de algodão. Imediatamente após a coleta foi aferido o pH utilizando-se peagâmetro digital. Uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de ácido sulfúrico (1:1 v/v) e congelada (-20 °C) para posteriores análises de N-NH₃ seguindo-se a técnica de Ferner (1965) e adaptada por Vieira (1980). Para as análises dos ácidos graxos voláteis (AGV) ruminais (acético, propiônico e butírico) 8 ml de líquido ruminal foram acidificados com 2 ml de ácido metafosfórico 25%. Para a realização das análises utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência segundo a metodologia de Lazaro (2009).

Para a análise de protozoários, o líquido ruminal foi coletado às 4 horas após a alimentação. Sub-amostras de conteúdo ruminal das porções dorsal, ventral e central do rúmen foram coletadas, misturadas e espremidas manualmente para obtenção do líquido ruminal sem filtração. Uma alíquota de 40 mL de líquido ruminal foi misturada em igual proporção de formaldeído para a identificação e quantificação de ciliados, posteriormente 1 mL da amostra foi transferida para tubos de ensaio e acrescentou-se três gotas de lugol, em modificação proposta por D'agosto e Carneiro (1999). Após 15 minutos adicionou-se 9 mL de glicerina a 30%. Para a quantificação, pipetou-se uma amostra em cada tubo de ensaio para preencher a câmara de Sedgewick-Rafter. Utilizou-se uma grade de contagem em uma das oculares e quantificou-se os ciliados presentes em 50 campos, após a rotação da câmara em 180°, foram quantificados mais 50 pontos. Para calcular o número total de ciliados por mL de conteúdo, multiplicou-se os valores obtidos por 80 e por 20. Estes valores correspondem à superfície total

da câmara, contagem e à diluição (Dehority,1984). Os protozoários presentes em cada amostra foram identificados baseados no critério descrito por Ogimoto e Imai (1981).

Análises estatísticas

Para a análise estatística, os dados foram testados para a normalidade, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk. Para a produção de gases *in vitro*, realizou-se um delineamento de blocos ao acaso (incubações), sendo realizados três blocos com duas repetições para cada tratamento (níveis de inclusão de TC) em cada bloco. O modelo experimental utilizado para a produção de gases *in vitro* foi:

$$\gamma_{ij} = \mu + T_i + b_j + e_{ij}$$

Sendo Y_{ij} = variável dependente; μ = média; T_i = efeito fixo do tratamento ($i= 1$ a 5); b_j = efeito aleatório de bloco (1 a 3); e e_{ij} = erro residual.

Os dados de consumo, digestibilidade e protozoários foram analisados utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (Statistical Analysis System, versão 9,2). O modelo matemático utilizado no experimento com os bovinos fistulados foi:

$$\gamma_{ijk} = \mu + D_i + p_j + a_k + \varepsilon_{ijk}$$

em que, γ_{ijk} = observação, μ =população média, D_i = efeito fixo da dieta ($i= 1$ a 5), p_j =efeito aleatório de período ($j=1$ a 5), a_k =efeito aleatório de animal ($k= 1$ a 5) e ε_{ijk} = erro residual.

Para a avaliação de N-NH₃ e pH realizou-se análise de medidas repetidas no tempo, onde foram incluídos no modelo o efeito fixo de tempo e sua interação com o tratamento de acordo com o modelo:

$$\gamma_{ijkl} = \mu + D_i + p_j + a_k + T_l + DT_{il} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que, γ_{ijkl} =observação, μ =população média, D_i = efeito da dieta ($i= 1$ a 5), p_j =efeito de período ($j=1$ a 5); a_k =efeito de animal ($k= 1$ a 5); T_l = efeito fixo de tempo ($l=1$ a 5); DT_{il} = interação tempo e dieta e ε_{ijkl} = erro residual. Os efeitos da inclusão de taninos condensados e dos tempos foram avaliados por polinômios ortogonais, testando os modelos lineares e quadráticos. Quando significativo para os efeitos lineares e quadráticos, as equações foram geradas utilizando o procedimento PROC REG do SAS, para a variável NNH₃ em relação ao tempo, avaliou-se o efeito cúbico. A significância foi declarada a $P \leq 0,05$.

4.3 Resultados

Na produção de gases “*in vitro*” (Tabela 3), ocorreu uma tendência de redução linear ($p=0,07$) no tempo de colonização microbiana (C) com os níveis crescentes de TC.

A inclusão de taninos condensados (TC) de *A. mearnsii* na alimentação dos bovinos não influenciou nas ingestões de MS, MO, EE, PB, FDN, CNF e NDT ($P>0,10$) (Tabela 4).

Tabela 3. Parâmetros da produção de gases “*in vitro*” (mL por 100 mg MS⁻¹ degradada) em dietas para bovinos em manutenção com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Parâmetros ¹	Inclusão de TC (g/kg de MS)					EP	Valor de P		
	0	5	10	15	20		Trat	L	Q
A	11,02	11,04	12,16	12,32	15,42	1,547	0,423	-	-
B	0,15	0,15	0,11	0,13	0,09	0,014	0,152	-	-
C	5,92	6,21	4,88	5,24	3,35	0,602	0,070	0,010	-
D	10,65	10,09	9,23	8,72	7,45	1,212	0,182	-	-
E	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,002	0,067	0,010	-
AD	21,67	21,14	21,39	21,04	22,87	1,594	0,927	-	-

¹ Parâmetros da cinética da degradação ruminal segundo modelo bicompartimental de Schofield et al. (1994) em que A=volume de gás produzido na fração de rápida degradação, B=taxa de degradação da fração A; C= Lag time; D= volume de gás da fração lentamente degradável; E: taxa de degradação da fração D; AD: produção total de gases em 48 horas de incubação; Trat: efeito de tratamento; L: linear; Q: quadrático; EP: erro padrão da média.

As digestibilidades da MS, MO, FDN, EE e CNF não foram influenciadas pelos níveis de taninos condensados ($p>0,10$) (Tabela 5), no entanto, ocorreu uma redução linear na digestibilidade da PB ($P=0,03$) à medida que se incluiu os TC na dieta dos animais. Não ocorreu efeito sobre os NDT ($P>0,10$).

Tabela 4. Ingestão de matéria seca e nutrientes de bovinos recebendo dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de TC (g/kg de MS)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
IMS (kg/d)	8,90	8,25	9,00	8,42	8,75	0,324	0,168	-	-
IMS (g/kg PC)	11,82	10,94	12,03	11,07	11,54	0,447	0,128	-	-
IMO (kg/d)	8,34	7,73	8,42	7,88	8,19	0,301	0,170	-	-
IPB (kg/d)	1,07	1,01	1,10	1,04	1,07	0,040	0,247	-	-
IEE (kg/d)	0,17	0,15	0,18	0,18	0,18	0,011	0,097	0,084	-
IFDN (kg/d)	4,36	3,96	4,38	4,06	4,29	0,184	0,150	-	-
IFDN (g/kg PC)	5,79	5,25	5,86	5,34	5,65	0,249	0,114	-	-
ICNF (kg/d)	3,10	2,97	3,15	2,94	3,04	0,141	0,565	-	-
INDT (kg/d)	6,92	6,42	6,93	6,59	6,86	0,293	0,195	-	-

IMS: Ingestão de Matéria Seca; IMO: Ingestão de Matéria Orgânica; IPB: Ingestão de Proteína Bruta; IEE: Ingestão de Extrato Etéreo; IFDN: Ingestão de Fibra em Detergente Neutro; ICNF: Ingestão de carboidratos não fibrosos; INDT: Ingestão de nutrientes digestíveis totais; EP: Erro Padrão da média; Trat: Efeito de tratamento; L: Linear; Q: quadrático.

Tabela 5. Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes (g/kg) de bovinos recebendo dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de TC (g/kg de MS)						Valor de P		
	0	5	10	15	20	EP	Trat	L	Q
DMS	674,1	682,9	656,1	690,5	681,9	13,015	0,155	-	-
DMO	731,4	739,6	706,3	742,6	727,2	11,864	0,067	-	-
DPB ¹	704,1	689,7	661,6	680,7	640,4	17,007	0,025	0,004	-
DEE	695,9	673,9	723,2	760,2	729,4	30,023	0,106	-	-
DFDN	586,6	579,9	559,6	591,5	577,9	17,789	0,475	-	-
DCNF	858,0	861,4	842,6	855,0	870,9	9,640	0,136	-	-
NDT	794,0	783,4	780,2	800,4	793,7	9,792	0,281	-	-

DMS: Digestibilidade da matéria seca; DMO: Digestibilidade da matéria orgânica; DPB: Digestibilidade da proteína bruta; DEE: Digestibilidade do extrato etéreo; DFDN: Digestibilidade da fibra em detergente neutro; DCNF: Digestibilidade dos carboidratos não fibrosos; NDT: Nutrientes digestíveis totais; EP: Erro Padrão; TC: Taninos condensados; L: Linear; Q: quadrático. ¹Y = 699,086 - 27,284x; Trat: efeito de tratamento; L: linear; Q: quadrático; EP: erro padrão da média.

Em relação aos protozoários ciliados (Tabela 6), não ocorreu efeito ($p > 0,10$) sobre os gêneros avaliados (*Entodinium*, *Dasytricha*, *Isotricha*, *Charonina*, *Eremoplast* e *Metadinium*) desta forma, número total de protozoários não foi alterado ($P > 0,10$).

Tabela 6. Protozoários ciliados no conteúdo ruminal ($n \times 10^6/\text{mL}$ de conteúdo ruminal) em bovinos recebendo dietas com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de TC (g/kg de MS)					EP	Valor de P		
	0	5	10	15	20		Trat	L	Q
<i>Entodinium</i>	1,21	1,03	1,10	1,08	0,86	0,120	0,125	-	-
<i>Dasytricha</i>	0,04	0,02	0,05	0,04	0,02	0,012	0,150	-	-
<i>Isotricha</i>	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,006	0,098	-	-
<i>Charonina</i>	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,007	0,434	-	-
<i>Eremoplast</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,005	0,783	-	-
<i>Metadinium</i>	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,004	0,844	-	-
Total	1,31	1,11	1,20	1,18	0,93	0,005	0,783	-	-

EP: Erro Padrão; TC: Taninos condensados; L: Linear; Q: quadrático.

Os valores de pH ruminal reduziram linearmente com a inclusão dos TC ($P < 0,01$), mas não houve efeito sobre a concentração de N-NH₃ ruminal ($P > 0,10$) (Tabela 7). Em relação aos tempos após a alimentação, o pH ruminal apresentou redução linear (Figura 1A; $P < 0,01$) e não ocorreu interação TC e tempo após alimentação ($P > 0,10$). Para os teores de N-NH₃, ocorreu efeito cúbico (Figura 1B), em relação ao tempo após a alimentação ($P < 0,01$).

Em relação aos ácidos graxos voláteis (AGV) (Tabela 7), ocorreu tendência de aumento nos teores de AGV totais (mM) e redução na proporção de ácido acético (% de AGV total) ($P < 0,05$) com os níveis crescentes de TC. A proporção de ácido propiônico (%) não foi alterada ($P > 0,10$) assim como a relação acético:propionico também não foi influenciada pela inclusão de TC ($P > 0,10$). Os teores de ácido butírico (% do total) apresentaram efeito quadrático ($P < 0,05$) com os níveis de TC.

Na avaliação dos AGV em função do tempo, a concentração dos ácidos acético, propiônico, butírico e concentração total de AGV (mM) apresentaram efeito quadrático ($P < 0,05$) nos tempos de coleta com pontos de máxima as 4,33, 4,28, 5,46 e 4,42 horas após a alimentação, respectivamente. A relação acetato:propionato não foi influenciada nos tempos avaliados ($P > 0,10$). Não ocorreu interação entre tempo e tratamento para esses parâmetros.

Tabela 7. Valores de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) ruminal em bovinos alimentados com níveis crescentes de taninos condensados de *Acacia mearnsii*

Variáveis	Inclusão de TC (g/kg de MS)					EP ¹	Valor de P		
	0	5	10	15	20		Trat	L	Q
pH ²	6,75	6,73	6,67	6,59	6,57	0,040	<0,01	<0,01	-
N-NH (mg/dL)	11,08	12,15	11,11	11,30	11,35	1,021	0,856	-	-
AGV Total (mM) ³	121,24	124,10	122,12	128,79	133,44	5,110	0,090	0,011	-
Acético (%) ⁴	56,06	56,30	56,38	54,01	53,57	1,077	0,024	<0,01	-
Propiônico (%)	24,93	26,58	26,15	26,86	26,74	0,912	0,172	-	-
Butírico (%) ⁵	19,01	17,12	17,47	19,13	19,69	1,283	0,011	0,070	<0,01
Ac:prop	2,31	2,17	2,13	2,04	2,06	0,095	0,167	-	-

¹EP: Erro padrão da média; Trat: efeito de tratamento; L: Linear; Q: quadrático; ² $\hat{Y} = 6,76264 - 0,01011x$; ³AGV Total (mM): soma dos ácidos acético, propiônico e butírico: ³ $\hat{Y} = 120,5416 + 0,5549x$; ⁴ $\hat{Y} = 56,6789 - 0,1463x$; ⁵ $\hat{Y} = 18,7080 - 0,3164x + 0,0192x^2$

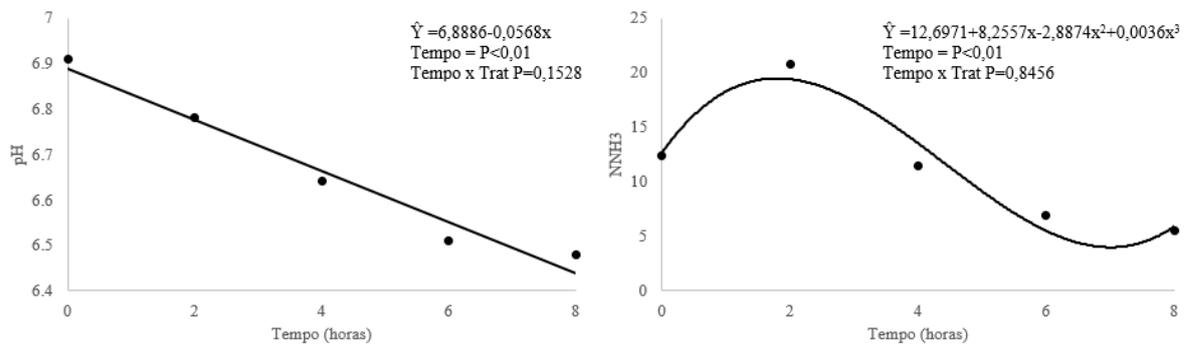


Figura 1- Valores de pH (A) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃; B) ruminal em bovinos alimentados com taninos condensados (TC), em função do tempo após a alimentação

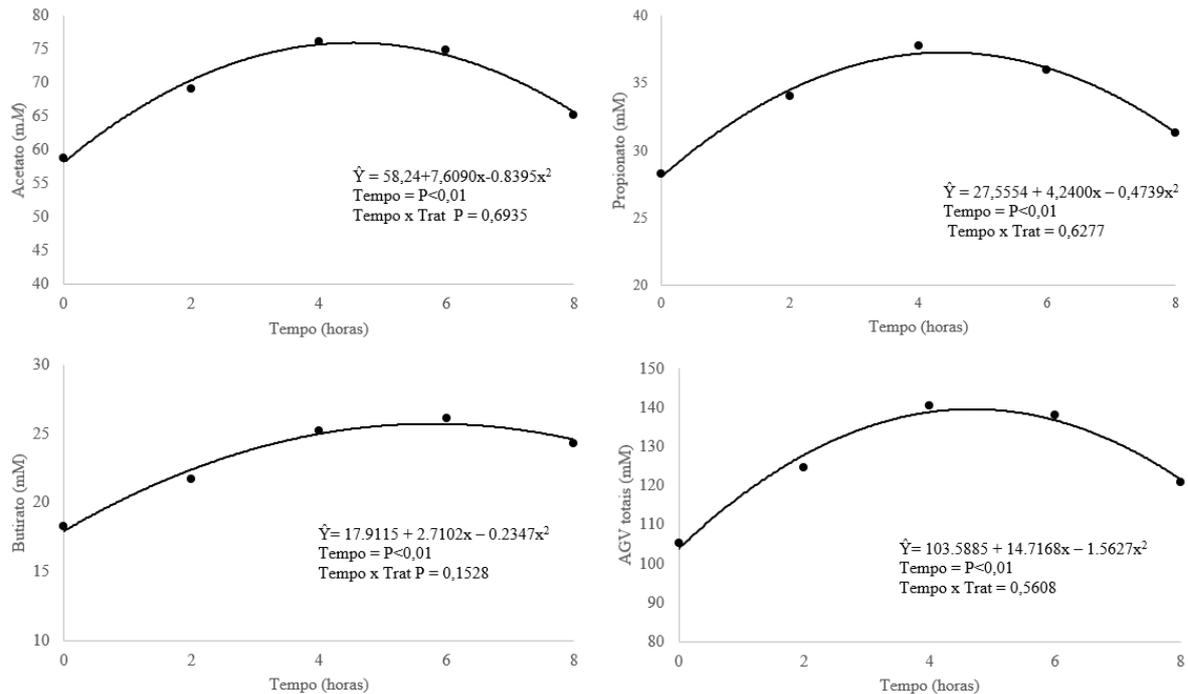


Figura 2. Concentração de ácidos graxos voláteis ruminais em bovinos alimentados com taninos condensados (TC) de *Acacia mearnsii*, em função do tempo após a alimentação.

4.4 Discussão

No ensaio com a produção de gases *in vitro*, não ocorreu influência dos TC sobre a produção total de gases (AD), ocorrendo tendência de redução sobre os parâmetros C (lag time) e na taxa de degradação da fração lenta (E), esses resultados corroboram com os obtidos por Castro-Montoya et al. (2011), que avaliaram dietas com diferentes fontes de taninos (*Schinopsis balansae* e *Mimosa tenuiflora*) em um sistema de fermentação ruminal *in vitro*, nas dosagens de 0; 0,5; 0,75 e 1,0 mg de TC/ml de fluido incubado e não obtiveram efeito na produção total de gases em 24 horas de incubação. O nível máximo utilizado pelos autores para os dois tipos de taninos foi superior ao utilizado no presente estudo que apresentou 0; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,08 mg de TC/ml de solução incubada.

Os taninos condensados normalmente estão relacionados à redução na ingestão de MS dependendo do nível e fonte utilizados, esse efeito ocorre devido à redução na palatabilidade e decréscimo na taxa de digestão (Mueller-Harvey, 2006; Waghorn, 2008; Grainger et al., 2009). No entanto, no presente estudo não ocorreu redução ingestão de MS independentemente do nível utilizado, da mesma forma as ingestões de MO, EE, PB, FDN, CNF e NDT mantiveram-se com os níveis de TC. Resultados semelhantes foram obtidos por Mezzomo et al. (2011) e

Baah et al. (2007) que avaliaram TC de quebracho na dose de 4 g/kg e 6 g/kg, respectivamente, e não observaram redução na ingestão de MS para novilhos.

A ausência de efeitos dos TC sobre a digestibilidade da MS e MO pode ser em função dos níveis utilizados que podem não ter ocasionado grandes alterações na população de microrganismos a nível ruminal e, desta forma, não reduziu degradação dos alimentos, além de que a ingestão também não foi influenciada, e possivelmente, não ocorreu efeito de taxa de passagem no trato gastrointestinal. Koslozki et al. (2012) avaliaram taninos de *A. mearnsii* nos níveis de 20, 40 e 60 g/kg de MS em carneiros, e observaram redução nas digestibilidades da MS, MO, FDN e PB. Ahnert et al. (2015) avaliaram a infusão de taninos condensados de quebracho para novilhos fistulados em níveis de 10, 20, 40 e 60 g/kg da MS e observaram uma redução nas digestibilidades da MS, MO, FDN e FDA apenas nas dosagens maiores que 4%, enquanto digestibilidade da proteína bruta foi reduzida mesmo na menor dosagem.

A digestibilidade da PB reduziu linearmente com os níveis de TC, isto pode ter ocorrido devido ao efeito de ligação desses compostos com este nutriente (Min et al., 2003), além disso, é possível que não haja dissociação de parte destes complexos taninos-proteínas no abomaso (Waghorn, 2008), ou que taninos livres chegados ao duodeno poderiam inativar enzimas intestinais ou religar-se a proteínas (McNabb et al., 1998), desta forma, ocasionar a redução na digestibilidade das proteínas. Resultados semelhantes foram obtidos por Aguerre et al. (2016), com redução linear na digestibilidade da PB com níveis de até 18 g/kg de TC na MS em dietas para vacas em lactação, porém, os autores também obtiveram redução na digestibilidade aparente da MS, MO e FDN.

Em relação à população de protozoários ruminais, o gênero predominante foi o *Entodinium*, perfazendo cerca de 92% dos protozoários totais, corroborando com o obtido em outros estudos com bovinos (Baah et al., 2007; Rispoli et al., 2009). No entanto, não ocorreu efeito dos TC sobre nenhum dos gêneros avaliados (*Entodinium*, *Dasytricha*, *Isotricha*, *Charonina*, *Eremoplast* e *Metadinium*), conseqüentemente, a população total de protozoários também não foi alterada. Desta forma, a hipótese de redução na população de protozoários com o uso de TC não foi confirmada, essa ausência de efeito pode ser influenciada pelo tipo e dose dos taninos e também pela adaptação desses microrganismos aos TC (Baah et al., 2007).

Os resultados com o uso de TC sobre a população de protozoários são conflitantes, Bhatta et al. (2009) avaliaram uma mistura de taninos hidrolisáveis e condensados e obtiveram uma redução na população total de protozoários, enquanto Benchaar et al. (2008) avaliaram a utilização de taninos de quebracho em 6,4 g/kg da MS e não obtiveram efeito no número e distribuição genérica dos protozoários ciliados ruminais. A redução na população total de

protozoários é um efeito desejável uma vez que estes microrganismos estão relacionados a um aumento indesejável na reciclagem de nitrogênio e um desperdício de energia, devido principalmente à predação de bactérias (Baah et al., 2007). Outro efeito indesejável relacionado aos protozoários é devido à associação com metanógenos ruminais (Anantasook et al., 2015) que usam o H₂ livre e CO₂ como substrato para o seu desenvolvimento, gerando metano (CH₄) e representando um desperdício energético para os ruminantes (Bhatta et al., 2009).

Os teores de N-NH₃ ruminal não foram influenciados pelos níveis de TC, demonstrando que não ocorreu efeito de redução na degradação da proteína, esses resultados contrariam os obtidos por outros estudos (Dschaak et al., 2011; Orlandi et al., 2015; Aguerre et al., 2016), os quais relacionaram redução do NNH₃ a uma menor degradação da proteína, devido à formação de complexos taninos-proteínas no rúmen. Mezzomo et al. (2011) avaliaram dietas com altos teores de concentrado com o uso de 0,4% de TC de quebracho e não obtiveram diferenças nos teores de amônia ruminal, que também pode ser devido aos níveis mais baixos comparados aos utilizados nos estudos citados anteriormente.

No presente estudo, a falta de efeitos sobre o N-NH₃ e nos protozoários ruminais indica que possivelmente ocorreram maiores efeitos sobre o metabolismo das proteínas após a passagem pelo rúmen, uma vez que ocorreu redução da digestibilidade aparente da proteína bruta. Segundo Kozloski et al. (2012) a maneira pela qual os taninos condensados reduzem a digestibilidade não é clara, mas que normalmente está relacionada à redução na degradação da proteína no rúmen, concentração de amônia e crescimento bacteriano. Os teores de N-NH₃ foram alterados em função do tempo, com valores máximos aproximadamente de 2 horas após a alimentação, corroborando com os resultados obtidos por Dickhoefer et al. (2016) que avaliaram taninos de quebracho e obtiveram os menores valores de N-NH₃ a partir de 4 horas até 8 horas após a alimentação.

Com relação ao pH ruminal, constatou-se uma redução linear no tempo após a alimentação e também com os níveis de inclusão de TC. A redução linear do pH ruminal com os níveis de inclusão de TC pode ter ocorrido devido ao baixo pH do próprio ingrediente (4,9), no entanto, mesmo com essa redução, os valores de pH ruminal, independentemente do nível de TC utilizado, estão na faixa entre 6 a 7 considerados adequados para manter a população fibrolítica e sem ocorrência de acidose por Abdela (2016). Dickhoefer et al. (2016) observaram redução no pH ruminal com doses crescentes de taninos, os quais relacionaram esse efeito aos menores valores de pH dos taninos e também à maior concentração de AGV com as maiores dosagens desse composto.

A tendência em aumento linear nas concentrações de AGV totais (mM) com os níveis de inclusão dos TC é contrária ao efeito obtido em alguns estudos de redução na taxa de degradação de carboidratos (Ahnert et al., 2015). Resultados semelhantes aos do presente estudo foram obtidos por Dickhoefer et al. (2016). Os autores relacionaram o efeito de aumento na concentração de AGV totais à redução na ingestão de água nos tratamentos com a inclusão de TC, ao invés de um efeito sobre a degradação de carboidratos, o que também pode ter ocorrido no presente estudo.

A redução nos teores de ácido acético pode estar relacionada ao efeito dos TC sobre a degradação ruminal da fração fibrosa. Segundo McSweeney et al. (2001) bactérias celulolíticas são mais sensíveis a maiores concentrações de TC comparados a outros microrganismos, além de que estes compostos formam complexos com carboidratos da parede celular das plantas (McSweeney et al., 2001) e também pode ocorrer inibição direta dos TC sobre esses microrganismos (Castro-Montoya et al., 2011).

O aumento nas proporções de propionato ruminal devido ao uso de TC é desejável devido a possibilidade da via de formação do propionato ser competitiva com a produção de CH₄ (Cieslak et al., 2012) com possíveis melhorias no desempenho animal e redução no impacto ambiental da atividade (Carulla et al., 2005; Bhatta et al., 2009). No entanto, no presente estudo não ocorreram alterações nas proporções de propionato ruminal. Os efeitos da suplementação com extratos de TC sobre a concentração de AGV total e nas proporções dos AGV tem sido variável entre estudos dependendo da dose e fonte de TC (Krueger et al., 2010; Dschaak et al., 2011).

4.5 Conclusão

A utilização de taninos condensados de Acácia negra (*A. Mearnsii*) em níveis de até 20 g/kg reduz as proporções de acetato, não influencia na população de protozoários ruminais e reduz a digestibilidade aparente da PB, necessitando mais estudos com diferentes estratégias alimentares a fim de obter melhorias nas características de fermentação ruminal e digestibilidade dos animais.

4.6 Referências

- ABDELA, N. Sub-acute ruminal Acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: A review of past and recent research at global perspective. **Achievements in the life sciences**, n. 10, 187-196, 2016.
- AGUERRE, M.J.; CAPOZZOLO, M.C.; LENCIONI, P. et al. Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p.4476–4486, 2016.
- AHNERT, S.; DICKHOEFER, U.; SCHULZ, F. et al. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. **Livestock Science**, v.177, p.63-70, 2015.
- ANANTASOOK, N.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. et al. Effect of tannins and saponins in *Samanea saman* on rumen environment, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 2, p. 335–344, 2015.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**.16. ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1025p.
- BAAH, J.; IVAN, M.; HRISTOV, A.N. et al. Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 1–2, p.126–137, 2007.
- BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; MARTINEZ, T.F. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.8, p.1990-1996, 2007.
- BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T.A.; CHOUINARD, P.Y. Digestion, Ruminal Fermentation, Ciliate Protozoal Populations, and Milk Production from Dairy Cows Fed Cinnamaldehyde, Quebracho Condensed Tannin, or Yucca schidigera Saponin Extracts. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.12, p.4765–4777, 2008.
- BHATTA, R.; UYENO, Y.; TAJIMA, K. et al. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.11, p.5512–5522, 2009.
- CARULLA, J.E; KREUZER, M.; MACHMÜELLER, A. et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.56, p.961-970, 2005.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CASTRO-MONTOYA, J.M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in

- vitro rumen fermentation system. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p. 433 - 448, 2011.
- CIESLAK, A.; ZMORA, P.; PERS-KAMCZYC, E. et al. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, n.1–4, p.102–106, 2012.
- D'AGOSTO, M., CARNEIRO, M.E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira Zoologia**, n.16, p.725–729, 1999.
- DEHORITY, B.A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied Environmental Microbiology**, n.48, p.182–185, 1984.
- DICKHOEFER, U.; AHNERT, S.; SUSENBETH, A. Effects of quebracho tannin extract on rumen fermentation and yield and composition of microbial mass in heifers. **Journal of Animal Science**, v.94, n.4, p.1561–1575, 2016.
- DSCHAAK, C.M.; WILLIAMS, C.M.; HOLT, M.S. et al. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.5, p.2508–2519, 2011.
- FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F.J. et al. Review. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2, n.2, p.191–202, 2004.
- GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J. et al. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.89, n.2, p.241–251, 2009.
- KOZLOSKI, G.V.; HÄRTER, C.J.; HENTZ, F. et al. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, v.106, n.2–3, p.125–130, 2012.
- KRUEGER, W.K.; GUTIERREZ-BAÑUELOS, H.; CARSTENS, G.E. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass trait in steers fed a high-grain diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, p. 1-9, 2010.
- LAZARO, C.Z. **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio de bactérias fototrópicas púrpuras não-sulfurosas consumidoras de ácidos orgânicos visando a produção de hidrogênio em reator anaeróbico de batelada**. 127 f. Dissertação (Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo. São Carlos, São Paulo, 2009.
- MAKKAR, H.P.S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. **Animal**, v.1, n.9, p.1371–1391, 2007.
- MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321–330, 1999.

- MCNABB, W.C.; PETERS, J.S.; FOO, L.Y. et al. Effect of Condensed Tannins Prepared from Several Forages on the In Vitro Precipitation of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase (Rubisco) Protein and its Digestion by Trypsin (EC 2.4.21.4) and Chymotrypsin (EC 2.4.21.1). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, p.201-212, 1998.
- 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.
- MEZZOMO, R.; PAULINO, P.V.R.; DETMANN, E. et al. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. **Livestock Science**, v.141, n.1, p.1-11, 2011.
- 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, p.3-19, 2003.
- MUELLER-HARVEY, I. Review Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2010-2037, 2006.
- NAUMANN, H.D.; TEDESCHI, L.O.; ZELLER, W.E. et al. Invited Review: The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, n.12, p.929-949, 2017.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.
- OGIMOTO, K., IMAI, S. **Atlas of rumen microbiology**. Tokyo, Japan Scientific Societies Press, 1981. 231p.
- OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.1, p.1-9, 2007.
- ORLANDI, T.; KOZLOSKI, G.V.; ALVES, T.P. et al. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Animal Feed Science and Technology**, v.210, p.37-45, 2015.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.96, n.4, p.363-375, 2009.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. Phytochemistry A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v.71, n.11-12, p.1198-1222, 2010.
- RÍSPOLI, T.B.; RODRIGUES, I.L.; MARTINS NETO, R.G. et al. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.1, p.92-97, 2009.

- SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2980-2991, 1994.
- SMITH, A.H.; ZOETENDAL, E.; MACKIE, R.I. Bacterial Mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. **Microbial Ecology**, v.50, p.197–205, 2005.
- TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore: 1. Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.910-920, 2000.
- THEODOROU, M.K., WILLIAMS, B.A., DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed and Science Technology**. V.48, p.185-197, 1994.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG, 1980, 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production - Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, p.116-139, 2008.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: **Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers**. Ithaca, p. 176–185, 1999.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de taninos em até 20 g/kg nas dietas experimentais testadas não apresentou grandes alterações nos parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana, sugerindo-se que podem ter ocorrido mecanismos de adaptação dos microrganismos a esse aditivo.

A inclusão de taninos condensados na alimentação de vacas lactantes, nos níveis e condições utilizadas, não proporcionou ganhos em produtividade ou qualidade do produto, sendo um custo adicional para a produção leiteira.

Em alguns parâmetros como as digestibilidades da MS, MO e PB ocorreu efeito quadrático ou tendência de efeito quadrático próximo ao nível de 12 g/kg de inclusão de TC nas dietas, sendo um indicativo que nestes níveis a utilização desse tipo de taninos pode ser avaliada com outras estratégias alimentares para futuros estudos.

A ausência de efeito dos TC sobre a amônia ruminal associada à redução na digestibilidade da PB dos bovinos fistulados, assim como a redução nos teores de caseína do leite, sugerem um efeito adverso sobre a proteína pela redução da sua disponibilidade a nível intestinal.