

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

**MARIANA BARBIZAN**

**ENZIMA ALFA AMILASE EXÓGENA E BIOCOLINA PARA BOVINOS**

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

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

**MARIANA BARBIZAN**

**ENZIMA ALFA AMILASE EXÓGENA E BIOCOLINA PARA BOVINOS**

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 Doutora em Zootecnia.

Orientador: Ériton Egidio Lisboa Valente

Coorientadora: Maximiliane Alavarse Zambom

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

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

Barbizan, Mariana

Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos / Mariana Barbizan; orientador Ériton Egidio Lisboa Valente; coorientadora Maximiliane Alavarse Zambom. -- Marechal Cândido Rondon, 2023.

67 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2023.

1. Nutrição de ruminantes. 2. Aditivos alternativos. 3. Bovinocultura de corte. I. Valente, Ériton Egidio Lisboa, orient. II. Zambom, Maximiliane Alavarse, coorient. III. Título.

## **MARIANA BARBIZAN**

### **Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos**

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

Orientador / Presidente – Prof. Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana Teixeira Carvalho  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. Luciano Soares de Lima  
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Membro – Prof. Dr. Sidnei Antonio Lopes  
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Livia Vieira de Barros  
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Heloisa Avelino Cabral  
Universidade Federal de Rondonópolis (UFR)

Marechal Cândido Rondon, 29 de maio de 2023.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à **distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **"Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

**Prof. Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente** - ORIENTADOR / PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / Campus de Mal. Cândido Rondon  
Centro de Ciências Agrárias

*Modelo 2 - Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana Teixeira Carvalho**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **"Efeito da utilização de aditivos alimentares na dieta de ruminantes"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

*Silvana Teixeira Carvalho*

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana Teixeira Carvalho**  
Unioeste / Campus de Mal. Cândido Rondon  
Centro de Ciências Agrárias



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Luciano Soares de Lima**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **“Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

**Prof. Dr. Luciano Soares de Lima**  
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)  
Departamento de Zootecnia



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.




## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Sidnei Antonio Lopes**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **"Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

 Documento assinado digitalmente  
SIDNEI ANTONIO LOPES  
Data: 07/06/2023 17:09:13-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

**Prof. Dr. Sidnei Antonio Lopes**  
Universidade Federal de Viçosa (UFV)  
Departamento de Zootecnia

*Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*





**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Livia Vieira de Barros**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **"Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

*Livia Vieira de Barros*

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Livia Vieira de Barros**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Instituto de Ciências Agrárias



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Heloisa Avelino Cabral**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese da candidata **Mariana Barbizan**, aluna de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 29/05/2023, com o trabalho intitulado **“Enzima alfa amilase exógena e biocolina para bovinos”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** CARLA HELOISA AVELINO CABRAL  
Data: 30/05/2023 08:52:51-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Heloisa Avelino Cabral**  
Universidade Federal de Rondonópolis (UFR)  
Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas

*Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*

À minha mãe, Shirley, por me inspirar a buscar conhecimento,  
uma riqueza que ninguém pode nos tirar.

Ao meu pai, Mário (*in memoriam*), minha maior inspiração na  
pecuária de corte, por me ensinar a respeitar os animais e  
produzir com amor.

*Dedico com amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar perseverança, acolhimento e me sustentar durante toda a minha vida.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por ter me proporcionado um crescimento profissional e pessoal repleto de conhecimento através da Pós-Graduação. E ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade e apoio para a execução do meu trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudos.

À Nutriquest Technofeed Nutrição Animal Ltda., Campinas, SP, Brasil, pelo apoio financeiro para a condução do experimento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ériton Egídio Lisboa Valente, por toda confiança e pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo.

À minha coorientadora, Prof. Dra. Maximiliane, pelo auxílio e incentivo, sempre que precisei.

Aos membros das bancas de qualificação e defesa da tese, por todos os ensinamentos compartilhados e contribuições para com o meu trabalho.

Aos membros do grupo NEAPEC (Núcleo de Estudos e Atividades em Pecuária de Corte), pelo auxílio no desenvolvimento do experimento e nas análises laboratoriais. Por todo companheirismo, compreensão, convivência, amizade e conhecimentos compartilhados. Vocês foram fundamentais em todos os momentos da minha caminhada na Pós-graduação, me ensinaram e me ajudaram a crescer e amadurecer muito como pessoa e profissional.

Aos membros do grupo QUALHADA, pela ajuda e companheirismo durante a condução do experimento.

Aos funcionários da Estação Experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por toda ajuda e amizade nesses anos de convivência.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação, Paulo Morsch, por toda dedicação e auxílio nos procedimentos relacionados às documentações ao longo do doutorado.

À minha família, por todo incentivo, apoio e força que serviram de alicerce para as minhas conquistas. Em especial, ao meu marido, Matheus, por toda ajuda e companheirismo ao longo dessa caminhada, por acreditar na minha força e me incentivar nos dias difíceis.

## ENZIMA ALFA AMILASE EXÓGENA E BIOCOLINA PARA BOVINOS

**Resumo:** Este estudo buscou avaliar o fornecimento de enzima  $\alpha$ -amilase e biocolina sobre o desempenho nutricional e produtivo de ruminantes. Para avaliar a utilização da enzima  $\alpha$ -amilase, um estudo foi realizado utilizando 45 novilhas cruzadas ( $\frac{1}{2}$  Brahman  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore), com idade média e peso corporal (PC) médio inicial de 22 meses e  $314,7 \pm 4,34$  kg. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso com arranjo fatorial  $2 \times 2$  para avaliar a adição ou não de enzima  $\alpha$ -amilase (0 ou 667 unidades de quilo novo (KNU)/kg de concentrado) e dois níveis de suplementação (3 ou 6 g de concentrado/kg de PC). Independentemente da quantidade de suplemento ofertado, a enzima  $\alpha$ -amilase não teve efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o consumo, digestibilidade e desempenho animal. A adição de enzima  $\alpha$ -amilase no suplemento concentrado não melhora o desempenho nutricional e produtivo de novilhas de corte mantidas em pastagem tropical. A oferta de 6 g/kg PC de suplemento concentrado aumenta o desempenho produtivo de novilhas sem afetar o consumo de forragem tropical de alta qualidade. Para avaliar o efeito da biocolina, foram utilizados cinco bovinos machos castrados, da raça Jersey, com peso corporal de  $791,60 \pm 14,95$  kg, portadores de cânula ruminal distribuídos em quadrado latino  $5 \times 5$ , em esquema fatorial  $2 \times 2 + 1$ . Os tratamentos utilizados foram duas doses de biocolina (3 e 6 g de biocolina/100 kg do peso corporal), dois locais de administração de biocolina (rúmen e abomaso) e um tratamento controle que não foi administrado a biocolina. A administração de biocolina, em diferentes quantidades e locais não apresentaram efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e sanguíneos. A administração de 6 g de biocolina/100 kg de PC tende a aumentar a digestibilidade de extrato etéreo. Doses superiores a 6 g de biocolina/100 kg de PC podem ser avaliadas em estudos futuros para melhor entendimento do potencial da biocolina como emulsificante em dietas com teor de lipídios elevados e fontes de rápida liberação no ambiente ruminal de bovinos.

**Palavras-chave:** aditivos alternativos, extrato vegetal, nutrição animal

## **EXOGENOUS ALPHA AMYLASE ENZYME AND BIOCHOLINE FOR CATTLE**

**Abstract:** This study sought to evaluate the supply of  $\alpha$ -amylase enzyme and biocolin on the nutritional and productive performance of ruminants. To evaluate the use of the  $\alpha$ -amylase enzyme, a study was carried out using 45 crossbred heifers ( $\frac{1}{2}$  Brahman  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore), with an average age and average initial body weight (BW) of 22 months and  $314.7 \pm 4.34$  kg. The design used was entirely randomized with a  $2 \times 2$  factorial arrangement to evaluate the addition or not of the  $\alpha$ -amylase enzyme (0 or 667 kilo new units (KNU)/kg of concentrate) and two levels of supplementation (3 or 6 g of concentrate/kg of BW). Regardless of the amount of supplement offered, the  $\alpha$ -amylase enzyme had no effect ( $P > 0.05$ ) on consumption, digestibility and animal performance. The addition of  $\alpha$ -amylase enzyme to the concentrate supplement does not improve the nutritional and productive performance of beef heifers kept on tropical pasture. Offering 6 g/kg CP of concentrate supplement increases the productive performance of heifers without affecting the consumption of high quality tropical forage. To evaluate the effect of biocoline, five castrated male Jersey cattle with a body weight of  $791.60 \pm 14.95$  kg and a rumen cannula were divided into  $5 \times 5$  Latin squares in a  $2 \times 2 + 1$  factorial design. The treatments used were two doses of biocoline (3 and 6 g of biocoline/100 kg of body weight), two biocoline administration sites (rumen and abomasum) and a control treatment in which no biocoline was administered. The administration of biocoline in different amounts and at different sites had no effect ( $P > 0.05$ ) on intake, digestibility, rumen and blood parameters. The administration of 6 g of biocoline/100 kg of BW tended to increase the digestibility of ether extract. Doses higher than 6 g of biocoline/100 kg of CP can be evaluated in future studies to better understand the potential of biocoline as an emulsifier in diets with high lipid content and sources of rapid release into the rumen environment of cattle.

**Keywords:** alternative additives, plant extract, animal nutrition

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	15
2	Revisão .....	17
2.1	Aditivos Alimentares .....	17
2.2	Utilização de Enzimas como Aditivo na Nutrição de Ruminantes .....	18
2.2.1	Enzima $\alpha$ -amilase exógena na nutrição de ruminantes .....	19
2.3	Utilização de biocolina como fonte de fosfatidilcolina na nutrição de ruminantes	21
2.4	Referências .....	25
3	ENZIMA ALFA AMILASE EXÓGENA E QUANTIDADE DE SUPLEMENTO CONCENTRADO PARA NOVILHAS DE CORTE EM PASTAGEM TROPICAL .....	32
3	EXOGENOUS ALPHA AMYLASE ENZYME AND AMOUNT OF CONCENTRATED SUPPLEMENT FOR BEEF HEIFERS IN TROPICAL PASTURE.....	33
3.1	<b>Introdução</b> .....	34
3.2	<b>Material e métodos</b> .....	35
3.2.1	<i>Animais, dietas e design experimental</i> .....	35
3.2.2	<i>Procedimentos experimentais e amostragens</i> .....	36
3.2.3	<i>Análises Laboratoriais</i> .....	37
3.2.4	<i>Análise estatística</i> .....	39
3.3	<b>Resultados</b> .....	39
3.4	<b>Discussão</b> .....	40
3.5	<b>Conclusão</b> .....	43
3.6	<b>Referências</b> .....	44
	Anexo tabelas: Artigo Enzima .....	49
4	BIOCOLINA PARA BOVINOS RECEBENDO DIETA COM GRÃO DE SOJA INTEIRO.....	52
4	BIOCHOLINE FOR BOVINE RECEIVING WHOLE SOYBEAN DIET.....	53

<b>4.1</b>	<b>Introdução</b> .....	54
<b>4.2</b>	<b>Material e métodos</b> .....	54
4.2.1	<i>Animais, dietas e design experimental</i> .....	55
4.2.2	<i>Procedimentos experimentais e amostragens</i> .....	56
4.2.3	<i>Análises Laboratoriais</i> .....	57
4.2.4	<i>Análise estatística</i> .....	58
<b>4.3</b>	<b>Resultados</b> .....	58
<b>4.4</b>	<b>Discussão</b> .....	59
<b>4.5</b>	<b>Conclusão</b> .....	61
<b>4.6</b>	<b>Referências</b> .....	62
	Anexo Tabelas: Artigo Biocolina.....	65



## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de estratégias para melhorar a eficiência da produção é necessária para a conversão de nutrientes dietéticos em produtos de origem animal (carne e leite), além de reduzir as perdas de energia. Logo, os principais objetivos com a utilização de aditivos alimentares na nutrição de ruminantes são: alterar o ambiente ruminal para otimizar a fermentação microbiana com o intuito de prevenir ou tratar distúrbios digestivos (SCHÄREN et al., 2017; MARQUES et al., 2021); melhorar a eficiência na digestão e absorção dos nutrientes e potencializar ganhos no desempenho produtivo, bem como reduzir as perdas de energia com a produção de metano (OLIVEIRA et al., 2019).

A principal classe de aditivos alimentares utilizados na nutrição de ruminantes são os ionóforos, com o intuito de melhorar o desempenho, os parâmetros de fermentação ruminal e a saúde de bovinos de corte (MARQUES et al., 2021). A monensina, por exemplo, foi amplamente utilizada para melhorar a eficiência energética das dietas e desempenho produtivo dos animais (XAVIER et al., 2020).

Contudo, há uma preocupação com a segurança alimentar dos consumidores, devido à possibilidade de resíduos que esses aditivos podem deixar nos produtos de origem animal, podendo aumentar a resistência antimicrobiana (XAVIER et al., 2020). O aumento de estudos com aditivos alternativos considerados naturais, como os probióticos, óleos essenciais, enzimas exógenas, extratos naturais de plantas e algumas combinações, como por exemplo, óleos essenciais e enzimas exógenas, tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o intuito de aumentar o desempenho produtivo (TOSETI et al., 2020; LEAL et al., 2021).

As enzimas exógenas utilizadas na nutrição animal são categorizadas como aditivos zootécnicos, pois atuam positivamente na alimentação melhorando o valor nutricional do alimento, aumentando a digestibilidade e o desempenho, além de manter a saúde intestinal dos animais, reduzindo os distúrbios digestivos (BERGEN e BATES, 1984; VELAZQUES-DE LUCIO et al., 2021). A adição de enzimas exógenas em dietas de ruminantes é uma tecnologia emergente devido aos benefícios na utilização de alimentos e melhora do desempenho animal dos ruminantes. Entretanto, são necessários estudos com ênfase na atividade enzimática, métodos de aplicação e dosagem ideal das enzimas na dieta de ruminantes (SUJANI et al., 2015).

A biocolina surgiu como um aditivo que pode substituir a utilização do cloreto de colina sintético, o qual foi extensivamente utilizado na dieta de ruminantes. A biocolina é um aditivo

nutricional de origem vegetal não higroscópico, produzido através de plantas da Índia como *Achyranthes áspera*, *Trachyspermum ammi*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* e *Andrographis paniculata* (MARTÍNEZ-AISPURO et al., 2019). Possui alto conteúdo de colina na forma esterificada (fosfatidilcolina), com alta biodisponibilidade, atuando de maneira eficiente em diferentes atividades metabólicas, principalmente no metabolismo energético (FARINA et al., 2017).

A maioria dos estudos utilizaram a biocolina como uma fonte de colina na dieta dos ruminantes, com o objetivo de aumentar a produção de leite/carne (MARTINEZ-AISPURO et al., 2019; ALBA et al., 2020; LEAL et al., 2021), melhorar o metabolismo hepático (RODRIGUEZ-GUERRERO et al., 2018) e saúde animal (ALBA et al., 2021; LEAL et al., 2021). Contudo, estudos utilizando a biocolina como fonte de fosfatidilcolina com ação emulsificante na nutrição de ruminantes são escassos na literatura. Desta maneira, objetivou-se avaliar o fornecimento de enzima  $\alpha$ -amilase e biocolina sobre o desempenho nutricional e produtivo de ruminantes.

## 2 Revisão

### 2.1 Aditivos Alimentares

Segundo a Instrução Normativa n° 44, de 15 de dezembro de 2015 do MAPA, define-se aditivos alimentares como:

substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais.

Os aditivos podem ser classificados em diferentes categorias, de acordo com suas funções e propriedades (Tabela 1).

Tabela 1. Categorias de aditivos e suas definições

Categoria	Definição
Aditivos Tecnológicos	Qualquer substância adicionada ao produto destinado à alimentação animal com fins tecnológicos
Aditivos Sensoriais	Qualquer substância adicionada ao produto para melhorar ou modificar as propriedades organolépticas destes ou as características visuais dos produtos
Aditivos nutricionais	Toda substância utilizada para manter ou melhorar as propriedades nutricionais do produto
Aditivos zootécnicos	Toda substância utilizada para influir positivamente na melhoria do desempenho dos animais

Fonte: Instrução normativa n° 13, de 30 de novembro de 2004.

Os principais objetivos com a utilização de aditivos alimentares na nutrição de ruminantes são: alterar o ambiente ruminal para otimizar a fermentação microbiana com o intuito de prevenir ou tratar distúrbios digestivos (SCHÄREN et al., 2017; MARQUES et al., 2021); melhorar a eficiência na digestão e absorção dos nutrientes e potencializar ganhos no desempenho produtivo (OLIVEIRA et al., 2019); e reduzir as perdas de energia com a produção de metano (TEDESCHI et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2019).

Entre os aditivos alimentares utilizados na alimentação animal, existem os aditivos antimicrobianos que possuem ação antimicrobiana e são adicionados na alimentação animal com o intuito de atuar como promotores/melhoradores do desempenho de animais sadios e os aditivos anticoccidianos, que são utilizados para prevenir ou tratar a coccidiose (IN 54, MAPA).

A principal classe de aditivos alimentares utilizados na nutrição de ruminantes são os ionóforos, com o intuito de melhorar o desempenho, os parâmetros de fermentação ruminal e a saúde de bovinos de corte (MARQUES et al., 2021). A monensina, por exemplo, foi amplamente utilizada para melhorar a eficiência energética das dietas e o desempenho produtivo dos animais (MORAES et al., 2011; XAVIER et al., 2020). Entretanto, há uma preocupação com a segurança alimentar dos consumidores, devido à possibilidade de resíduos desses aditivos nos produtos de origem animal, que podem aumentar a resistência antimicrobiana (KHIAOSA-ARD e ZEBELI., 2013; XAVIER et al., 2020).

Desta maneira, o aumento de estudos com aditivos alternativos, considerados naturais, como os probióticos, óleos essenciais, enzimas exógenas, extratos naturais de plantas e algumas combinações, como por exemplo, óleos essenciais e enzimas exógenas, tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o intuito de melhorar o desempenho produtivo desses animais. (GENCOGLU et al., 2010; TOSETI et al., 2020; LEAL et al., 2021).

## 2.2 Utilização de Enzimas como Aditivo na Nutrição de Ruminantes

Enzimas são catalisadores biológicos que aceleram a velocidade das reações químicas em todos os seres vivos. Seu modo de ação depende da especificidade e capacidade catalítica, atuando de maneira primária sobre o substrato ao qual tem afinidade e secundária através do acesso aos outros nutrientes que estarão disponíveis (VELAZQUES-DE LUCIO et al., 2021).

As enzimas exógenas utilizadas na nutrição animal são categorizadas como aditivos zootécnicos, pois atuam positivamente na alimentação, melhorando o valor nutricional do alimento, aumentando a digestibilidade e o desempenho, além de manter a saúde intestinal dos animais, reduzindo os distúrbios digestivos (BERGEN e BATES, 1984; VELAZQUES-DE LUCIO et al., 2021).

As principais enzimas exógenas utilizadas na nutrição de ruminantes são: enzimas fibrolíticas, amilolíticas e proteolíticas. Contudo, a maioria dos estudos encontrados na literatura concentram-se na utilização de enzimas fibrolíticas, devido às limitações em relação à digestão lenta e incompleta da fibra, que conseqüentemente afetam o desempenho animal (BHASKER et al., 2013; MOHAMED et al., 2013).

Apesar da hipótese de que a digestão do amido e proteína por ruminantes não sejam limitados ao ponto de atrapalhar o desempenho animal, tal como a digestão da fibra o faz, algumas pesquisas avaliaram a utilização de enzimas amilolíticas (DILorenzo et al., 2011;

NOZIERE et al., 2014) e proteolíticas (VERA et al., 2012) e verificaram o potencial de utilização dessas enzimas para a melhora do desempenho.

A adição de enzimas exógenas em dietas de ruminantes é uma tecnologia emergente devido aos benefícios na utilização de alimentos e melhora do desempenho animal dos ruminantes. Entretanto, são necessários estudos com ênfase na atividade enzimática, métodos de aplicação e dosagem ideal das enzimas na dieta de ruminantes (SUJANI et al., 2015).

### 2.2.1 Enzima $\alpha$ -amilase exógena na nutrição de ruminantes

As enzimas podem ser obtidas de animais, plantas ou microrganismos e são classificadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam (HARGER, 1982). A enzima alfa amilase pode ser produzida principalmente pelos microrganismos *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae* e são classificadas como enzimas carboidrases, hidrolisando as ligações glicosídicas do amido, glicogênio e polissacarídeos (TRICARICO et al., 2008; SOUZA et al., 2010; VELAZQUES-DE LUCIO et al., 2021).

As amilases podem ser classificadas de acordo com o tipo de ligação que hidrolisam (Figura 1). As  $\alpha$ -amilases quebram as ligações no interior do substrato (endoamilases); as  $\beta$ -amilases quebram unidades das extremidades não redutoras do substrato (exoamilases) e as glucoamilases (amiloglicosidases) atuam nas unidades de glicose do terminal não redutor do substrato (COSTA, 1996; MORAES, 2004).

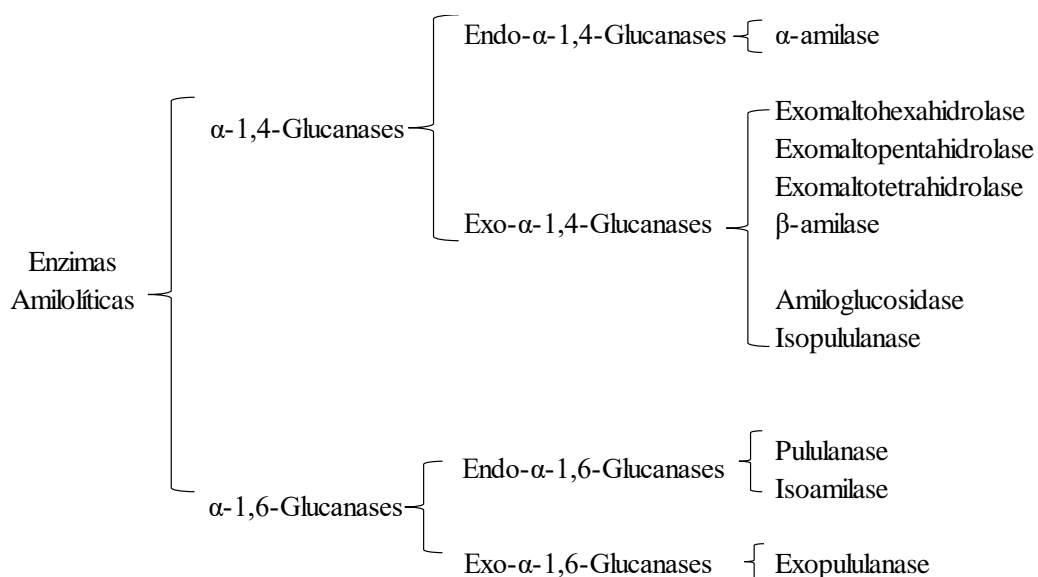


Figura 1. Classificação das enzimas amilolíticas  
Fonte: Costa (1996).

A digestão do amido nos ruminantes envolve vários processos: desde a mastigação, para uma pequena ação da amilase salivar, até a ação dos microrganismos ruminais, principalmente as bactérias, para a fermentação do amido e outros carboidratos da dieta (VAN SOEST, 1994). O processo de hidrólise do amido inicia-se com a adesão das bactérias aos grânulos. Contudo, a matriz proteica que envolve os grãos de amido, impermeabiliza o grânulo e dificulta o acesso das enzimas e microrganismos, o que pode resultar em uma baixa degradabilidade ruminal (NASCIMENTO et al., 2009).

As enzimas amilolíticas são aditivos com potencial para aumentar a digestão do amido pelos ruminantes através da hidrólise de ligações  $\alpha$ -1,4 ou  $\alpha$ -1,6, sobre a amilase ou amilopectina, produzindo moléculas menores como polissacarídeos, glicoses, maltotrioses e maltoses, os quais poderiam ser utilizados como substratos pelos microrganismos ruminais (INGLE & ERICKSON 1978; HELBERT et al. 1996; ROJO-RUBIO et al., 2007). A amilose é um polímero linear formado por até 6.000 unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, sua hidrólise parcial produz oligossacarídeos e a total produz glicose (MORAES, 2004). A amilopectina é uma molécula maior que a amilose e possui estrutura ramificada, com cadeias lineares de glicose unidas por ligações  $\alpha$ -1,4 e cadeias laterais (pontos de ramificações) unidos por ligações  $\alpha$ -1,6 (CHESSON E FORSBERG, 1997).

Embora os primeiros relatos da utilização de enzimas exógenas para melhorar o desempenho de bovinos de corte tenham ocorrido na década de 60 (BURROUGHS et al., 1960), a adoção dessa tecnologia ocorreu de forma mais lenta devido à complexidade do trato gastrointestinal dos ruminantes e à ação dos microrganismos no rúmen que realizam os processos fermentativos de maneira que dificultam a interpretação dos resultados (VELAZQUES-DE LUCIO et al., 2021).

A utilização de enzima  $\alpha$ -amilase exógena na dieta de ruminantes tem sido proposta com o intuito de aumentar a digestibilidade ruminal e/ou total do amido (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; NOZIÈRE et al., 2014). Além disso, a adição da  $\alpha$ -amilase exógena vem sendo utilizada em associação com métodos de processamento físico do grão de milho com o objetivo de aumentar a digestão total do amido e melhorar o desempenho animal (MILLER et al., 2008; DILORENZO et al., 2011; BOEHLKE et al., 2015).

Vários estudos relatam a utilização da  $\alpha$ -amilase exógena em dietas de vacas leiteiras para aumentar a produção de leite e a digestão ruminal do amido (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; NOZIÈRE et al., 2014; ANDREAZZI et al., 2018) ou em dietas de

bovinos de corte em confinamento (DILorenzo et al., 2011; MERCHIATTI et al., 2019; TOSETI et al., 2020). Entretanto, estudos utilizando  $\alpha$ -amilase exógena na dieta de bovinos de corte mantidos em pastagens tropicais são escassos.

### 2.3 Utilização de biocolina como fonte de fosfatidilcolina na nutrição de ruminantes

A colina é um nutriente hidrossolúvel associada às vitaminas do complexo B e seu metabolismo em mamíferos sintetizam diferentes metabólitos (Figura 1) com funções importantes no organismo animal (LI e VANCE, 2008; VETH et al., 2016). Os metabólitos lipossolúveis (fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina e esfingomiéline) atuam no metabolismo de formação e manutenção das membranas celulares, metabolismo lipídico e sinalização celular (KORSMO et al., 2019). Os metabólitos hidrossolúveis (colina livre, acetilcolina, betaína, glicerofosfocolina e fosfocolina) atuam de diferentes formas. A acetilcolina é um hormônio neurotransmissor produzido pelo sistema nervoso central e periférico (BERCHIELLI et al., 2011). A oxidação mitocondrial da colina livre sintetiza betaína, que juntamente com a glicerofosfocolina atua como osmólitos orgânicos dentro das células (EKLUND et al., 2005; KORSMO et al., 2019). A oxidação da betaína fornece grupos metil para a conversão de homocisteína em metionina (EKLUND et al., 2005).

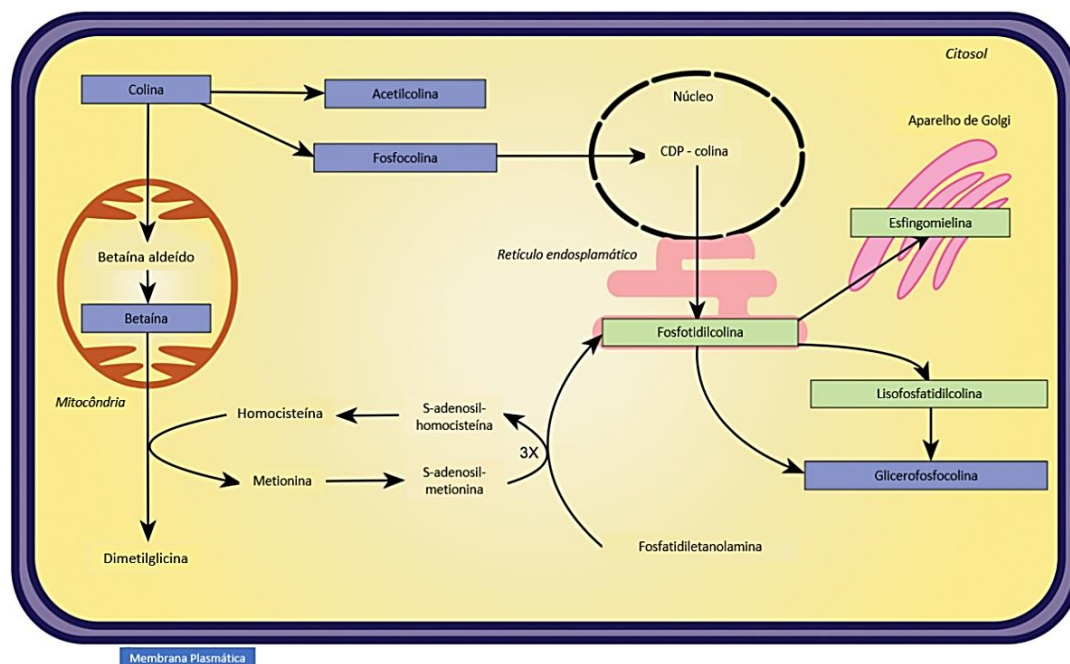


Figura 1. Metabolismo da colina em células de mamíferos. Adaptado de Veth et al. (2016)

Contudo, a colina dietética é extensivamente degradada pelos microrganismos ruminais, sendo metabolizada a trimetilamina e excretada entre 6 a 12 horas após o consumo (BALDI e PINOTTI, 2006; BERCHIELLI et al., 2011). O sinal clínico mais comum da deficiência de colina é a esteatose hepática, mais conhecida como “fígado gorduroso”, que ocorre devido à diminuição na síntese de fosfatidilcolina, um fosfolípido importante para a síntese e secreção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), as quais fazem o transporte de triacilgliceróis para outros tecidos (YAO e VANCE, 1988; KORSMO et al., 2019).

Desta maneira, a proteção da colina através de um revestimento lipídico surgiu como uma alternativa para evitar a degradação ruminal, fornecendo íon de colina para absorção pós ruminal (BOLATTI et al., 2020). Estudos mostram que a utilização de colina protegida no rúmen é eficaz para reduzir ou prevenir o acúmulo de triacilglicerol no fígado (BOBE et al., 2004, COOKE et al., 2007; ZENOBI et al., 2018a) e aumentar os genes envolvidos no transporte de VLDL (ZOM et al., 2011; GOSELINK et al., 2013). Além disso, outros estudos com vacas leiteiras mostram que a suplementação de colina protegida no rúmen aumenta a produção de leite, gordura e energia corrigida no leite (SUN et al., 2016; ZENOBI et al., 2018b). A suplementação de cabras leiteiras com colina protegida no rúmen aumentou a concentração e a produção de gordura no leite (PINOTTI et al., 2008). A suplementação de colina protegida no rúmen aumentou o peso corporal e ganho médio diário de bovinos de corte (BRYANT et al., 1999; PINOTTI et al., 2009). Entretanto, as fontes de colina protegida no rúmen diferem em seu conteúdo de colina e degradabilidade ruminal, sendo apenas 61% absorvido no duodeno (KUNG et al., 2003; BRUSEMEISTER e SUDEKUM, 2006; VETH et al., 2016).

Desta maneira, a biocolina surgiu como um aditivo alternativo às fontes sintéticas de colina protegida do rúmen que são utilizadas nas dietas de ruminantes. A biocolina (Biocolina FC®, Nutriquest Technofeed Nutrição Animal Ltda., Campinas, Brasil) é um aditivo nutricional de origem vegetal não higroscópico, produzido através de plantas da Índia (*Achyranthes áspera*, *Trachyspermum ammi*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* e *Andrographis paniculata*) e possui proteção natural à degradação pelos microrganismos ruminais (MARTÍNEZ-AISPURO et al., 2019). Além disso, tem um alto conteúdo de colina na forma esterificada, como fosfatidilcolina com alta biodisponibilidade, atuando de maneira eficiente em diferentes atividades metabólicas, como no metabolismo energético (FARINA et al., 2017).

Contudo, a maioria dos estudos utilizaram a biocolina como uma fonte de colina na dieta dos ruminantes, com o objetivo de aumentar a produção de leite/carne (MARTINEZ-AISPURO et al., 2019; ALBA et al., 2020; LEAL et al., 2021), melhorar o metabolismo hepático



(RODRIGUEZ-GUERRERO et al., 2018) e saúde animal (ALBA et al., 2021; LEAL et al., 2021). Entretanto, estudos utilizando a biocolina como fonte de fosfatidilcolina com ação emulsificante na nutrição de ruminantes são escassos na literatura.

A utilização de lipídeos na dieta de ruminantes é uma alternativa para aumentar a densidade energética, devido ao seu alto teor energético de aproximadamente 2,25 vezes maior que a energia dos carboidratos (NELSON et al., 2004; HESS, 2008). Contudo, a utilização de lipídeos na dieta de ruminantes deve ser feita com cautela, devido aos efeitos negativos que os lipídeos podem proporcionar sobre o consumo de matéria seca e digestibilidade da fibra (JENKINS et al., 2008; RENNÓ et al., 2015), em razão da película que os lipídeos formam nas partículas de alimento, dificultando a adesão pelos microrganismos ruminais (BETTERO et al., 2013, JORGE et al., 2008).

Os emulsificantes são moléculas que elevam a capacidade de preservação dos nutrientes devido às suas características anfifílicas (uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica), preservando os nutrientes no processo de absorção de óleos e gorduras (REIS, 2021). No concentrado, a colina está presente na forma de lecitina, um fosfolipídio de origem vegetal ou animal com natureza anfifílica (cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica), composta por uma mistura de fosfatidilcolina, fosfatidiletanoamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e ácido fosfático (MCFADENN, 2019; LEAL et al., 2021). Bioquimicamente, o termo lecitina é utilizado como um sinônimo de fosfatidilcolina.

Um processo importante na digestão de lipídios é a formação de micelas, que são constituídas por fosfolipídeos, ácidos e sais biliares, lecitina, moléculas de colesterol, triglicerídeos da dieta e ácidos graxos livres, que garantem a absorção dos lipídios nas microvilosidades intestinais (MCFADDEN, 2019). Fosfolipídios e lisofosfolipídios são considerados emulsificantes naturais. Alguns estudos foram conduzidos a fim de se utilizar a lecitina como um emulsificante na dieta de ruminantes, entretanto, devido à sua suscetibilidade à degradação ruminal, não tem sido observado melhora na digestibilidade ou absorção de ácidos graxos (SHEPARDSON E HARVATINE, 2019; MCFADDEN, 2019).

A fosfatidilcolina constitui em até 95% os fosfolipídios que compõe a secreção biliar, que juntamente com os ácidos biliares e colesterol formam as micelas, as quais fazem o transporte dos lipídeos para serem absorvidos no intestino delgado dos animais (ALVARO et al., 1986; MCFADENN, 2019). Além disso, a fosfatidilcolina é necessária para a síntese e liberação de quilomícrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) pelas células das vilosidades intestinais (KOO E NOH, 2001). Desta maneira, o fornecimento pós-ruminal de fosfatidilcolina

poderia aumentar a digestibilidade e absorção de ácidos graxos no intestino (MCFADENN et al., 2019).

## 2.4 Referências

- ALBA, D.F.; FAVARETTO, J.A.; MARCON, H. et al. Vegetable biocholine supplementation in pre-and postpartum Lacaune sheep: Effects on animal health, milk production and quality. **Small Ruminant Research**, v.190, p.106165, 2020. <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106165>>.
- ALBA, D.F.; LEAL, K.; CUNHA, M.H. et al. Positive effects of biocholine powder dietary supplementation on milk production and quality, and antioxidant responses in lactating ewes: A new nutritional tool. **Heliyon**, v.7, n.4, p.e06732, 2021. <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06732>>.
- ALVARO, D.; CANTAFORA, A.; ATTILI, A.F. et al. Relationships between bile salts hydrophilicity and phospholipid composition in bile of various animal species. **Comp. Biochem. Physiol. – Part B Biochem.** v.83, p.551–554, 1986. <[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(86\)90295-6](https://doi.org/10.1016/0305-0491(86)90295-6)>.
- ANDREAZZI, A.S.; PEREIRA, M.N.; REIS, R.B. et al. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. **Journal of dairy science**, v.101, n.8, p.7199-7207, 2018. <<https://doi.org/10.3168/jds.2017-14331>>.
- BALDI, A.; PINOTTI, L. Choline metabolism in high-producing dairy cows: Metabolic and nutritional basis. **Canadian journal of animal science**, v.86, n.2, p.207-212, 2006. <<https://doi.org/10.4141/A05-061>>.
- BERCHIELLI, T.T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Vitaminas: Nutrição de Ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p.398.
- BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984. <<https://doi.org/10.2527/jas1984.5861465x>>
- BETTERO, V.P.; GANDRA, J.R.; NUNES, H.V.N. et al. Sources of omega-6 fatty acids do not alter the rumen degradation and transit of fibre from dairy cow diets. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.22, n.4, p.295-301, 2013. <<http://hdl.handle.net/11449/111555>>.
- BHASKER, T.V.; NAGALAKSHMI, D.; RAO, D.S. Development of appropriate fibrolytic enzyme combination for maize stover and its effect on rumen fermentation in sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.26, n.7, p.945, 2013. <[10.5713/ajas.2012.12590](https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12590)>
- BOBE, G.; YOUNG, J.W.; BEITZ, D.C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of dairy science**, v.87, n.10, p. 3105-3124, 2004. <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73446-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3)>.
- BOEHLKE, C.; ZIERAU, O.; HANNIG, C. Salivary amylase–The enzyme of unspecialized euryphagous animals. **Archives of oral biology**, v.60, n.8, p.1162-1176, 2015. <<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.008>>.

- BOLLATTI, J.M.; ZENOBI, M.G.; ARTUSSO, N.A. et al. Effects of rumen-protected choline on the inflammatory and metabolic status and health of dairy cows during the transition period. **Journal of dairy science**, v.103, n.5, p.4192-4205, 2020. <<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17294>>.
- BRUSEMEISTER, F.; SUDEKUM, K.H. Rumen-protected choline for dairy cows: the *in situ* evaluation of a commercial source and literature evaluation of effects on performance and interactions between methionine and choline metabolism. **Animal Research**, v.55, n.2, p.93-104, 2006. <<https://doi.org/10.1051/animres:2006002>>.
- BRYANT, T.C.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L. et al. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. **Journal of Animal Science**, v.77, n.11, p.2893-2903, 1999. <<https://doi.org/10.2527/1999.77112893x>>.
- BURROUGHS, W.; WOODS, W.; EWING, S. A. et al. Enzyme additions to fattening cattle rations. **Journal of Animal Science**, v.19, n.2, p.458-464, 1960. <<https://doi.org/10.2527/jas1960.192458x>>.
- CHENSSON, A.; FORSBERG, C.W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). *The rumen microbial ecosystem*, 2 Ed, London: Blackie Academic and Professional, 1997, p.329-381.
- COOKE, R.F.; DEL RIO, N.S.; CARAVIELLO, D.Z., Bertics, S. J. et al. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.5, p.2413-2418, 2007. <<https://doi.org/10.3168/jds.2006-028>>.
- COSTA, J.A.V. **Estudo da produção de amiloglicosidase por *Aspergillus Niger* NRRL 3122 em fermentação semi sólida de farelo de arroz**. 1996. 203f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DE VETH, M.J.; ARTEGOITIA, V.M., CAMPAGNA, S.R. Choline absorption and evaluation of bioavailability markers when supplementing choline to lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v.99, n.12, p.9732-9744, 2016. <<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11382>>.
- DILORENZO, N.; SMITH, D.R.; QUINN, M.J. et al. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**, v.137, n.1-3, p.178-184, 2011. <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.11.003>>.
- EKLUND, M.; BAUER, E.; WAMATU, J. et al. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. **Nutrition research reviews**, v.18, n.1, p.31-48, 2005. <<https://doi.org/10.1079/NRR200493>>.
- FARINA, G.; KESSLER, A.D.M.; EBLING, P.D. et al. Performance of broilers fed different dietary choline sources and levels. **Ciência Animal Brasileira**, v.18, 2017. <<https://doi.org/10.1590/1089-6891v18e-37633>>.

- GENCOGLU, H.; SHAVER, R.D.; STEINBERG, W. et al. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.2, p.723-732, 2010. <<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2673>>
- GOSELINK, R.M.A.; VAN BAAL, J.; WIDJAJA, H.C.A. et al. Effect of rumen-protected choline supplementation on liver and adipose gene expression during the transition period in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.2, p.1102-1116, 2013. <<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5396>>.
- HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: *Bioquímica das Fermentações*. [S.I: s,n.], 1982. 56p.
- HELBERT, W.; SCHÜLEIN, M.; HENRISSAT, B. Electron microscopic investigation of the diffusion of *Bacillus licheniformis*  $\alpha$ -amylase into corn starch granules. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.19, n.3, p.165-169, 1996.
- HESS, B.W.; MOSS, G.E.; RULE, D.C. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.86, n.14, p.E188-E204, 2008. <<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0546>>.
- INGLE, M.B.; ERICKSON, R.J. Bacterial  $\alpha$ -amylases. **Advances in Applied Microbiology**, v.24, p.257-278, 1978.
- JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P. J. et al. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v.86, n.2, p.397-412, 2008. <<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0588>>.
- JORGE, J.R.V.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Lipídios em dietas para novilhos holandeses: digestibilidade aparente. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.9, n.4, p.743-753, 2008.
- KHIAOSA-ARD, R.; ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.91, n.4, p.1819-1830, 2013. <<https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691>>.
- KLINGERMAN, C.M.; HU, W.; MCDONELL, E.E. et al. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. **Journal of dairy science**, v.92, n.3, p.1050-1059, 2009. <doi:10.3168/jds.2008-1339>.
- KOO, S.I.; NOH, S.K. Phosphatidylcholine inhibits and lysophosphatidylcholine enhances the lymphatic absorption of  $\alpha$ -tocopherol in adult rats. **The Journal of nutrition**, v.131, n.3, p.717-722, 2001. <<https://doi.org/10.1093/jn/131.3.717>>.
- KORSMO, H.W.; JIANG, X.; CAUDILL, M.A. Choline: exploring the growing science on its benefits for moms and babies. **Nutrients**, v.11, n.8, p.1823, 2019.
- KUNG, L.; PUTNAM, D.E.; GARRETT, J.E. Comparison of commercially available rumen-stable choline products. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.275, 2003.

- LEAL, K.W.; ALBA, D.F.; CUNHA, M.G. et al. Effects of biocholine powder supplementation in ewe lambs: Growth, rumen fermentation, antioxidant status, and metabolism. **Biotechnology Reports**, v. 29, p.e00580, 2021. <<https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00580>>.
- LEAL, K.W.; ALBA, D.F.; DA CUNHA, M.G. et al. Vegetable biocholine supplementation in lambs during the feed transition period improves health and enhances weight gain. **Small Ruminant Research**, v.198, p.106356, 2021. <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106356>>.
- LI, Z.; VANCE, D.E. Thematic review series: glycerolipids phosphatidylcholine and choline homeostasis. **Journal of Lipid Research**, v.49, n.6, p.1187-1194, 2008. <<https://doi.org/10.1194/jlr.R700019-JLR200>>.
- MARQUES, R. S; COOKE, R. F. Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. **Animals**, v.11, n.10, p.2871, 2021. <<https://doi.org/10.3390/ani11102871>>
- MARTÍNEZ-AISPURO, J.A.; MENDOZA, G.D.; CORDERO-MORA, J.L. et al. Evaluation of an herbal choline feed plant additive in lamb feedlot rations. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.48, 2019. <<https://doi.org/10.1590/rbz4820190020>>.
- MCFADDEN, J. W. Dietary lecithin supplementation in dairy cattle. Department of Animal Science: Cornell University. 2019. <[https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/67043/12%20McFadden%20\(manu\).pdf?sequence=2](https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/67043/12%20McFadden%20(manu).pdf?sequence=2)>
- MILLER, D.R., GRANZIN, B.C., ELLIOTT, R. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.194-208, 2008. <[doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.05.049](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.049)>.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa nº 44 de 15 de dezembro de 2015. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-44-de-15-12-2015.pdf/view>> Acesso em: 25/07/2022.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de-2004.pdf/view> Acesso em: 25/07/2022.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa nº 54 de 24 de novembro de 2011. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/registro/INMAPAn542011comasalteraesdaINMAPAn302015.pdf/view>> Acesso em: 25/07/2022.

- MOHAMED, D.E.D.A.; BORHAMI, B.E.; EL-SHAZLY, K.A. et al. Effect of dietary supplementation with fibrolytic enzymes on the productive performance of early lactating dairy cows. **Journal of Agricultural Science**, v.5, p.146-155, 2013. <<http://dx.doi.org/10.5539/jas.v5n6p146>>
- MORAES, L. M. P. Amilases. In: SAID, S.; PIETRO, R. **Enzimas como agentes Biotecnológicos**. [s.n.]. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004. p.222 – 242.
- MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A., Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T. PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Editora Funep, 2011, p.565-599
- NASCIMENTO, M.L.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. Fontes de energia em suplementos múltiplos para recria de novilhos mestiços em pastejo durante o período de transição seca/águas: desempenho produtivo e características nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.6, p.1133-1141, 2009.
- NELSON, M.L.; MARKS, D.J.; BUSBOOM, J.R. et al. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: I. Feedlot performance, carcass traits, appearance, water binding, retail storage, and palatability attributes. **Journal of Animal Science**, v.82, n.12, p.3600-3610, 2004. <<https://doi.org/10.2527/2004.82123600x>>.
- NOZIÈRE, P.; STEINBERG, W.; SILBERBERG, M. et al. Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.4, p.2319-2328, 2014. <<https://doi.org/10.3168/jds.2013-7095>>
- OLIVEIRA, O.A.M.; DAS GRAÇAS AMARAL, A.; PEREIRA, K.A. et al. Utilização de aditivos modificadores da fermentação ruminal em bovinos de corte. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.12, n.1, p.287-311, 2019. <<https://doi.org/10.17765/2176-9168.2019v12n1p287-311>>
- PINOTTI, L.; CAMPAGNOLI, A.; D'AMBROSIO, F. et al. Rumen-protected choline and vitamin E supplementation in periparturient dairy goats: effects on milk production and folate, vitamin B12 and vitamin E status. **Animal**, v.2, n.7, p.1019-1027, 2008. <<https://doi.org/10.1017/S1751731108002103>>.
- PINOTTI, L.; PALTANIN, C.; CAMPAGNOLI, A. et al. Rumen protected choline supplementation in beef cattle: effect on growth performance. **Italian Journal of Animal Science**, v.8, n.2, p.322-324, 2009. <<https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.322>>.
- REIS, M.E. **Inclusão de lisolecitina ou  $\beta$ - glucanas da dieta líquida de bezerros leiteiros: efeitos no desempenho, saúde e metabolismo**. 2021. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade Paulista/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- RENNÓ, F.P.; CÔNSOLO, N.R.B.; BARLETTA, R.V. et al. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. **Archivos de zootecnia**, v.64, n.248, p.331-338, 2015.

- RODRÍGUEZ-GUERRERO, V.; LIZARAZO, A.C.; FERRARO, S. et al. Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. **South African Journal of Animal Science**, v.48, n.3, p.427-434, 2018. <<https://hdl.handle.net/10520/EJC-e2130f150>>.
- ROJO-RUBIO, R.; MARTÍNEZ, G.D.M.; VALDEZ, O.D.M. et al. Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. **Universidad y Ciencia**. Villahermosa, v.2, n.23, p.173 – 182, 2007.
- SCHÄREN, M.; DRONG, C.; KIRI, K. et al. Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.4, p.2765–2783, 2017. <<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11994>>
- SOUZA, P.M.; MAGALHÃES, P.O. Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review. **Brazilian journal of microbiology**, v.41, n.4, p.850-861, 2010. <<https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004>>.
- SUJANI, S.; SERESINHE, R.T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v.9, n.3, p.85-99, 2015. <10.3923/ajas.2015.85.99>.
- SUN, F.; CAO, Y.; CAI, C. et al. Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: energy homeostasis and health in response to post-ruminal choline and methionine. **PloS one**, v.11, n.8, p.e0160659, 2016.
- TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G; TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of environmental quality**, v.32, n.5, p.1591-1602, 2003. <<https://doi.org/10.2134/jeq2003.1591>>
- TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D.; DAWSON, K.A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae*  $\alpha$ -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.136-150, 2008. <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.017>>.
- VAN SOEST, P.J. Nutrition ecology of the ruminant. 2 Ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, p.476.
- VELÁZQUEZ-DE LUCIO, B.S.; HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, E.M.; VILLA-GARCIA, M. et al. Exogenous enzymes as zootechnical additives in animal feed: a review. **Catalysts**, v.11, n.7, p.851, 2021.
- VERA, J.M.; SMITH, A.H.; ZOBELL, D.R. et al. Effects of an exogenous proteolytic enzyme on growth performance of beef steers and in vitro ruminal fermentation in continuous cultures. **The Professional Animal Scientist**, v.28, n.4, p.452-463, 2012. <[https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30385-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30385-5)>
- XAVIER, J.V.V. **Aditivos alimentares alternativos para bovinos**. 2020. 25f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- YAO, Z. M.; VANCE, D. E. The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v.263, n.6, p.2998-3004, 1988. <[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69166-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69166-5)>.



ZENOBI, M.G.; SCHEFFLER, T.L.; ZUNIGA, J.E. et al. (a) Feeding increasing amounts of ruminally protected choline decreased fatty liver in nonlactating, pregnant Holstein cows in negative energy status. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.7, p.5902-5923, 2018. <<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13973>>.

ZENOBI, M.G.; GARDINAL, R.; ZUNIGA, J.E. et al. (b) Effects of supplementation with ruminally protected choline on performance of multiparous Holstein cows did not depend upon prepartum caloric intake. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.2, p.1088-1110, 2018. <<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13327>>.

ZOM, R.L.G.; VAN BAAL, J.; GOSELINK, R.M.A. et al. Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.8, p.4016-4027, 2011. <<https://doi.org/10.3168/jds.2011-4233>>.

### 3 ENZIMA ALFA AMILASE EXÓGENA E QUANTIDADE DE SUPLEMENTO CONCENTRADO PARA NOVILHAS DE CORTE EM PASTAGEM TROPICAL

**Resumo:** Objetivou-se avaliar os efeitos da adição de enzima  $\alpha$ -amilase em diferentes quantidades de suplemento concentrado sobre as características nutricionais e desempenho produtivo de novilhas mantidas em pastagem tropical. Foram utilizadas 45 novilhas cruzadas ( $\frac{1}{2}$  Brahman  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore), com idade média e peso corporal (PC) médio inicial de 22 meses e  $314,7 \pm 4,34$  kg. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial  $2 \times 2$  para avaliar a adição ou não da adição de enzima  $\alpha$ -amilase (0 ou 667 unidades de quilo novo (KNU)/kg de concentrado) e duas quantidades de suplemento concentrado (3 ou 6 g de concentrado/kg de PC). Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre a adição de enzima e a quantidade de suplemento concentrado para nenhuma das variáveis analisadas. A oferta de 6 g/kg de PC de suplemento concentrado aumentou a ingestão de matéria orgânica ( $P = 0,01$ ), amido ( $P < 0,01$ ) e matéria orgânica digestível ( $P = 0,02$ ). A adição da enzima  $\alpha$ -amilase não apresentou efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes. Os níveis de suplementação não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) no pH ruminal, nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH<sub>3</sub>), nitrogênio ureico sérico (NUS), excreção de nitrogênio ureico (ENU), nitrogênio microbiano (Nmic) e concentrações de AGV. No entanto, a adição da enzima  $\alpha$ -amilase diminuiu ( $P < 0,05$ ) as concentrações de NUS. O nível de suplementação de 6 g/kg PC aumentou ( $P < 0,05$ ) o desempenho. Entretanto, a adição da amilase não afetou ( $P > 0,05$ ) o desempenho produtivo. A adição de enzima  $\alpha$ -amilase não melhora o desempenho nutricional e produtivo de novilhas de corte mantidas em pastagem tropical recebendo suplementação concentrada até 6 g/kg PC.

**Palavras-chave:** aditivo, amido, bovino de corte, suplemento

### 3 EXOGENOUS ALPHA AMYLASE ENZYME AND AMOUNT OF CONCENTRATED SUPPLEMENT FOR BEEF HEIFERS IN TROPICAL PASTURE

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the effects of adding  $\alpha$ -amylase enzyme to different amounts of concentrate supplement on the nutritional characteristics and productive performance of heifers kept on tropical pasture. 45 crossbred heifers ( $\frac{1}{2}$  Brahman  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore) were used, with an average age and average initial body weight (BW) of 22 months and  $314.7 \pm 4.34$  kg. The experimental design was entirely randomized with a  $2 \times 2$  factorial arrangement to evaluate the addition or not of the  $\alpha$ -amylase enzyme (0 or 667 kilo new units (KNU)/kg of concentrate) and two amounts of concentrate supplement (3 or 6 g of concentrate/kg of BW). There was no interaction ( $P > 0.05$ ) between the addition of enzyme and the amount of concentrate supplement for any of the variables analyzed. Offering 6 g/kg BW of concentrate supplement increased the intake of organic matter ( $P = 0.01$ ), starch ( $P < 0.01$ ) and digestible organic matter ( $P = 0.02$ ). The addition of the  $\alpha$ -amylase enzyme had no effect ( $P > 0.05$ ) on nutrient intake and digestibility. Supplementation levels had no effect ( $P > 0.05$ ) on rumen pH, rumen ammonia nitrogen (N-NH<sub>3</sub>), serum urea nitrogen (NUS), urea nitrogen excretion (ENU), microbial nitrogen (N<sub>mic</sub>) and VFA concentrations. However, the addition of the  $\alpha$ -amylase enzyme decreased ( $P < 0.05$ ) NUS concentrations. The supplementation level of 6 g/kg BW increased ( $P < 0.05$ ) performance. However, the addition of amylase did not affect ( $P > 0.05$ ) production performance. The addition of  $\alpha$ -amylase enzyme does not improve the nutritional and productive performance of beef heifers kept on tropical pasture receiving concentrate supplementation up to 6 g/kg CP.

**Keywords:** additive, starch, beef cattle, supplement

### 3.1 Introdução

As gramíneas tropicais não são consideradas uma dieta balanceada devido às restrições nutricionais que podem limitar o consumo de forragem e o desempenho produtivo de bovinos, sendo necessário a suplementação concentrada para ajustar o aporte de nutrientes, afim de atender as exigências microbianas e/ou animais (DETMANN et al., 2014; DETMANN et al., 2020). O milho é o principal ingrediente utilizado como fonte de energia em dietas para ruminantes e a quantidade de suplemento ofertado está diretamente relacionada com o aumento no ganho produtivo dos animais (GIUBERTI et al., 2013; BARBIZAN et al., 2020; DAMASCENO et al., 2021).

O fornecimento de suplemento concentrado para bovinos de corte em pastagens tropicais aumenta a ingestão de nutrientes, entretanto, pode diminuir o consumo de forragem devido à alteração da população microbiana, favorecendo o crescimento de bactérias amilolíticas, degradadoras de amido (DE PAULA et al., 2019; ZHANG et al., 2022). Contudo, as oscilações na disponibilidade diária de amido que ocorrem na dieta de bovinos de corte mantidos a pasto podem fazer com que as bactérias amilolíticas não sejam capazes de degradar o amido de maneira eficiente, uma vez que o aumento na ingestão de amido através de uma maior quantidade de oferta de suplemento concentrado pode diminuir o teor de  $\alpha$ -amilase pancreática (KREIKEMEIER et al., 1990).

A utilização de enzima  $\alpha$ -amilase exógena na dieta de ruminantes tem sido proposta com o intuito de aumentar a digestibilidade ruminal e/ou total do amido (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; NOZIÈRE et al., 2014). Além disso, a adição da  $\alpha$ -amilase exógena vem sendo utilizada em associação com métodos de processamento físico do grão de milho com o objetivo de aumentar a digestão total do amido e melhorar o desempenho animal (VASCONCELOS e GALYEAN, 2007; DILORENZO et al., 2011; BOEHLKE et al., 2015). Entretanto, a maioria desses estudos são conduzidos com vacas de leite (ANDREAZZI et al., 2018; CERVANTES et al., 2022; ZILIO et al., 2019) ou bovinos de corte em confinamento (DILORENZO et al., 2011; MERCHIATTI et al., 2019; TOSETI et al., 2020), sendo escassos estudos utilizando  $\alpha$ -amilase exógena na dieta de bovinos de corte mantidos em pastagens tropicais.

Nesse sentido, a hipótese desse estudo foi que a adição de  $\alpha$ -amilase em maiores quantidades de suplemento concentrado aumenta a digestibilidade ruminal do amido e que a quantidade maior de suplementação aumenta o desempenho produtivo dos animais. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da adição de enzima  $\alpha$ -amilase em diferentes quantidades de

suplemento concentrado sobre as características nutricionais e desempenho produtivo de novilhas mantidas em pastagem tropical.

## 3.2 Material e métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/ Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Protocolo nº 21/17), de acordo com os princípios éticos de experimentação animal estabelecidos pelo Conselho Brasileiro de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

### 3.2.1 Animais, dietas e design experimental

O estudo foi realizado durante a transição da estação seca para a chuvosa, no município de Entre Rios do Oeste- PR (24°40'34" S, 54°16' 38" W). A temperatura média foi de 26,3 ± 2,6 °C, com precipitação pluviométrica de 488,8 mm. O período experimental foi composto por 10 dias de adaptação às dietas, instalações e manejos e 90 dias para coleta de dados.

Foram utilizadas 45 novilhas cruzadas (½ Brahman × ½ Nelore), com idade média e peso corporal (PC) médio inicial de 22 meses e 314,7 ± 4,34 kg, respectivamente. Distribuídas em quatro tratamentos (três tratamentos com 11 repetições e um tratamento com 12 repetições) em oito piquetes de um hectare cada formados com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés e manejadas sob lotação contínua.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2 × 2 para avaliar a adição ou não de enzima  $\alpha$ -amilase exógena (em uma dose de 0 ou 667 unidades de quilo novo (KNU)/kg de concentrado) e duas quantidades de suplemento concentrado (3 ou 6 g de concentrado/kg de PC). A  $\alpha$ -amilase termoestável utilizada foi a Liquozyme Supra 2.2x (Novozyme, Inc., Bagsvaerd, Dinamarca) com atividade de 333,62 unidades de quilo Novo (KNU) por grama. Uma KNU é definida como a quantidade de  $\alpha$ -amilase que, sob condições padrões (pH 7,1; 37 °C), dextriniza 5,26 g de amido (GOMES et al., 2014). A dose da enzima foi baseada em resultados positivos na digestão do amido (NOZIÉRE et al., 2014). A quantidade de suplemento concentrado foi baseada em estudos onde o efeito de substituição da forragem pelo suplemento concentrado ocorreu a partir de 0,6 g/kg de PC (MENDES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016).

O suplemento foi formulado para fornecer aos animais o nível proteico dietético de 130 g/kg MS. O ajuste da composição e a quantidade de suplemento ofertada aos animais foi realizada a cada 15 dias, considerando o peso corporal médio de cada grupo, o teor de proteína bruta da forragem, provenientes das simulações de pastejo, sendo o consumo de matéria seca total estimado pelo BR-Corte 3.0 (VALADARES FILHO et al., 2016) para ganhos de 0,8 kg/dia. A enzima foi adicionada com o auxílio de um borrifador, durante o processo de preparação do suplemento, o qual foi realizado a cada 15 dias e armazenado protegido da luz e calor. Todos os animais receberam mistura mineral comercial *ad libitum* (Tabela 1). O fornecimento do suplemento foi realizado diariamente às 10:00 horas.

### 3.2.2 Procedimentos experimentais e amostragens

Para avaliação da qualidade da forragem consumida pelos animais, foram realizadas coletas através da simulação manual de pastejo a cada 15 dias. A disponibilidade de forragem foi avaliada por piquete através de 6 cortes de 0,25 m<sup>2</sup> a aproximadamente 1 cm acima do nível do solo. Posteriormente, a forragem foi pesada, homogeneizada e retiradas alíquotas para formar uma amostra composta.

A avaliação do consumo e digestibilidade da dieta foi realizada entre o 44° e 51° dia utilizando três novilhas de cada piquete. A excreção fecal foi estimada através do fornecimento de 10 g/dia de óxido crômico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) como indicador externo, acondicionado em cartucho de papel e introduzido no esôfago por um tubo de borracha flexível. A ingestão individual do suplemento foi avaliada misturando aproximadamente 10 g/dia de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) por novilha ao suplemento ofertado ao grupo. Os indicadores foram ofertados uma vez ao dia às 09h00. Após cinco dias de adaptação, as amostras fecais foram coletadas às 14h00 no 49° dia, às 10h00 no 50° dia e 06h00 horas no 51° dia. O consumo de forragem foi estimado usando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno.

Nos dias 51° e 52° foram coletados dos mesmos três animais utilizados para avaliação de consumo, amostras de líquido ruminal, sangue e urina, quatro horas antes e quatro horas após a suplementação. As amostras de líquido ruminal foram coletadas com o auxílio de uma sonda esofágica com um tubo de silicone e uma bomba de vácuo, sendo descartados os primeiros 100 mL de líquido ruminal e o pH mensurado imediatamente após a coleta.

Foram retiradas uma alíquota de 25 mL sendo acidificada com 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50%) para ser analisada quanto o teor de nitrogênio amoniacal ruminal e outra alíquota de 1,2 mL,

acidificada com 0,3 mL de ácido metafosfórico (25%) para analisar os teores de ácidos graxos voláteis, as quais foram armazenadas em tubos identificados e congeladas (-20°C) para posteriores análises.

Posteriormente, foi coletada uma amostra de 10 mL de sangue por punção da veia jugular e centrifugada a 2.000 g por 15 minutos para obtenção do soro, que foi mantido a -20 °C. Amostras “spot” de urina foram coletadas após a micção espontânea. Uma alíquota de 6 mL de urina foi diluída em 24 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,036N), armazenadas em tubos identificados e congeladas (-20°C) para posteriores análises.

O desempenho produtivo foi calculado através do peso corporal dos animais após jejum de sólidos e líquidos de 14 horas. O ganho de peso (GP) foi calculado pela diferença entre o peso corporal final e inicial. O ganho médio diário (GMD) foi calculado pela diferença entre o peso corporal final e inicial, dividido pelo número de dias experimentais (90 dias).

### 3.2.3 Análises Laboratoriais

As amostras de forragens, fezes e ingredientes do suplemento foram secas em estufas com ventilação forçada de ar a 55 °C por 72 horas, processadas em moinho de facas tipo Wiley, em peneira com diâmetro de 1 mm, exceto para determinação da fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), em que foram moídas em peneira de 2 mm e para a determinação do amido, em que foram moídas em peneira de 0,5 mm.

As amostras foram analisadas para matéria seca (MS, método n° 920.39), proteína bruta (PB, método n° 954.01), matéria orgânica (MO, método n° 942.05) como descrito pela AOAC (1990) e amido de acordo com Hall (2009). Para análise da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com  $\alpha$ -amilase termoestável sem sulfito de sódio (MERTENS, 2002). O teor de FDNi foi avaliado utilizando sacos de filtro F57 (Ankom, Macedon, NY, EUA) incubados no rúmen por 288 horas (VALENTE et al., 2011). As amostras fecais foram analisadas quanto à concentração de cromo (WILLIAMS et al., 1962) e dióxido de titânio (MYERS et al., 2004) usando absorção atômica e métodos colorimétricos, respectivamente.

A excreção fecal (kg) foi estimada dividindo-se a concentração de óxido de cromo fornecida diariamente (kg/d) pela concentração do indicador nas fezes (kg/kg). O consumo individual de suplemento foi estimado utilizando o dióxido de titânio como indicador externo, de acordo com a seguinte equação:

$$CMS_{sup} = \frac{(EF \times CIF)}{CIS}$$

Em que: CMS<sub>sup</sub> = consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia); EF = produção fecal (kg/dia); CIF = concentração do indicador (TiO<sub>2</sub>) nas fezes do animal (kg/kg); CIS = concentração do indicador (TiO<sub>2</sub>) no suplemento (kg/kg).

O consumo de matéria seca (CMS, kg/d) foi estimado através do FDNi como indicador interno e calculado de acordo com a seguinte equação:

$$CMST = \frac{(EF \times FDNi_{fezes}) - FDNi_{sup}}{FDNi_{forragem}} + CMS_{sup}$$

Em que: CMST = consumo de matéria seca total (kg/dia); EF = produção fecal (kg/dia); FDNi<sub>fezes</sub> = concentração de FDNi nas fezes (kg/kg); FDNi<sub>sup</sub> = concentração de FDNi no suplemento (kg); FDNi<sub>forragem</sub> = concentração de FDNi na forragem (kg/kg) e CMS<sub>sup</sub> = consumo de matéria seca do suplemento (kg/d).

O líquido ruminal foi analisado quanto à concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR), pela técnica colorimétrica (CHANEY e MARBACH, 1962) substituindo-se o fenol por salicilato de sódio (FELIX e CARDOSO, 2004). Para a análise de ácidos graxos voláteis (AGV) as amostras foram filtradas através de um filtro PES de 0,45 µm e analisadas por cromatografia líquida de alta performance (Shimadzu LC-20A Proeminence), utilizando uma coluna Prevail Organic Acid 250 × 4,6 mm com um detector de arranjo de diodos (210 nm). A fase móvel foi de 25 mM em fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min e a temperatura foi de 40 °C.

As amostras de soro foram analisadas quanto à concentração de ureia pelo método enzimático utilizando um kit comercial (Analisa®, Belo Horizonte, MG, Brasil). As amostras de urina foram analisadas quanto ao teor de proteína bruta (PB, método n° 954.01), segundo a AOAC (1990); concentrações urinárias de creatinina e ácido úrico, através de kits comerciais (Analisa®, Belo Horizonte, MG, Brasil) e alantoína urinária por cromatografia líquida de alta performance (GEORGE et al., 2006).

O volume urinário diário foi calculado pela equação proposta por Costa e Silva (2012):

$$EC = 0,0345 \times PC^{0,9491}$$

Em que: EC = excreção diária de creatinina (g/d); PC = peso corporal em jejum (kg).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina. As purinas absorvidas foram calculadas de acordo com Barbosa et al. (2011):



$$PA = \frac{DP - 0,301 \times PC^{0,75}}{0,80}$$

Em que: PA = purinas absorvidas (mmol/d); DP = derivados de purina excretados (mmol/d); 0,301 é a excreção endógena de derivados de purina na urina (mmol) por unidade de peso metabólico ( $PC^{0,75}$ ); e 0,80 é a recuperação de purina absorvida como derivado de purina na urina (mmol/mmol).

A síntese ruminal de compostos nitrogenados microbianos foi calculada em função das purinas absorvidas (PA), segundo a equação descrita por Barbosa et al. (2011):

$$Nmic = \frac{70 \times PA}{0,93 \times R \times 1000}$$

Em que: *Nmic* = fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (g/dia); 70 = conteúdo de nitrogênio nas purinas (mg de N/mol); 0,93 é a digestibilidade verdadeira das purinas microbianas; R = relação N purina: N total em bactérias (0,134).

#### 3.2.4 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 2, com quatro tratamentos (adição ou não de enzima e duas quantidades de suplemento concentrado), conforme o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + E_i + S_j + P_k + (E \times S)_{ij} + e_{ij}$$

onde  $Y_{ij}$  é a variável dependente;  $\mu$  = média geral;  $E_i$  é o efeito fixo da enzima;  $S_j$  é o efeito fixo da quantidade de suplemento concentrado;  $P_k$  é o efeito aleatório do piquete;  $(E \times S)_{ij}$  é a interação entre os principais efeitos; e  $e_{ij}$  é o erro aleatório associado a  $Y_{ij}$ , distribuído como  $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$ .

Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS (Institute Inc., Cary, NC, USA). O peso corporal inicial foi utilizado como covariável nas análises finais de peso corporal. Todas as avaliações estatísticas foram realizadas considerando o nível de significância de 5%.

### 3.3 Resultados

A disponibilidade média de forragem ao longo do estudo foi de 2.653 kg MS/ha. Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre a adição de enzima e a quantidade de suplemento concentrado para nenhuma das variáveis analisadas.

A adição da enzima não apresentou efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o consumo de matéria seca da forragem, matéria seca total, proteína bruta, fibra em detergente neutro, matéria orgânica, amido e matéria orgânica digestível (Tabela 2). Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da quantidade de suplemento concentrado no consumo de matéria seca da forragem, matéria seca total, proteína bruta, fibra em detergente neutro. A quantidade de 6 g/kg de PC de suplemento concentrado aumentou o consumo de matéria seca do suplemento ( $P < 0,01$ ), matéria orgânica ( $P = 0,01$ ), amido ( $P < 0,01$ ) e matéria orgânica digestível ( $P = 0,02$ ). A adição da enzima  $\alpha$ -amilase e a quantidade de suplemento concentrado não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) sobre a digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, matéria orgânica e amido (Tabela 3).

A adição da enzima  $\alpha$ -amilase diminuiu ( $P < 0,05$ ) as concentrações de NUS, sem afetar ( $P > 0,05$ ) as variáveis de pH ruminal, NAR, NUS, ENU,  $N_{mic}$  e AGV (Tabela 4). Contudo, a quantidade de suplemento concentrado não afetou ( $P > 0,05$ ) o pH ruminal, NAR, NUS, ENU,  $N_{mic}$  e AGV (Tabela 4).

A adição da  $\alpha$ -amilase não apresentou efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o peso corporal final, ganho de peso e ganho médio diário. Por outro lado, houve efeito ( $P < 0,05$ ) da quantidade de suplemento concentrado, sendo observada uma maior resposta no peso corporal final, ganho de peso e ganho médio diário nas novilhas que receberam 6 g/kg PC (Tabela 5).

### 3.4 Discussão

A disponibilidade média de forragem durante o período experimental não limitou o consumo voluntário de forragem das novilhas, que geralmente ocorre quando a disponibilidade fica abaixo de 1.800 kg MS/ha (Greenwood, 2017). A qualidade das forrageiras tropicais geralmente é caracterizada pelo teor proteico. Mesmo quando a forrageira é considerada de média a alta qualidade, como no presente estudo (141 g de PB/kg MS), o fornecimento de energia através da suplementação concentrada é fundamental para proporcionar efeitos positivos no metabolismo de nitrogênio, com um aumento na assimilação de nitrogênio no ambiente ruminal e melhora na eficiência de utilização de proteínas metabolizáveis,

proporcionando um aumento no desempenho nutricional e produtivo dos animais (SOUZA et al., 2010; FRANCO et al., 2017; PALMA et al., 2023).

Grandes quantidades de suplemento concentrado aumentam a disponibilidade de amido no ambiente ruminal, podendo sobrecarregar a produção enzimática de  $\alpha$ -amilase pelas bactérias amilolíticas e, conseqüentemente, limitar a digestão do amido. Logo, a adição de enzima  $\alpha$ -amilase exógena pode ser benéfica para aumentar essa digestão. Contudo, a ausência de efeito na interação entre a adição da enzima e a quantidade de suplemento concentrado pode ser explicada pela flutuação da população microbiana, principalmente as bactérias amilolíticas, devido à baixa sincronia entre o consumo de volumoso e concentrado que ocorre na dieta de bovinos de corte a pasto. Além disso, o tamanho das partículas de alimentos e a interação com outros componentes da dieta podem afetar a extensão da digestão do amido (GIUBERTI et al., 2014).

A ausência de efeito da adição de amilase na dieta de ruminantes em confinamento sobre o consumo de nutrientes é relatada por outros autores na literatura (NOZIERE et al., 2014; VARGAS-RODRIGUEZ et al., 2014; ZILIO et al., 2019). Hristov et al. (1999) avaliando o efeito do tipo de dieta na atividade enzimática do fluido ruminal, observaram um aumento significativo na atividade da amilase quando os bovinos foram alimentados com uma dieta rica em grãos em comparação a uma dieta rica em forragem. O aumento nos consumos de MO, amido e MOD com elevação da quantidade de suplemento ofertado pode ser atribuído ao aumento do fornecimento de energia total ingerida, sem alterar a ingestão de forragem. Esta resposta benéfica no consumo ocorre quando existe efeito associativo positivo entre consumo de concentrado e forragem, normalmente observado quando não há quantidades excessivas de amido no rúmen (LAZZARINI et al., 2016).

Efeitos negativos da suplementação energética no consumo e na digestibilidade da forragem são menores quando o teor proteico da forragem é alto (VALENTE et al. 2013). Além disso, a qualidade da forragem ingerida pelas novilhas (141 g de PB/kg MS), ficou acima do teor proteico considerado mínimo (70 g de PB/kg de MS) para que haja crescimento microbiano adequado e próximo ao valor considerado ótimo (145 g PB/kg MS) para que ocorra a ingestão voluntária para o máximo aproveitamento da FDN (LAZZARINI et al., 2009; DETMANN et al., 2014), o que pode explicar a ausência de efeito da quantidade de suplementação no consumo e digestibilidade da forragem e da FDN.

O aumento da ingestão de carboidratos rapidamente degradáveis com o aumento da quantidade de suplementação na dieta não reduziu a digestibilidade da FDN, indicando que não houve efeitos negativos causados pela competição entre os microrganismos. O processo de

hidrólise do amido no ambiente ruminal ocorre pela ação de enzimas secretadas por microrganismos ruminais, principalmente pelas bactérias amilolíticas. A oferta de amido na dieta de bovinos de corte mantidos em pastagens pode favorecer o crescimento de bactérias degradadoras de amido e aumentar a competição por substratos essenciais entre os diferentes microrganismos ruminais, reduzindo assim as atividades das bactérias fibrolíticas, e consequentemente a fermentação de fibras no rúmen (CARVALHO et al., 2011, ZHANG et al., 2022). O mecanismo de alimentação cruzada entre microrganismos permite que a hidrólise do amido forneça substratos tanto para bactérias amilolíticas quanto para as não amilolíticas (TRICARICO et al., 2007). Essa interação microbiana pode ter contribuído para minimizar as alterações no ambiente ruminal quando elevou a quantidade de amido na dieta, evitando prejudicar o crescimento de microrganismos fibrolíticos.

A ausência de efeito da adição de  $\alpha$ -amilase sobre pH ruminal, NAR e AGV pode ser atribuído pela baixa alteração na taxa e/ou extensão da degradação ruminal do amido, sugerindo que não houve grandes mudanças no perfil de fermentação ruminal (ANDREAZZI et al., 2018). Como observado neste estudo, outros autores (ANDREAZZI et al., 2018; ZILIO et al., 2019; PECH-CERVANTES et al., 2022) não encontraram efeito sobre o pH ruminal, concentrações de NAR e perfil de AGV em vacas em lactação alimentadas com  $\alpha$ -amilase.

As concentrações de NUS ficaram dentro dos valores de referência (11 a 15 mg/dL) para novilhas de corte, indicando que não houve deficiência ou excesso de proteína (Byers e Moxon, 1980). Contudo, a redução na concentração de NUS com a adição da enzima  $\alpha$ -amilase pode ser explicada por uma possível assimilação de carbono e nitrogênio, proporcionada por uma relação energia:proteína ideal para o crescimento microbiano, o qual minimizou a excreção de nitrogênio (SOUZA et al., 2010; DETMANN et al., 2014).

A ausência de efeitos da adição de  $\alpha$ -amilase sobre consumo e digestibilidade da dieta resultaram na manutenção do desempenho produtivo das novilhas. A quantidade de fornecimento do suplemento concentrado pode ter sido baixa para proporcionar algum efeito da enzima. A ausência de efeito com a adição de  $\alpha$ -amilase no desempenho de ruminantes tem sido relatada por outros autores, devido a vários fatores que podem influenciar os resultados como os métodos de processamento dos grãos, baixa atividade de amilase, competição entre microrganismos no rúmen e a digestão compensatória de amido no intestino posterior (DILorenzo et al., 2011; GALLO et al., 2016; TAKIYA et al., 2017).

O aumento no desempenho das novilhas com o acréscimo da quantidade de suplemento concentrado, pode ser explicado pelo aumento na ingestão energética através da suplementação propriamente dita, uma vez que para aumentar o ganho de peso corporal em bovinos é

necessário que se tenha o fornecimento de aminoácidos e energia para o metabolismo tecidual, os quais dependem do potencial genético do animal e das suas exigências nutricionais (BARBIZAN et al., 2020). Outros estudos com novilhas a pasto recebendo suplementação concentrada também observaram um maior ganho de peso com o aumento da quantidade de suplementação concentrada (ORTEGA et al., 2020; DA MATA et al., 2022). O aumento da quantidade de suplemento, mantendo o equilíbrio de energia e proteína da dieta, não prejudica o consumo de pasto e incrementa o consumo de nutrientes pelos animais (DETMANN et al., 2014; BARBIZAN et al., 2020).

Apesar dos vários estudos realizados com vacas de leite e bovinos de corte em confinamento utilizando  $\alpha$ -amilase exógena, os diferentes resultados tornam-se um desafio para os nutricionistas de ruminantes recomendarem doses enzimáticas (ZILIO et al., 2019). Novas pesquisas devem ser realizadas avaliando a adição de enzima  $\alpha$ -amilase em níveis maiores de suplementação para bovinos de corte mantidos em pastagem tropical, devido aos resultados inconsistentes na literatura.

### **3.5 Conclusão**

A adição de enzima  $\alpha$ -amilase em quantidades baixa/moderada de suplemento concentrado não melhora o desempenho nutricional e produtivo de novilhas de corte mantidas em pastagem tropical. A oferta moderada (6 g/kg PC) de suplemento concentrado aumenta o desempenho produtivo de novilhas.

### 3.6 Referências

- ANDREAZZI, A.S.R.; PEREIRA, M.N.; REIS, R.B. et al. [2018]. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. **Journal Dairy Science**, v.101, p.7199–7207. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2017-14331>>
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington DC:AOAC International, 1990.
- ARRIOLA, K.G.; OLIVEIRA, A.S.; MA, Z.X. et al. [2017]. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.6, p.4513-4527, 2017.
- BARBIZAN, M.; VALENTE, E.E.L.; DAMASCENO, M.L. et al. [2020]. Balanced protein/energy supplementation plan for beef cattle on tropical pasture. **Livestock Science**, v.241, p.104211, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104211>>
- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. [2011]. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle1. **Journal of Animal Science**, v.89, p.510–519, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas.2009-2366>>
- BOEHLKE, C.; ZIERAU, O.; HANNIG, C. [2015]. Salivary amylase - The enzyme of unspecialized euryphagous animals. **Archive Oral Biology**, v.60, p.1162–1176, 2015. Disponível em: <[10.1016/j.archoralbio.2015.05.008](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.008)>
- BYERS, F.M.; MOXON, A.L. [1980]. Protein and selenium levels for growing and finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.50, p.1136–1144.
- CARVALHO, I.P.C.; DETMANN, E.; MANTOVANI, H.C. et al. [2011]. Growth and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid according to energy or nitrogen source. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.6, p.1260-1265, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600014>>
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. [1962]. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clin. Chem.** v.8, p.130–132, 1962. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/AC60252A045>>
- COSTA E SILVA, L.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. et al. [2012]. Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.807–810. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000300046>>
- DAMASCENO, M.L.; VALENTE, E.E.L.; BARBIZAN, M. et al. [2021]. Are the effects of dietary lipid content in grazing beef cattle independent of the amount of concentrate supplement? **Semina: Ciências Agrárias**, v.42, n.2, p.827-844, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n2p827>>
- DA MATA, V.J.; DE OLIVEIRA, L.R.; DETMANN, E. et al. [2022]. Does a high or moderate nutritional supplementation affect the puberty and productive performance of nellore

- heifers? **Bioscience Journal**, v.38, p.1981-3163, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.14393/BJ-v38n0a2022-61302>>
- DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BATISTA, E.D. et al. [2014]. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v.162, p.141–153, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.029>>
- DETMANN, E.; BATISTA, E.D.; SILVA, T.E. et al. Metabolismo do Nitrogênio em Bovinos em pastejo nos Trópicos. In: Rodrigues, R.C., Santos, J.O. (Eds.), *Pecuária 4.0: uma nova visão para a gestão da propriedade*. Edufma, São Luís, Maranhão, Brazil, pp. 121–155.
- DILORENZO, N.; SMITH, D.R.; QUINN, M.J. et al [2011]. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**, v.137, n.1-3, p.178-184, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.11.003>>
- FELIX, E.P.; CARDOSO, A.A. [2004]. Amônia (NH<sub>3</sub>) atmosférica: fontes, transformação, sorvedouros e métodos de análise. **Química Nova**, v.27, p. 123–130, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100022>>
- FIGUEIREDO, D.M.; PAULINO; M.F.; SALES, M.F.L. et al. [2011]. Levels of ground corn supplied to beef heifers at pasture during the rainy season: productive performance, intake, digestibility, and microbial efficiency. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2523-2531, 2011.
- FRANCO, M.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. [2017]. Intake, digestibility, and rumen and metabolic characteristics of cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and different levels of starch. **Asian-Austral Journal Animal Science**, v.30, p.797–803, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.16.0629>>.
- GALLO, A.; GIUBERTI, S.G.; DUVAL, M. et al. [2016]. Short communication: The effect of an exogenous enzyme with amylolytic activity on gas production and in vitro rumen starch degradability of small and large particles of corn or barley meals. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.3602–3606, 2016. Disponível em: <[doi:10.3168/jds.2015-9904](https://doi.org/10.3168/jds.2015-9904)>
- GANDRA, J. R.; MIRANDA, G.R.; GOES, R. H. T. B. et al. [2017]. Fibrolytic enzyme supplementation through ruminal bolus on eating behavior, nutrient digestibility and ruminal fermentation in Jersey heifers fed either corn silage- or sugarcane silage-based diets. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.231, p.29–37, 2017. <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.06.009>>
- GENCOGLU, H.; SHAVER, R.D.; STEINBERG, W. et al. [2010]. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.2, p.723-732, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2673>>
- GEORGE, S.K.; DIPU, M.T.; MEHRA, U.R. et al. [2006]. Improved HPLC method for the simultaneous determination of allantoin, uric acid and creatinine in cattle urine. **J.**

- Chromatogr**, p.134–137, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.10.051>>
- GIUBERTI, G.; GALLO, A.; MASOERO, F. et al. [2014]. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. **Starch-Stärke**, v.66, n.1-2, p.72-90, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/star.201300177>>
- GOMES, D.Í.; SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E. et al. [2014]. Utilização de enzimas industriais na avaliação da fibra insolúvel em detergente neutro em amostras com alto teor de amido. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.2629-2642, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n4Suplp2629>>
- HALL, M.B. [2009]. Determination of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: Comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.92, n.1, p.42-49, 2009.
- HRISTOV, A.N.; MCALLISTER, T.A.; CHENG, K.J. [1999]. Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal content. **Can. J. Anim. Sci.** v.79, p.73–81, 1999.
- KLINGERMAN, C.M.; HU, W.; MCDONELL, E.E. et al. [2009]. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. **Journal of dairy science**, v.92, n.3, p.1050-1059, 2009. Disponível em: <doi:10.3168/jds.2008-1339>.
- KREIKEMEIER K.K; HARMON D.L.; PETERS J.P. et al. [1990]. Influence of dietary forage and feed intake on carbohydrase activities and small intestinal morphology of calves. **Journal of Animal Science**, v.68, p.2916–2929, 1990.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; BATISTA, C. et al. [2009]. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.2021–2030, 2009.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. [2016]. Nutritional performance of cattle grazing during rainy season with nitrogen and/or starch supplementation. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.29, p.1120–1128, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.15.0514>>.
- MERTENS, D.R.; ALLEN, M.; CARMANY, J. et al. et al. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **J. AOAC Int.** 85, p.1217–1240, 2002.
- MESCHIATTI, M.A.P.; GOUVÊA, V.N.; PELLARIN, L.A. et al. [2019]. Feeding the combination of essential oils and exogenous  $\alpha$ -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.97, p.456–471, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/sky415>>.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. [2004]. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179–183, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/2004.821179x>>



- NOZIÈRE, P.; STEINBERG, W.; SILBERBERG, M. et al. [2014]. Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.4, p.2319-2328, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2013-7095>>
- ORTEGA, R.M.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. [2020]. Nutritional strategies for heifers under grazing system: productive and nutritional performance, metabolic profile and ovarian activity. *Tropical Animal Health Production*, v.52, p.1013–1022, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11250-019-02095-7>>
- PALMA, M.N.; REIS, W.L.; RODRIGUES, J.P. et al. (2023). Strategies of energy supplementation for cattle fed tropical forage and infrequently supplemented with protein. **Animal Feed Science and Technology**, v.297, p. 15599, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115599>>
- PECH-CERVANTES, A.A.; FERRARRETTO, L.F.; OGUNADE, I.M. [2022]. Meta-analysis of the effects of the dietary application of exogenous alpha-amylase preparations on performance, nutrient digestibility, and rumen fermentation of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.100, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/skac189>>
- SOUZA, M.A.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F. et al. [2010]. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health Production**, v.42, p.1299–1310, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11250-010-9566-6>>.
- TAKIYA, C.S.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H. et al. [2017]. Increasing dietary doses of an *Aspergillus oryzae* extract with alpha-amylase activity on nutrient digestibility and ruminal fermentation of lactating dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v.228, p.159–167, 2017. Disponível em: <[10.1016/j.anifeedsci.2017.04.017](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.04.017)>
- TOSETI, L.B.; GOULART, R.S.; GOUVÊA, V.N. et al. [2020]. Effects of a blend of essential oils and exogenous  $\alpha$ -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.269, p.114643, 2020.
- TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D.; DAWSON, K.A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae*  $\alpha$ -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.136-150, 2008. <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.017>>.
- VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, L.F.C.E; GIONBELLI, M.P. et al. [2016]. **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados - BR-CORTE**. 3ed. UFV, Viçosa. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/978-85-8179-111-1.2016B001>>
- VALENTE, E.E.L.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. [2013]. Performance of young bulls supplemented with different relation of protein and carbohydrate from suckling phase until slaughter in tropical pasture. **Journal of Animal Plant Science**, v.18, p.2711-2722, 2013.

- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.C. et al. [2011]. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2565–2573, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011001100039>>
- VASCONCELOS, J.T.; GALYEAN, M.L. [2007]. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2007 Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v.85, p.2772–2781, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0261>>
- WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMAA, O., [1962]. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Agriculture Science**, v.59, p.381–385, 1962. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S002185960001546X>>
- ZHANG, T.; MU, Y.; ZHANG, R. et al. [2022]. Responsive changes of rumen microbiome and metabolome in dairy cows with different susceptibility to subacute ruminal acidosis. **Animal Nutrition**, v.8, n.1, p.331-340, 2022.
- ZILIO, E.M.; DEL VALLE, T.A.; GHIZZI, L.G. et al. [2019]. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, n.5, p.4179-4189, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14949>>

### Anexo tabelas: Artigo Enzima

Tabela 1. Composição química do suplemento e do pasto

Ingredientes (g/kg MS)	3 g/kg PC	6 g/kg PC
Milho	919	907
Farelo Soja	81	93
Mistura mineral <sup>1</sup>	<i>ad libitum</i>	<i>ad libitum</i>
Composição química (g/kg)	Suplemento	Pastagem <sup>2</sup>
Matéria seca	888 ± 0,001	232 ± 0,00
Matéria orgânica	977 ± 0,29	921 ± 0,08
Proteína bruta	126 ± 0,15	141 ± 0,08
Fibra em detergente neutro	168 ± 0,04	644 ± 0,48
Amido	788 ± 0,30	36 ± 0,00

Suplementação: 3 ou 6 g/kg do peso corporal

<sup>1</sup> Ca - 215 g/kg, P - 65 g/kg, Co - 45 mg/kg, Mg - 12 g/kg, Mn - 425 mg/kg, Zn - 1.900 mg/kg, Se - 35 mg/kg. I - 65 mg/kg. S - 10 g/kg. F - 650 mg/kg. Fe - 1.700 mg/kg. Cu - 800 mg/kg. Na - 75g/kg.

<sup>2</sup> Amostra da simulação manual de pastejo.

Tabela 2. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para o consumo voluntário de novilhas de acordo com o plano de suplementação.

Item	3 g/kg PC		6 g/kg PC		EPM	Enz <sup>1</sup>	Sup <sup>2</sup>	Enz x Sup
	0 KNU	667 KNU	0 KNU	667 KNU				
Ingestão (kg/d)								
MSF	5,43	5,39	5,00	4,64	0,71	0,769	0,391	0,806
MSSUP	1,12	1,15	2,35	2,37	0,27	0,928	<.0001	0,992
MST	6,55	6,54	7,35	7,01	0,79	0,813	0,405	0,826
PB	0,90	0,90	1,01	0,96	0,11	0,807	0,451	0,823
FDN	3,68	3,66	3,61	3,38	0,46	0,776	0,691	0,807
MO	6,10	6,29	8,02	7,29	0,65	0,376	0,011	0,766
AMIDO	1,08	1,10	2,02	2,02	0,22	0,957	<0,001	0,969
MOD	3,80	3,61	5,52	4,99	0,65	0,571	0,023	0,786

Suplementação = 3 ou 6 g/kg de PC;

Nível de enzima = 0 ou 667 KNU/kg de concentrado;

<sup>1</sup>Enz = efeito da adição de enzima; <sup>2</sup>Sup = efeito da quantidade de suplemento; Enz x Sup = efeito da interação enzima e suplemento;

MSF = matéria seca da forragem; MSSUP = matéria seca do suplemento; MST = matéria seca total; PB= proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; MO = matéria orgânica; MOD = matéria orgânica digestível

Tabela 3. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para o coeficiente de digestibilidade aparente de novilhas de acordo com o plano de suplementação.

Item	3 g/kg PC		6 g/kg PC		EPM	Enz <sup>1</sup>	Sup <sup>2</sup>	Enz x Sup
	0 KNU	667KNU	0 KNU	667KNU				
CDMS	58,75	61,15	60,18	60,80	3,10	0,633	0,864	0,778

CDPB	57,79	61,59	55,20	54,46	4,62	0,745	0,308	0,630
CDFDN	64,41	66,63	65,84	65,85	2,23	0,625	0,886	0,627
CDMO	63,46	62,89	67,25	67,98	4,15	0,985	0,300	0,877
CDAMIDO	91,35	91,63	89,46	90,56	1,96	0,730	0,462	0,838

Suplementação = 3 ou 6 g/kg de PC;

Nível de enzima = 0 ou 667KNU/kg de concentrado;

<sup>1</sup>Enz = efeito da adição de enzima; <sup>2</sup>Sup = efeito da quantidade de suplemento; Enz x Sup = efeito da interação enzima e suplemento;

MS = matéria seca; PB= proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; MO = matéria orgânica.

Tabela 4. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para os parâmetros ruminais, metabólitos sanguíneos e excreção de nitrogênio com o plano de suplementação.

Item	3 g/kg PC		6 g/kg PC		EPM	P-valor		
	0 KNU	667KNU	0 KNU	667KNU		Enz <sup>1</sup>	Sup <sup>2</sup>	Enz x Sup
pH ruminal	7,15	7,11	7,07	7,10	0,06	0,935	0,380	0,559
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)	11,94	10,39	10,88	10,91	0,89	0,404	0,763	0,385
NUS (mg/dL)	15,44	12,93	15,06	13,90	0,65	0,012	0,652	0,312
ENU (g/d)	83,47	60,46	73,98	72,80	11,79	0,312	0,904	0,361
N <sub>mic</sub> (g/d)	132,57	113,16	115,28	93,27	38,20	0,586	0,625	0,973
AGV total (mM)	41,55	53,95	57,40	50,70	8,90	0,751	0,483	0,290
Acetato (mM)	21,07	29,41	26,71	23,58	2,85	0,366	0,975	0,051
Propionato (mM)	5,91	8,42	7,59	7,13	0,84	0,226	0,813	0,084
Butirato (mM)	14,58	16,13	23,11	19,99	5,79	0,893	0,291	0,689
Acetato:Propionato	3,88	3,64	3,62	3,45	0,37	0,591	0,545	0,925

Suplementação = 3 ou 6 g/kg de PC;

Nível de enzima = 0 ou 667KNU/kg de concentrado;

<sup>1</sup>Enz = efeito da adição de enzima; <sup>2</sup>Sup = efeito da quantidade de suplemento; Enz x Sup = efeito da interação enzima e suplemento;

N-NH<sub>3</sub> = concentração de nitrogênio amoniacal ruminal; NUS = nitrogênio ureico sérico; ENU = excreção de nitrogênio urinário; N<sub>mic</sub> = fluxo intestinal de compostos de nitrogênio microbiano.

Tabela 5. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para o desempenho de novilhas de acordo com o plano de suplementação.

Item	3 g/kg PC		6 g/kg PC		EPM	P-valor		
	0 KNU	667KNU	0 KNU	667KNU		Enz <sup>1</sup>	Sup <sup>2</sup>	Enz x Sup
PCF (kg)	360,60	360,34	379,72	387,08	5,08	0,488	<.0001	0,456
GMD (kg)	0,51	0,51	0,72	0,80	0,06	0,488	<.0001	0,456
GP (kg)	45,94	45,97	65,05	72,41	5,08	0,488	<.0001	0,456

Suplementação = 3 ou 6 g/kg de PC;

Nível de enzima = 0 ou 667 KNU/kg de concentrado;

<sup>1</sup>Enz = efeito da adição de enzima; <sup>2</sup>Sup = efeito da quantidade de suplemento; Enz x Sup = efeito da interação enzima e suplemento;  
PCF = peso corporal final; GP = ganho de peso; GMD = Ganho médio diário

#### **4 BIocolina para bovinos recebendo dieta com grão de soja inteiro**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o efeito da administração de biocolina, como fonte de fosfatidilcolina, no rúmen ou no abomaso sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e parâmetros sanguíneos de bovinos recebendo dietas com grão de soja inteiro. Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, da raça Jersey, com peso corporal de  $791,60 \pm 14,95$  kg, portadores de cânula ruminal distribuídos em quadrado latino  $5 \times 5$ , em esquema fatorial  $2 \times 2 + 1$ . Os tratamentos utilizados foram duas doses de biocolina (3 e 6 g de biocolina/100 kg do peso corporal), dois locais de administração de biocolina (rúmen e abomaso) e um tratamento controle o qual não foi administrado a biocolina. Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre o local e a dose de administração da biocolina para as variáveis analisadas. Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) de dose ou local sobre o consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e sanguíneos. A administração de 6 g de biocolina/100 kg PC no rúmen mostrou uma tendência para aumento ( $P < 0,10$ ) do coeficiente de digestibilidade de extrato etéreo. Doses superiores a 6 g de biocolina/100 kg de PC podem ser avaliadas em estudos futuros para melhor entendimento do potencial da biocolina como emulsificante em dietas com teor de lipídios elevados e fontes de rápida liberação para bovinos.

**Palavras-chave:** aditivo, extrato de plantas, fosfatidilcolina, lipídios, metabolismo

#### 4 BIOCHOLINE FOR BOVINE RECEIVING WHOLE SOYBEAN DIET

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the effect of administering biocoline, as a source of phosphatidylcholine, into the rumen or abomasum on the consumption and digestibility of nutrients, rumen parameters and blood parameters of cattle fed diets containing whole soybeans. Five castrated male Jersey cattle with a body weight of  $791.60 \pm 14.95$  kg and a rumen cannula were used in a  $5 \times 5$  Latin square,  $2 \times 2 + 1$  factorial design. The treatments used were two doses of biocoline (3 and 6 g of biocoline/100 kg of body weight), two biocoline administration sites (rumen and abomasum) and a control treatment in which no biocoline was administered. There was no interaction ( $P > 0.05$ ) between the place and dose of biocoline administration for the variables analyzed. There was no effect ( $P > 0.05$ ) of dose or site on consumption, digestibility, rumen and blood parameters. The administration of 6 g of biocoline/100 kg CP in the rumen showed a tendency for the coefficient of digestibility of ether extract to increase ( $P < 0.10$ ). Doses higher than 6 g biocoline/100 kg CP could be evaluated in future studies to better understand the potential of biocoline as an emulsifier in diets with high lipid content and fast-release sources for cattle.

**Keywords:** additive, plant extract, phosphatidylcholine, lipids, metabolism

## 4.1 Introdução

A utilização de lipídeos na dieta de ruminantes pode elevar o consumo de energia (CÔNSOLO et al., 2017). Entretanto, a inclusão deve ser feita com cautela devido à toxicidade que os ácidos graxos insaturados têm sobre os microrganismos ruminais (JENKINS et al., 2008; BETTERO et al., 2013). O uso de grão de soja inteiro como alternativa ao farelo de soja oferece diversas vantagens na dieta de ruminantes, por ser uma fonte rica em proteína e possuir um alto teor de lipídio protegido por uma matriz proteica, que permite uma liberação mais lenta no ambiente ruminal, reduzindo os efeitos negativos dos lipídios na digestibilidade da fibra (RENNÓ et al., 2015; BETTERO et al., 2017).

Para ruminantes, a digestão e absorção dos lipídios são dependentes de processos realizados no rúmen e no intestino delgado. No rúmen, os lipídios sofrem a lipólise e biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados (JENKINS, 1993). Contudo, um processo importante na digestão de lipídios é a emulsificação dos ácidos graxos (KOZLOSKI, 2011). Para ruminantes, a emulsificação ocorre no intestino delgado, através da formação de micelas que são constituídas principalmente por fosfolipídios oriundos da bile que garantem a absorção dos lipídios nas microvilosidades intestinais (MCFADDEN, 2019).

A fosfatidilcolina é um fosfolipídio e pode ser considerada como um emulsificante. A biocolina é uma fonte de fosfatidilcolina e apresenta proteção natural à degradação pelos microrganismos ruminais (MARTÍNEZ-AISPURO et al., 2019). Logo, poderia agir como um emulsificante no ambiente ruminal, auxiliando no transporte de lipídios, reduzindo os efeitos negativos dos lipídios sobre os microrganismos ruminais e melhorando a absorção intestinal. Hipotetizamos que o fornecimento ruminal e/ou abomasal de biocolina como fonte de fosfatidilcolina na dieta de ruminantes aumenta a digestibilidade e absorção de extrato etéreo. O objetivo foi avaliar o efeito da administração de biocolina no rúmen ou no abomaso sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e parâmetros sanguíneos de bovinos recebendo dietas com grão de soja inteiro.

## 4.2 Material e métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/ Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Protocolo n° 11/21), de acordo com os princípios éticos de



experimentação animal estabelecidos pelo Conselho Brasileiro de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

#### 4.2.1 Animais, dietas e design experimental

O experimento foi realizado entre os meses de maio a agosto de 2021, no setor de Bovinocultura de Leite da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa (-24°53'19" S, -54°01'88" W), situada no município de Marechal Cândido Rondon. O protocolo experimental foi de 75 dias, sendo composto por cinco períodos experimentais de 15 dias (10 dias destinados à adaptação dos animais e cinco dias para as coletas de dados).

Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, da raça Jersey, com peso corporal de  $791,60 \pm 14,95$  kg, portadores de cânula ruminal distribuídos em quadrado latino  $5 \times 5$ , em esquema fatorial  $2 \times 2 + 1$  para avaliar duas doses de biocolina (3 e 6 g de biocolina/100 kg do peso corporal), dois locais de administração de biocolina (rúmen e abomaso) e um tratamento controle o qual não foi administrado a biocolina. A biocolina utilizada como fonte de fosfatidilcolina foi a Biocolina Powder® (Nutriquest Technofeed Nutrição Animal Ltda., Campinas, SP, Brasil).

Os animais foram mantidos em um piquete sombreado, desprovido de alimento com acesso livre ao bebedouro e nos horários de fornecimento da dieta, foram conduzidos até um estábulo coberto tipo tie-stall (4 m<sup>2</sup>) em baias com cocho individual para controle do consumo da dieta e bebedouros com água fornecida *ad libitum*. No início de cada período, os animais foram pesados para o ajuste da quantidade de fornecimento da dieta e quantidade de biocolina administrada via rúmen ou abomaso.

Os animais receberam uma dieta com relação volumoso:concentrado de 50:50. As sobras foram pesadas diariamente para o ajuste da dieta, garantindo 95% do consumo *ad libitum* que foi o observado durante o período de adaptação. As amostras das sobras diárias foram acondicionadas em sacos identificados, conservadas a -20 °C e no final de cada período foram homogeneizadas e retiradas alíquotas para formar uma amostra composta por animal para posteriores análises.

O volumoso foi composto por fenos de *Panicum maximum* cv. Áries e *Avena strigosa* cv. Aveia Preta e o concentrado por milho moído e grão de soja inteiro, considerando o teor de extrato etéreo e proteína bruta da dieta de 5% e 13%, respectivamente (Tabela 1). A dieta foi pesada diariamente e fornecida duas vezes ao dia (às 6:30 e às 16:00 horas) sendo 50% ofertada em cada horário. Todos os animais receberam mistura mineral comercial *ad libitum*. Antes da

administração, a biocolina foi dissolvida em 500 mL de água destilada em uma temperatura de 25°C. As infusões foram realizadas diretamente no rúmen ou no abomaso dos animais, sendo administrada 50% da dose diária antes de cada refeição. As infusões ruminais foram realizadas via cânula ruminal. As infusões intra-abomasal também foram realizadas via cânula ruminal através de uma linha de infusão feita com tubos flexíveis (Tygon) de 6,3 mm ancorado com uma arruela de borracha (60 mm de diâmetro e 4 mm de espessura) através do orifício reticulo-omasal para o abomaso, sendo o pilar omasal usado como um ponto de referência para que a arruela fosse manipulada até o pilar distal. A linha de infusão foi inserida no início do experimento.

A fim de manter as mesmas condições experimentais, nos animais do tratamento controle foram infundidos 500 mL de água destilada no rúmen e no abomaso; os que receberam biocolina no rúmen, foram infundidos 500 mL de água no abomaso e os que receberam biocolina no abomaso, foram infundidos 500 mL de água no rúmen. A água destilada foi administrada em uma temperatura de 25°C.

#### 4.2.2 *Procedimentos experimentais e amostragens*

A avaliação do consumo e digestibilidade da dieta, coletas de líquido ruminal e sangue foram realizadas do 11° ao 15° dia de cada período experimental. O consumo de matéria seca foi determinado pela diferença entre a quantidade fornecida e as sobras diárias. Para a avaliação da digestibilidade da dieta foram coletadas amostras de fezes após a defecação espontânea dos animais em diferentes horários: 11° dia (06h00), 12° dia (08h30min), 13° dia (11h00), 14° dia (13h30min), 15° dia (16h00).

Após as coletas de fezes, amostras de conteúdo ruminal foram coletados em seis diferentes pontos do rúmen com acesso através da cânula ruminal. As amostras foram filtradas com o auxílio de uma peneira para a extração do líquido ruminal. O pH foi mensurado imediatamente após a coleta com o auxílio de um medidor de pH digital (Tecnal, modelo TEC-5). Foi retirada uma alíquota de 1,5 mL de líquido ruminal sendo acidificada com 0,03 mL de ácido sulfúrico (50%) e outra alíquota de 1,2 mL de líquido ruminal acidificada com 0,3 mL de ácido metafosfórico (25%), as quais foram congeladas (-20 °C) para posteriores análises para a determinação dos teores de nitrogênio amoniacal ruminal e dos ácidos graxos voláteis (ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico), respectivamente.

Posteriormente, foram coletadas as amostras de sangue via veia coccígea, utilizando tubos à vácuo, sendo um tubo com anticoagulante para a obtenção do plasma e outro com ativador de

coágulo para a obtenção do soro. As amostras foram mantidas em refrigeração até o momento da centrifugação, que foi realizada a  $1600 \times g$  por 20 minutos. As alíquotas de plasma e soro foram armazenadas em microtubos identificados e posteriormente congeladas ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises.

#### 4.2.3 Análises Laboratoriais

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas em estufas com ventilação forçada de ar a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas, processadas em moinho de facas tipo Willey, em peneira de 1 mm, exceto para a determinação da FDNi, em que foram moídas em peneira de 2 mm.

As amostras foram analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS, método n° 920.39), proteína bruta (PB, método n° 954.01), matéria orgânica (MO, método n° 942.05) como descrito pela AOAC (1990). Para análise da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com  $\alpha$ -amilase termoestável sem sulfito de sódio (Mertens, 2002). O teor de FDNi foi avaliado utilizando sacos de filtro F57 (Ankom, Macedon, NY, EUA) incubados no rúmen por 288 horas (Valente et al., 2011).

Para estimativa da excreção fecal diária foi utilizado como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) nas amostras do fornecido, sobras e fezes, de acordo com a seguinte equação:

$$EF = \frac{CT_{fdni}}{FDNi_{fezes}}$$

Em que: EF = produção fecal (kg/dia);  $CT_{FDNi}$  = consumo total de fibra em detergente neutro indigestível (kg/dia);  $FDNi_{fezes}$  = concentração de FDNi nas fezes (kg/kg).

As amostras de líquido ruminal foram analisadas quanto às concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal ( $\text{N-NH}_3$ ), através de técnica calorimétrica de acordo com Chaney e Marbach (1962) substituindo-se o fenol por solução de salicilato de sódio (12%), segundo Felix e Cardoso (2004). Para a análise de ácidos graxos voláteis (AGV) as amostras foram filtradas através de um filtro PES de  $0,45 \mu\text{m}$  e analisadas por cromatografia líquida de alta performance (Shimadzu LC-20A Proeminence), utilizando uma coluna Prevail Organic Acid  $250 \times 4,6 \text{ mm}$  com um detector de diodos. A fase móvel foi de 25 mM em fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min, a temperatura foi de  $40^{\circ}\text{C}$  e os picos analisados a 210 nm.

As amostras de soro foram analisadas quanto ao teor de nitrogênio ureico sérico, colesterol, triglicerídeos totais, albumina e proteínas totais. As amostras de plasma foram analisadas quanto ao teor de glicose. Os metabólitos sanguíneos foram analisados através de um espectrofotômetro de calibração automática com leitura de alta performance Flexor EL200 (Elitech Group, Netherlands), utilizando reagente, calibradores (Elical II) e padrões de aferição (Elitrol I) da marca Elitech®.

#### 4.2.4 Análise estatística

O experimento foi conduzido em um quadrado latino  $5 \times 5$ , em esquema fatorial  $2 \times 2 + 1$  para avaliar duas doses de biocolina (3 e 6 g de biocolina/100 kg do peso corporal), dois locais de administração de biocolina (rúmen e abomaso) e um tratamento controle que não foi administrado a biocolina. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS (University Edition; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), conforme o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + L_i + D_j + P_k + A_l + (L \times D)_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Em que,  $Y_{ijkl}$  é a variável dependente;  $\mu$  é a média geral;  $L_i$  é o efeito fixo do local de administração da biocolina;  $D_j$  é o efeito fixo da dose de biocolina;  $P_k$  é o efeito aleatório de período ( $k=1$  a  $5$ );  $A_l$  é o efeito aleatório de animal ( $l= 1$  a  $5$ );  $(L \times D)_{ij}$  é a interação entre o local e a dose e  $\varepsilon_{ijkl}$  é o erro aleatório associado a  $Y_{ijkl}$ , distribuído como  $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$ .

As médias dos tratamentos que foram administrados a biocolina foram comparadas ao controle (sem administração de biocolina) pelo teste de Dunnett. O nível de significância foi estabelecido em 0,05 e foi considerada tendência quando  $0,05 < P \leq 0,10$ .

### 4.3 Resultados

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre o local e a dose de administração da biocolina para as variáveis analisadas. O local (rúmen ou abomaso) e a dose (3 ou 6 g de biocolina/100 kg PC) de administração da biocolina não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) no consumo de MS, MO, PB, EE e FDN (Tabela 2).

O local de administração de biocolina não teve efeito ( $P > 0,05$ ) nos coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, EE e FDN. Contudo, a dose de 6 g de biocolina/100 kg PC apresentou tendência ( $P < 0,10$ ) para aumentar o coeficiente de digestibilidade da MO e PB.

Além disso, a administração de 6 g de biocolina/100 kg PC no rúmen mostrou uma tendência para aumento ( $P < 0,10$ ) do CDEE (Tabela 3).

O local e a dose de administração da biocolina não tiveram efeito ( $P > 0,05$ ) sobre o pH ruminal, NAR, total de AGV, acetato, propionato e butirato (Tabela 4). A administração de 3 g de biocolina/100 kg PC tendeu a aumentar ( $P < 0,10$ ) a concentração de acetato quando comparada à administração de 6 g de biocolina/100 kg PC. (Tabela 4).

A dose de administração de biocolina não apresentou efeito ( $P > 0,05$ ) nas concentrações de glicose, albumina, colesterol, triglicerídeos e NUS (Tabela 5). Contudo, em relação ao local, a administração de biocolina no rúmen aumentou ( $P < 0,05$ ) as concentrações de albumina sem alterar ( $P > 0,05$ ) glicose, colesterol, triglicerídeos e NUS.

#### 4.4 Discussão

Lipídios podem ser usados para aumentar a energia da dieta (BETTERO et al., 2017; CÔNSOLO et al., 2017). Entretanto, a utilização de lipídio na dieta de ruminantes pode reduzir o consumo e a digestibilidade de matéria seca e fibra em detergente neutro; reduzir a taxa de passagem do alimento no trato gastrointestinal e expor os ácidos graxos insaturados à biohidrogenação ruminal (RENNÓ et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017; CÔNSOLO et al., 2017; BETTERO et al., 2017). A administração de biocolina no rúmen e/ou no abomaso poderia agir como emulsificante para reduzir os efeitos negativos dos lipídios sobre o consumo e aumentar a digestibilidade e absorção de extrato etéreo. Entretanto, a ausência de efeito sobre o consumo dos animais pode ser explicada pelo fato de que o conteúdo lipídico no grão de soja inteiro é liberado mais lentamente no ambiente ruminal devido à proteção proteica que envolve o grão, reduzindo os efeitos prejudiciais em relação à aderência às partículas de alimentos e aos microrganismos ruminais, consequentemente, podendo reduzir o potencial de emulsificação da biocolina (RENNÓ et al., 2015; BETTERO et al., 2017).

Alguns trabalhos avaliando o fornecimento de biocolina na dieta de ruminantes relatam a ausência de efeito sobre o consumo de nutrientes. Martinez-aispuro et al. (2019) avaliaram o fornecimento de biocolina na dieta de cordeiros e não observaram efeito sobre o consumo de matéria seca. Nunes et al. (2022) fornecendo níveis crescentes de biocolina para vacas no meio da lactação não observaram efeito sobre o consumo de nutrientes, contudo, a biocolina aumentou a digestibilidade de extrato etéreo, associando esse resultado ao metabolismo lipídico (digestão, absorção e transporte de gordura).

A ausência de efeito da biocolina sobre os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes, principalmente da matéria seca e FDN pode ser explicada, assim como discutido anteriormente no consumo, pela fonte lipídica utilizada na dieta dos animais. A matriz proteica que envolve o cotilédone do grão de soja proporciona uma liberação mais lenta do conteúdo lipídico no ambiente ruminal, fazendo com que a capacidade de biohidrogenação dos microrganismos não seja superada, reduzindo os efeitos negativos dos ácidos graxos insaturados aos microrganismos ruminais, principalmente as bactérias fibrolíticas (PALMQUIST, 1991; RENNÓ et al., 2015).

A tendência no aumento da digestibilidade de extrato etéreo com a administração de biocolina pode ser explicada devido à fosfatidilcolina constituir em até 95% os fosfolipídios que compõe a secreção biliar, que juntamente com os ácidos biliares e colesterol formam as micelas, as quais fazem o transporte dos lipídeos para serem absorvidos no intestino delgado dos animais (ALVARO et al., 1986; MCFADENN, 2019). Além disso, a fosfatidilcolina é necessária para a síntese e liberação de quilomícrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) pelas células das vilosidades intestinais (KOO E NOH, 2001). O fornecimento pós-ruminal de fosfatidilcolina poderia aumentar a digestibilidade e absorção de ácidos graxos no intestino (MCFADENN et al., 2019).

O aumento dos níveis lipídicos pode causar variações no pH ruminal (Messana et al., 2013; Santana et al., 2017). Logo, a ação da biocolina como emulsificante no ambiente ruminal poderia controlar essa variação. Entretanto, fontes lipídicas protegidas como os grãos de soja, são menos prejudiciais aos microrganismos ruminais (Demeyer e Van Nevel, 1995; RENNÓ et al., 2015). Além disso, a ausência de efeito sobre o pH ruminal, concentração de nitrogênio amoniacal e concentrações de AGV ruminais sugere que a biocolina não foi capaz de alterar os padrões de fermentação, podendo ser explicado pela proteção natural que a biocolina possui em relação à degradação ruminal (GODÍNEZ-CRUZ et al., 2015; MARTÍNEZ-AISPURO et al., 2019).

A administração de biocolina no rúmen proporcionou maior concentração de albumina sérica, o que pode ser explicado talvez pela tendência no aumento da digestibilidade da PB, uma vez que a albumina é a principal proteína plasmática sintetizada pelo fígado e possui funções importantes como reserva proteica, transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos e metais (ROWLANDS, 1980). Cordeiros alimentados com ração suplementada com biocolina não mostraram alteração na albumina sérica (RODRÍGUEZ-GUERRERO et al., 2018).

A biocolina vegetal vem sendo utilizada na nutrição de ruminantes devido ao alto conteúdo de colina na forma esterificada, como fosfatidilcolina, atuando de maneira eficiente em diferentes atividades metabólicas, como na síntese de lipoproteína de densidade muito baixa

(VLDL), que facilita o transporte de triglicerídeos do fígado para outros tecidos, evitando o acúmulo de gordura (LI E VANCE, 2008; BERCHIELLI et al., 2011). Apesar da importância da fosfatidilcolina sobre o metabolismo lipídico, a ausência de efeito da biocolina sobre níveis circulantes de triglicerídeos pode estar associada ao baixo teor de extrato etéreo na dieta que não proporcionou acúmulo de gordura no fígado dos animais.

A soja é uma fonte de lecitina, a qual é constituída por fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, além de glicolipídeos, triglicerídeos e carboidratos (CHEN et al., 2020). Logo, o grão de soja utilizado na dieta também forneceu quantidades de fosfatidilcolina para o metabolismo dos animais, podendo ter reduzido o potencial efeito da biocolina utilizada como fonte de fosfatidilcolina em nosso estudo.

#### **4.5 Conclusão**

A administração de 6 g de biocolina/100 kg de PC tende a aumentar a digestibilidade aparente de extrato etéreo. Doses superiores a 6 g de biocolina/100 kg de PC podem ser avaliadas em estudos futuros para melhor entendimento do potencial da biocolina como emulsificante em dietas com teor de lipídios elevados e fontes de rápida liberação para bovinos.

#### 4.6 Referências

- ALBA, D.F.; LEAL, K.; CUNHA, M.H. et al. [2021]. Positive effects of biocholine powder dietary supplementation on milk production and quality, and antioxidant responses in lactating ewes: A new nutritional tool. **Heliyon**, v.7, n.4, p.e06732, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06732>>
- ALMEIDA, G.F.; DEL VALLE, T.A.; DE PAIVA, P.G. et al. [2016]. Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. **Animal Production Science**, v.57, n.1, p.122-128, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1071/AN15266>>
- ALVARO, D.; CANTAFORA, A.; ATTILI, A.F. et al. Relationships between bile salts hydrophilicity and phospholipid composition in bile of various animal species. **Comp. Biochem. Physiol.** v.83, n.3, p.551-554, 1986. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(86\)90295-6](https://doi.org/10.1016/0305-0491(86)90295-6)>
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington DC:AOAC International, 1990.
- BERCHIELLI, T.T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. Vitaminas. In: **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p.398.
- BETTERO, V.P.; GANDRA, J.R.; NUNES, H.V.N. et al. [2013]. Sources of omega-6 fatty acids do not alter the rumen degradation and transit of fibre from dairy cow diets. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.22, n.4, p.295-301, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/111555>>
- CÔNSOLO, N.R.B.; GANDRA, J.R.; GARDINAL, R. et al. [2017]. Effect of different dietary inclusion levels of whole raw soybean on ruminal fermentation and nutrient utilization in Nelore steers. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.26, n.4, p.311-318, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.22358/jafs/80904/2017>>
- FELTON, E.E.D.; KERLEY, M.S. (2004). Performance and carcass quality of steers fed whole raw soybeans at increasing inclusion levels. **Journal of Animal Science**, v.82, n.3, p.725-732, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ansci/82.3.725>>
- FONTOURA, A.B.P.; RICO, J.E.; DAVIS, A.N. et al. (2021). Effects of dietary deoiled soy lecithin supplementation on milk production and fatty acid digestibility in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.104, n.2, p.1823-1837, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18797>>
- GODINEZ-CRUZ, J.; CIFUENTES-LÓPEZ, O.; CAYETANO, J. et al. Effect of choline inclusion on lamb performance and meat characteristics. **Journal of Animal Science**, v.93, n.3, p.766, 2015.
- JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P. J. et al. [2008]. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial



- ecosystem. **Journal of Animal Science**, v.86, n.2, p.397-412, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0588>>.
- KOO, S.I.; NOH, S.K. [2001]. Phosphatidylcholine inhibits and lysophosphatidylcholine enhances the lymphatic absorption of  $\alpha$ -tocopherol in adult rats. **The Journal of Nutrition**, v.131, n.3, p.717-722, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jn/131.3.717>>.
- LEAL, K.W.; ALBA, D.F.; CUNHA, M.G. et al. [2021]. Effects of biocholine powder supplementation in ewe lambs: Growth, rumen fermentation, antioxidant status, and metabolism. **Biotechnology Reports**, v.29, p.e00580. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00580>>
- LI, Z.; VANCE, D.E. et al. [2008]. Thematic review series: glycerolipids phosphatidylcholine and choline homeostasis. **Journal of Lipid Research**, v.49, n.6, p.1187-1194, 2008. <<https://doi.org/10.1194/jlr.R700019-JLR200>>.
- MARTÍNEZ-AISPURO, J.A.; MENDOZA, G.D.; CORDERO-MORA, J.L. et al. [2019]. Evaluation of an herbal choline feed plant additive in lamb feedlot rations. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.48, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/rbz4820190020>>.
- MCFADDEN, J. W [2019]. Dietary lecithin supplementation in dairy cattle. Department of Animal Science: Cornell University. 2019. Disponível em: <[https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/67043/12%20McFadden%20\(manu\).pdf?sequence=2](https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/67043/12%20McFadden%20(manu).pdf?sequence=2)>
- MESSANA, J. D.; CANESIN, R.C.; FIORENTINI, G. et al. (2014). Intake, performance and estimated methane production of Nellore steers fed soybean grain. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.43, n.12, p.662-669. doi: 10.1590/S1516-35982014001200006
- MERTENS, D.R.; ALLEN, M.; CARMANY, J. et al. et al. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **J. AOAC Int.** 85, p.1217–1240, 2002.
- NUNES, A.T.; TAKIYA, C.S.; DA SILVA, G.G. et al. [2022]. Increasing doses of biocholine on apparent digestibility, ruminal fermentation, and performance in dairy cows. **Livestock Science**, v.260, p.104927, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104927>>
- OLDICK, B.S.; FIRKINS, J.L. [2000]. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2412-2420, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/2000.7892412x>>
- PALMQUIST, D.L. [1991]. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1354-1360, 1991. Disponível em: <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78290-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78290-8)>

- RENNÓ, F.P.; CÔNSOLO, N.R.B.; BARLETTA, R.V. et al. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. **Archivos de zootecnia**, v.64, n.248, p.331-338, 2015.
- RODRÍGUEZ-GUERRERO, V.; LIZARAZO, A.C.; FERRARO, S. et al. [2018]. Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. **South African Journal of Animal Science**, v.48, n.3, p.427-434, 2018. Disponível em: <<https://hdl.handle.net/10520/EJC-e2130f150>>.
- ROWLANDS, G.J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with pathology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. **World Rev. Nutr. Diet** v.35, p.172-235, 1980.
- SHEPARDSON, R.; K. J. HARVATINE. [2019]. Effect of oleic acid and lecithin in saturated fatty acid supplements on production and nutrient digestibility in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.102, n.1:317 (Abstract).
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.C. et al. [2011]. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.2565–2573, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011001100039>>

## Anexo Tabelas: Artigo Biocolina

Tabela 1. Composição da dieta

Item	Teor (%)
Feno Áries	25
Feno Aveia	25
Milho	35
Grão de soja	15
Mistura mineral <sup>1</sup>	<i>ad libitum</i>
Tamponante <sup>2</sup>	0,5
Proteína bruta	13
Extrato etéreo	5

<sup>1</sup> Ca - 215 g/kg, P - 65 g/kg, Co - 45 mg/kg, Mg - 12 g/kg, Mn - 425 mg/kg, Zn - 1.900 mg/kg, Se - 35 mg/kg. I - 65 mg/kg, S - 10 g/kg, F - 650 mg/kg, Fe - 1.700 mg/kg, Cu - 800 mg/kg, Na - 75g/kg.

<sup>2</sup> Tamponante comercial fornecido a 1% do concentrado.

Tabela 2. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para o consumo voluntário de bovinos recebendo dietas com alto lipídio e administração de biocolina.

Item (kg/dia)	CO	Rúmen		Abomaso		EPM	P-valor		
		3	6	3	6		Local <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	L x D
CMS	8,90	8,58	8,59	8,55	8,95	0,81	0,803	0,198	0,864
CMO	8,76	8,49	8,33	8,33	8,87	0,78	0,871	0,196	0,720
CPB	1,15	1,11	1,09	1,09	1,16	0,10	0,866	0,193	0,713
CEE	0,46	0,44	0,43	0,43	0,46	0,04	0,868	0,200	0,710
CFDN	4,15	3,99	4,00	3,98	4,17	0,38	0,798	0,192	0,844

CO: controle sem administração de biocolina; Rúmen e Abomaso: local de administração da biocolina; Doses de biocolina: 3 e 6 gramas de biocolina/100 kg de peso corporal. <sup>1</sup>Local: efeito do local de administração da biocolina; <sup>2</sup>Dose: efeito da quantidade de biocolina administrada; L x D: efeito da interação entre local e dose de administração da biocolina.

MS: ingestão de matéria seca; PB: ingestão de proteína bruta; FDN: ingestão de fibra em detergente neutro; MO: ingestão de matéria orgânica.

Tabela 3. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para o coeficiente de digestibilidade de bovinos recebendo dietas com alto lipídio e administração de biocolina.

Item (%)	CO	Rúmen		Abomaso		EPM	P-valor		
		3	6	3	6		Local <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	L x D
CDMS	59,99	59,09	63,14	61,35	62,92	1,96	0,593	0,104	0,410
CDMO	62,97	62,47	65,20	64,07	66,13	1,75	0,390	0,093	0,751
CDPB	60,79	60,95	64,79	63,20	66,42	2,20	0,479	0,098	0,868
CDEE	68,48	63,90	72,26	71,73	70,31	3,65	0,270	0,162	0,063
CDFDN	59,11	62,09	59,84	57,76	61,65	3,84	0,474	0,653	0,077

CO: controle sem administração de biocolina; Rúmen e Abomaso: local de administração da biocolina; Doses de biocolina: 3 e 6 gramas de biocolina/100 kg de peso corporal. <sup>1</sup>Local: efeito do local de administração da biocolina;

<sup>2</sup>Dose: efeito da quantidade de biocolina administrada; L x D: efeito da interação entre local e dose de administração da biocolina.

CDMS: coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB: coeficiente de digestibilidade de proteína bruta; CDFDN: coeficiente de digestibilidade de fibra em detergente neutro; CDMO: coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica.

Tabela 4. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para parâmetros ruminais de bovinos recebendo dietas com alto lipídio e administração de biocolina.

Item	CO	Rúmen		Abomaso		EPM	P-valor		
		3	6	3	6		Local <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	L x D
pH ruminal	6,53	6,51	6,49	6,45	6,49	0,07	0,370	0,764	0,514
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)	13,84	14,53	14,68	14,94	13,45	1,93	0,440	0,260	0,340
Total AGV (mM/dL)	62,83	66,84	64,73	73,25	67,31	3,33	0,069	0,074	0,406
Acetato (mM/dL)	49,84	53,00	51,06	57,62	52,67	2,90	0,112	0,057	0,385
Propionato (mM/dL)	5,30	5,82	5,38	6,63	5,89	0,86	0,131	0,109	0,790
Butirato (mM/dL)	7,68	7,94	8,41	9,03	8,75	1,60	0,210	0,837	0,484

CO: controle sem administração de biocolina; Rúmen e Abomaso: local de administração da biocolina; Doses de biocolina: 3 e 6 gramas de biocolina/100 kg de peso corporal. <sup>1</sup>Local: efeito do local de administração da biocolina; <sup>2</sup>Dose: efeito da quantidade de biocolina administrada; L x D: efeito da interação entre local e dose de administração da biocolina.

N-NH<sub>3</sub> = concentração de nitrogênio amoniacal ruminal; AGV = ácidos graxos voláteis.

Tabela 5. Média de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e indicativo de significância para parâmetros sanguíneos de bovinos recebendo dietas com alto lipídio e administração de biocolina.

Item	CO	Rúmen		Abomaso		EPM	P-valor		
		3	6	3	6		Local <sup>1</sup>	Dose <sup>2</sup>	L x D
Glicose (mg/dL)	70,27	70,13	68,69	69,50	70,60	0,85	0,346	0,889	0,065
Albumina (g/L)	31,87	31,95	32,78	31,15	31,22	0,76	0,014	0,307	0,385
Colesterol (mg/dL)	129,52	123,90	131,53	119,91	118,41	9,93	0,209	0,654	0,506
Triglicerídeos (mg/dL)	24,60	24,39	24,87	23,14	23,77	1,92	0,145	0,505	0,914
NUS (mg/dL)	13,49	12,50	12,48	12,14	12,19	2,18	0,508	0,921	0,995

CO: controle sem administração de biocolina; Rúmen e Abomaso: local de administração da biocolina; Doses de biocolina: 3 e 6 gramas de biocolina/100 kg de peso corporal. <sup>1</sup>Local: efeito do local de administração da biocolina; <sup>2</sup>Dose: efeito da quantidade de biocolina administrada; L x D: efeito da interação entre local e dose de administração da biocolina.