



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

AVALIAÇÃO DE TANINOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

CARLA GISELLY DE SOUZA

**AREIA/PB
DEZEMBRO – 2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DE TANINOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

CARLA GISELLY DE SOUZA
Zootecnista

AREIA/PB
DEZEMBRO - 2015

CARLA GISELLY DE SOUZA

AVALIAÇÃO DE TANINOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Área de Concentração: Nutrição Animal

Área de Concentração: Nutrição Animal

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto – Orientador Principal

Prof. Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo

Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira

**AREIA – PB
DEZEMBRO – 2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA
UFPB – UFC - UFRPE**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “Avaliação de taninos na dieta de vacas em lactação”

AUTORA: Carla Giselly de Souza

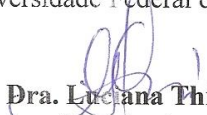
ORIENTADOR: Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto
Presidente
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Examinadora
Universidade Federal de São Carlos


Profa. Dra. Lara Toledo Henriques
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba


Profa. Dra. Dulciene Karla de Andrade Silva
Examinadora
Universidade Federal Rural de Pernambuco


Prof. Dr. Airon/Aparecido Silva de Melo
Examinador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Areia, 9 de dezembro de 2015

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, campus II, Areia – PB.

S729a Souza, Carla Giselly de.

Avaliação de taninos na dieta de vacas em lactação / Carla Giselly de Souza. -
Areia: UFPB/CCA, 2015.

75 f. : il.

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade
Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Severino Gonzaga Neto.

*1. Vacas em lactação 2. Dieta de vacas – Tanino 3. Vacas mestiças –
Dietas taníferas I. Gonzaga Neto, Severino (Orientador) II. Título.*

UFPB/CCA

CDU: 636.2(043.2)

BIOGRAFIA DA AUTORA

CARLA GISELLY DE SOUZA, filha de Tadeu Carlos de Souza e Marta Gerusa Silva de Souza, nascida em Recife, Pernambuco, em 01 de Março de 1980. Em Março de 2000, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Durante a graduação foi monitora da disciplina de Introdução À Zootecnia sob a orientação da Profa. Lúcia Maia de 09/2002 a 03/2003, em seguida foi aluna de Iniciação Científica CNPq, na área de concentração Forragicultura, sob a orientação da Profa. Dra. Mércia V. Ferreira dos Santos, até o fim da graduação em Março de 2005. Durante o ano de 2006 exerceu a atividade de professora substituta de Zootecnia I, na então Escola Agrotécnica Federal de Senhor do Bonfim na Bahia, hoje, Instituto Federal da Bahia. Em Fevereiro de 2007 iniciou o mestrado na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, *Campus* de Botucatu, na área de Forragicultura e Pastagem, sob a orientação do Prof. Dr. Jozivaldo Prudêncio Gomes de Moraes, finalizando o curso e sendo aprovada em Maio de 2009. De Julho de 2008 a Novembro de 2009, trabalhou como coordenadora de qualidade da fábrica de rações DuRancho, localizada no município de Pesqueira- PE. De Maio de 2010 a Agosto 2010, trabalhou como Técnica de Qualidade Júnior no grupo Pão de Açúcar. De Novembro de 2010 a Janeiro de 2012 trabalhou como Gerente de Qualidade da Onix Orthopaedic, localizada no município de Itamaracá –PE. Em Março de 2012, ingressou no Programa Integrado de Doutorado em Zootecnia na UFPB- *Campus* Areia, sob a orientação do Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, em Agosto de 2013 foi aprovada para execução de Doutorado Sanduíche na University of Queensland - Austrália, sob a orientação da Profa. Dra. Nidhi Bansal, concentrado seus estudos no monitoramento da qualidade de leite fortificado com taninos, onde permaneceu até maio de 2014. De volta às suas atividades no Brasil, submeteu-se à qualificação em Dezembro de 2014, tendo sido aprovada por unanimidade pela banca avaliadora, e em 09 Dezembro de 2015 defendeu sua tese, sendo aprovada.

*“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais retorna a seu tamanho original”.*

Albert Einstein

*“E somente cada um que permitiu abrir-
se a esta nova ideia sabe exatamente o
que isso representa”.*

Carla G de Souza

OFEREÇO À

DEUS

PELAS OPORTUNIDADES E POR SEMPRE ME DESAFIAR.

Dedico

À minha Mãe Marta, pelo incentivo e ouvido paciente e palavras sempre sábias em todos os momentos...

Ao meu Pai Tadeu, pelo incentivo, apoio e carinho incondicionais...

Ao meu Irmão Tadeu Filho, por cuidar de meus pais no momento em que tive que me ausentar...

À minha querida “voinha” Deoclides Maria da Silva (in memoriam) pelo exemplo de fé, luta e coragem, que tanto orou por mim e minha família.

A minha Tia Mirian, meus primos irmãos Cinthia, Kleber e César, e amigos, que não apenas compreenderam minha ausência, mas me incentivaram e vibraram a cada passo dado.

AGRADECIMENTOS

Em especial quero agradecer aos meus amigos de escaladas em rocha e da vida, Fernanda Encarnação, Josy da Cruz Rocha, Patrícia Manzi, Mirthis Novaes, Clóvis Chalegre, Carlos Alberto Teixeira (Junior), Lúcio Uchoa, Leyliane Rabelo, Vanessa Hamond, Simon Spink, Karla Paiva, Leonardo Xavier, Máira Beltrão, Carol Acioly e Renato Molica, Ioná Brasil, Viviane Coelho, Neide e Eduardo Matsumoto, Catarina, Gary e Cecília Russel e muitos, pela amizade, companheirismo e conversas buscando sempre me ajudar a seguir o melhor caminho em busca dos meus sonhos, me ajudando a desafiar-me, vencer o medo e acreditar em mim.

Aos meus sobrinhos Thalles, Davi, Tarso, Letícia e Raul e familiares que compreenderam minha ausência, e meu excesso de sono nas reuniões de família, sintam-se carinhosamente lembrados.

A todos os amigos que pelo amor que me dedicam e também pela compreensão que sempre demonstraram, permitindo olhar para a vida e perceber qual é o seu verdadeiro sentido, e que muitas vezes deixamos de acompanhar por falta de tempo, mas, não deixando de nos apoiar em tempo algum, ficando a promessa de um regresso por inteiro muito em breve.

As amigas, Paula, Aparecida, Dinnara, Diana e Ana Jaqueline pelo convívio durante esses anos.

Aos amigos e companheiros da bovinocultura e dentro do laboratório, Elton, Rogério, Samara, Flávio, Gabriel, Gabriela, Daniele, Antônio, Victória, Ana Jaqueline, Jaqueline Trajano, Aianne, Jessika, Carlos Augusto e aos funcionários Leandro e Cristiano (Pio), sem vocês o experimento não teria sido realizado.

Aos estagiários Jamille, Taciele, Luciana, Pedro Borba, Ítalo Gabriel, Matheus, Thaiano, Helinaldo, Kelaine, Adaías e Luã.

Ao Prof. Gonzaga por todo o aprendizado durante os anos de convivência.

Ao programa de Doutorado Integrado em Zootecnia UFPB – Campus Areia.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela concessão das duas bolsas de estudos; a do Doutorado no Brasil e a de Doutorado Sanduíche na Austrália.

A Profa. Dra. Nidhi Bansal e a University of Queensland pela incrível experiência profissional e pessoal, durante os 10 meses de Doutorado Sanduíche.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto.

SUMÁRIO

	Pagina
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
CAPÍTULO I	18
INTRODUÇÃO	19
O sorgo	20
O tanino	22
Características químicas gerais dos taninos	23
Fermentação ruminal utilizando taninos	24
O efeito do tanino sobre o balanço do nitrogênio em ruminantes.....	26
Efeito sobre a quantidade de colesterol sanguíneo	30
REFERÊNCIAS.....	31
CAPÍTULO II	35
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	54
REFERENCIAS.....	54
CAPÍTULO III	59
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
CONCLUSÃO	73
REFERENCIAS.....	73

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pagina
Figura 1- Representação esquemática do efeito dos taninos sobre o metabolismo ruminal e desempenho.....	27
Figura 2- Proteína de escape ruminal.....	28
Figura 3- Fatores que podem afetar a formação e dissociação do complexo tanino proteína.....	29

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela	Pagina
Tabela 1- Composição físico-química, proporção dos ingredientes da dieta, concentração de tanino condensado e tanino hidrolisável (ácido Tânico) nas dietas experimentais em kg	42
Tabela 2- Contribuições percentuais e em kg do tanino condensado do sorgo e do ácido tânico adicionado artificialmente.	43
Tabela 3- Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais (%)	44
Tabela 4- Composição nutricional das dietas experimentais (concentrado mais volumoso) (%).....	44
Tabela 5- Consumos médios e consumo em função do peso vivo das dietas experimentais	48
Tabela 6- Peso corporal médio das vacas, eficiência alimentar, produção de leite, gordura (%), proteína (%) e produção de leite corrigida para 4% de gordura, de vacas alimentadas com sorgo e níveis crescentes de ácido tânico.	50
Tabela 7- Coeficientes de digestibilidade (%) aparente da, MS, MO, PB, EE, FDN, CHOT e CNF das dietas experimentais.	51
Tabela 8- Parâmetros sanguíneos e níveis de referência de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico.	52
Tabela 9 - Composição físico-química, proporção dos ingredientes da dieta, concentração de tanino condensado e tanino hidrolisável (ácido tânico) nas dietas experimentais em kg	64
Tabela 10 - Contribuições percentuais e em kg do tanino condensado do sorgo e do ácido tânico adicionado artificialmente	65
Tabela 11 - Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais com base na matéria seca	66
Tabela 12 - Composição nutricional das dietas experimentais (concentrado mais volumoso) (%).....	66

Tabela 13- Volume urinário, ácido úrico, creatinina, ureia, alantoína, alantoína do leite, purinas totais e absorvidas, síntese de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico..... 69

Tabela 14 - Valores médios de nitrogênio urinário (NU) e creatinina urinária (CrU) relação NU/ CrU, como indicativo da saúde renal de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico 70

Tabela 15 - Balanço de nitrogênio (N) (g/ dia) de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico..... 72

AValiação de TANINOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

RESUMO GERAL

Foram utilizadas cinco vacas mestiças holandês/zebu distribuídas em quadrado latino 5 × 5. Com objetivo de avaliar o efeito de dietas taniníferas à base de sorgo (tanino condensado) e níveis crescentes de ácido tânico (tanino hidrolisável), sobre o consumo, digestibilidade, produção de leite, parâmetros sanguíneos, balanço de N e a produção de proteína microbiana de vacas em lactação. Cada dieta continha 35 kg de silagem de milho como volumoso e 6,380kg de concentrado. A dieta 1 (controle), continha o sorgo cultivar ponta negra com reduzido teor de tanino, o qual foi substituído nas demais dietas pelo sorgo cultivar A9904, que continha elevado teor de tanino. Os níveis de ácido tânico adicionados às dietas foram estabelecidos com base na análise da quantidade de tanino condensado presente no cultivar de sorgo A9904. Deste modo, nas dietas 2; 3; 4, e 5 foi adicionado 1,5; 79,5; 157,5 e 235,5g de ácido tânico respectivamente. O consumo de matéria natural e matéria seca não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos. O consumo em função do peso vivo não diferiram ($P>0,05$) para MS e FDN e diferiram significativamente ($P<0,05$) para EE. A digestibilidade aparente da MS, PB, EE, FDN, CHOT e CNF, não diferiu ($P>0,05$) com o incremento de tanino na dieta. De todos os parâmetros sanguíneos analisados apenas os níveis de TGO (transaminase glutâmica oxalacética) e hemoglobina apresentaram diferença significativa ($P<0,05$). As excreções urinárias de ureia, alantoína e derivados de purina, purinas absorvidas, a síntese de N-microbiano e as concentrações de alantoína no leite, não diferiram. O balanço de N foi positivo e não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. A excreção média de creatinina foi de 72,16 mmol/dia, e cresceram linearmente ($P<0,05$) entre as dietas avaliadas, com ponto de mínima de 59,23 mmol/dia e máxima de 83,05 mmol/dia. Não foram observados efeitos de toxicidade com a inclusão de tanino nas dietas. Os níveis de TGO tiveram um comportamento linear (com ponto de mínima 72,29 U/L e máxima 84,60 U/L), sem, no entanto apresentarem toxidez. A inclusão de tanino na dieta não causou depressão no consumo nem na digestibilidade, indicando que a saúde dos animais não foi afetada. A inclusão de tanino na dieta não causou depressão efetiva no consumo nem na digestibilidade dos animais, e tão pouco, apresentou efeitos significativos nos parâmetros sanguíneos dos animais, indicando que

a saúde das vacas não foi depreciada. A produção de leite foi decresceu linearmente em média 0,350 kg de leite a medida que aumentou a inclusão de tanino na dieta.

Palavras chave: ácido gálico; creatinina; nitrogênio urinário; vacas; transaminase glutâmica oxalacética.

TANNIN ASSESSMENT IN LACTATING COWS DIET

ABSTRACT

Five crossbred Dutch / zebu cows were distributed in a 5×5 latin square. In order to evaluate the effect of tanniniferous diets based on sorghum (*Sorghum bicolor* sorghum (l.) Moench) (condensed tannin) and increasing levels of tannic acid (hydrolyzable tannin) on intake, digestibility, milk production, blood parameters, N balance and protein production microbial lactating cows. The diets contained 35 kg of corn silage as roughage and 6.38kg of concentrate. The diet 1 (control) contained sorghum contained sorghum cultivar black tip, which was replaced on the other diets by sorghum cultivar A9904. The tannic acid levels added to diets were based on analysis of the condensed tannin amount constituent in A9904 sorghum cultivar. In this way, in the diets 2, 3, 4 and 5 was added 1.5, 79.5, 157.5 and 235.5g of tannic acid respectively. Natural and dry matter consumption did not differ ($P > 0.05$) between treatments. The consumption as a function of body weight did not differ ($P > 0.05$) for DM and NDF and differed significantly ($P < 0.05$) for EE. The apparent digestibility of DM, CP, EE, NDF, and NFC, CHOT did not differ ($P > 0.05$) with increasing dietary tannin. To all blood parameters analyzed only the AST and hemoglobin levels showed significant differences ($P < 0.05$). The urinary excretion of urea, allantoin and derivatives of purine absorbed purine, N-microbial synthesis and allantoin concentrations in the milk did not differ. The N balance was positive and did not differ ($P > 0.05$) between treatments. The average creatinine excretion was 72.16 mmol / day, and increased linearly ($P < 0.05$) between diets evaluated with minimal point of 59.23 mmol / day and a maximum of 83.05 mmol / day. No toxic effects were observed with the addition of tannin in diets. The levels of AST (Aspartate transaminase) have a linear behavior (with a minimum point of 72.29 U / L and maximum 84.60 U / l), without however presenting toxicity. The inclusion of tannin in the diet did not cause depression in the intake or digestibility. The inclusion of tannin in the diet did not cause depression in the effective consumption or digestibility of animal, and as little significant effects on the animals blood parameters, indicating that the cows health was not depreciated. Milk production was decreased linearly on average 0.350 kg as increased tannin inclusion in the diet.

Key words: aspartate aminotransferase; creatinin; gallic acid; Heifers; urinary nitrogen.

CAPÍTULO I
REFERENCIAL TEÓRICO

AVALIAÇÃO DE TANINOS NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

INTRODUÇÃO

O objetivo de profissionais da nutrição animal e microbiologistas do rúmen tem sido a manipulação do ecossistema ruminal na tentativa de aumentar a eficiência do metabolismo ruminal e a produtividade animal, inclusive com resposta nos produtos leite ou carne. Deste modo, foram introduzidos na dieta de ruminantes uma série de aditivos químicos como antibióticos, ionóforos, inibidores de metano e agentes defaunantes, para promover crescimento, melhorar a utilização das dietas e otimizar os componentes catiônicos.

Preocupações sobre a presença de resíduos químicos em produtos de origem animal e o desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos estimularam a busca por alternativas mais seguras e naturais que seriam úteis na criação de ruminantes (PATRA e SAXENA, 2011).

Plantas ou extratos de plantas que contenham óleos essenciais, taninos, saponinas, flavonóides e muitos outros metabólitos secundários têm se mostrado melhoradores do metabolismo microbiano. A diminuição da metanogênese, a degradação da proteína no rúmen, o aumento da produção de proteína microbiana e o fluxo de proteína para o duodeno direcionando grupos de populações microbianas específicas, tem sido demonstrados (WALLACE, 2004; PATRA e SAXENA, 2011).

Os taninos eram considerados inicialmente como bioquímicos anti-nutricionais devido a seus efeitos adversos sobre o consumo voluntário (GOEL et al., 2005) e a utilização de nutrientes (CHANG et al., 1994; CHUNG et al., 1998; MONTEIRO, et al., 2005). Mueller-Harvey (2006) relata que várias revisões publicadas focaram os efeitos adversos dos taninos.

Apesar disso, nos últimos anos, tem-se reconhecido os taninos como fitoquímicos benéficos para a modulação da fermentação microbiana ruminal (MIN et al., 2003; MUELLER-HARVEY, 2006; WAGHORN, 2008), antioxidantes em sistemas biológicos e alimentares, antimicrobianos e ainda, os efeitos sobre a deposição lipídica plasmática, muscular e visceral (CHUNG et al., 1998; SILVA et al., 2002; SEKI et al., 2002).

Taninos são compostos secundários de plantas com propriedades antibacterianas e de fermentação ruminal. Revisões recentes vem discutindo a capacidade de os taninos interferirem na biohidrogenação ruminal, (McSWEENEY et al., 2001; MUELLER-HARVEY, 2006) e de modificarem favoravelmente a biohidrogenação dietética de PUFA's (ácidos graxos poli-insaturados), aumentar a acumulação de ácido trans-11 18:1, devido a inibição do último passo da biohidrogenação (CAREÑO et al., 2015), além de enriquecimento de ácidos linoleicos conjugados (CLAs) na carne e no leite e inibição da formação de metano (WAGHORN, 2008; PATRA e SAXENA, 2011; CAREÑO et al., 2015).

Os taninos, de maneira geral ocorrem em muitos alimentos e podem produzir inúmeros outros benefícios aos animais de produção, tais como melhorar a utilização da proteína dietética, as taxas de crescimento de peso vivo ou lã mais rápidas e a produção de leite, além de atuar aumento no da fertilidade e melhorar o bem-estar animal e a saúde através da prevenção de timpanismo e redução da carga parasitária (MUELLER-HARVEY, 2006).

Recentemente o papel dos compostos fenólicos e flavonóides como componentes dietéticos antioxidantes tornou-se uma área cada vez mais importante de investigação na nutrição humana. Existindo evidências crescentes de que a ingestão modesta e a longo prazo, pode apresentar um potencial para modular favoravelmente o metabolismo humano, prevenindo ou reduzindo, o risco de doenças degenerativas, como doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e câncer (JAGANATH e CROZIER, 2010) .

O sorgo

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] destaca-se como o quinto cereal de maior produção no mundo e o quarto no *ranking* de produção brasileira (IBGE, 2010). A estimativa da produção do sorgo em 2015 foi de 2,1 milhões de toneladas, com aumento de 4,3% frente ao ano anterior (IBGE, 2015).

Seus grãos constituem-se em uma boa fonte energética tanto para nutrição humana como animal. No Brasil sua produção tem aumentado nos últimos anos, sendo

empregado principalmente na alimentação animal como ingrediente substituto ao milho e ao trigo, nas indústrias de ração (CABRAL FILHO, 2004).

Devido ao custo dos alimentos no mundo e às características edafoclimáticas da região semiárida, o sorgo por ser menos exigente em água e nutrição do solo, apresenta-se como um ingrediente em potencial na alimentação dos ruminantes (CABRAL FILHO, 2004). O sorgo, por suas características nutricionais tem sido estudado como sucedâneo do milho, principalmente por ser uma cultura de grande versatilidade. Rústico, de fácil adaptação a todos os tipos de solos, até mesmo aos mais fracos, além de apresentar resistência à seca (DIAS, 2004).

Comparativamente, apresenta 90 a 95% do valor nutritivo do milho, sendo ligeiramente inferior em valor energético (DIAS, 2004). Apresenta um teor de proteína em torno de 8 a 9%, um pouco superior ao milho, embora esta seja de menor qualidade. Por conter níveis dos aminoácidos metionina e lisina menores daqueles encontrados no milho, contudo maior quantidade de triptofano. Dispõe ainda, de nível muito baixo de pigmentos e nível inferior de extrato etéreo (SCHEUERMANN, 2003).

O grão de sorgo, bem como outras plantas superiores, contém compostos como ácidos fenólicos e flavonóides e taninos, que podem ser tóxicos para os animais. Os taninos formam complexos com carboidratos e principalmente proteínas, o que pode reduzir sua digestibilidade e palatabilidade, pois confere ao sorgo sabor adstringente (DIAS, 2004). O tanino presente no sorgo é do tipo condensado, e pode estar presente no grão de sorgo em maior ou menor concentração, o que depende de uma série de fatores como; solo, clima e agentes estressores.

O uso do sorgo em substituição ao milho tem inúmeras vantagens, o que faz seu cultivo e uso crescer a cada ano, entretanto, este uso pode ser limitado devido à presença dos taninos em seus grãos, e pela falta de conhecimento das verdadeiras desvantagens que a presença do tanino na dieta dos animais de produção pode causar. Deste modo, será exposto a seguir vantagens e desvantagens com relação ao uso de sorgo e, conseqüentemente, o uso de tanino na dieta de vacas.

O tanino

A palavra tanino, deriva do termo “tanning” em inglês que significa curtimento e refere-se a fontes de taninos utilizados no curtimento de peles de animais em couro; entretanto, o termo é largamente aplicado a qualquer composto fenólico contendo hidroxilas suficientes e outro grupo adequado para formar complexos fortes com proteínas e outras macromoléculas (CAYGILL e MUELLER –HARVEY, 2000; BELE et al., 2010).

O termo tanino foi inicialmente utilizado por Bate-Smith e Swain em 1962, onde, adotaram ideias anteriores de White em 1957 que classificava os taninos como fenóis solúveis em água e peso molecular compreendido entre 500 e 3000 daltons, (CHUNG et al., 1998; MONTEIRO et al., 2005; BELE et al., 2010) possuindo a habilidade de precipitar alcaloides, gelatinas e outras proteínas (MONTEIRO et al., 2005; HASLAM, 1996). Em seguida, foi revelado que taninos eram substâncias presentes em extratos de plantas, capazes de se combinarem com proteínas da pele de animais, prevenindo sua putrefação e as convertendo em couro (CHUNG et al., 1998; BELE et al., 2010).

Os taninos são os constituintes mais abundantes nas plantas, após celulose, hemicelulose e lignina, (LEKHA e LONSANE, 1999) são de grande interesse econômico e ecológico e estão presentes na maioria nas plantas. Podem ser armazenados em grandes concentrações nos vacúolos das células, e grandes depósitos foram encontrados na epiderme de folhas e em tricomas (AERTS et al., 1999). Como metabólitos secundários originam-se de uma classe principal, tendo como principal característica o sabor amargo e adstringente (HASLAM, 1989 e 1996; CAYGILL e MUELLER –HARVEY, 2000; BELE et al., 2010), são amplamente distribuídos em vários setores do reino animal, e apresentam diversas estruturas. São solúveis em água e também em álcool e acetona (BELE et al., 2010). Plantas feridas podem secretar compostos fenólicos para defenderem-se contra patógenos (SHAHIDI e NACZK, 1995).

São encontrados: na uva e nos vinhos, nas maçãs e cidras, do lúpulo e cerveja, e em bebidas não alcoólicas como chás preto e verde e sucos de frutas naturais como maçãs, bananas, amoras, cranberries, damasco, uvas, groselha, pêssegos, peras, caquis, ameixas, framboesas e morangos. Além disso, estão presentes em uma variedade de plantas utilizadas como alimento e ração, como: grãos de sorgo, milheto, cevada, feijão,

fava, ervilha, algaroba, guandu, feijão alado e outras leguminosas. Forragens como: ervilha coroa, lespedeza, lótu, san feno e trevo também são relatados por conter taninos (CHUNG et al., 1998; CAYGILL e MUELLER –HARVEY, 2000).

Características químicas gerais dos taninos

Os taninos são divididos em três classes: taninos condensados, taninos hidrolisáveis (HASLAM, 1989; CAYGILL e MUELLER-HARVEY, 2000; GOEL et al., 2005; MONTEIRO et al., 2005; BELE et al., 2010), e uma terceira classe de taninos, taninos floró (phlorotannins), que são produzidas por algas marinhas marrons (O'CONNELL e FOX, 2001), sem importância para a nutrição animal.

Existem primariamente na forma condensada, as proantocinidinas ou taninos condensados, são o tipo mais comum, estão presentes em frutas, cascas de árvores, folhas e sementes de muitas plantas e leguminosas forrageiras, arbustos de áreas tropicais (HAGERMAN e BUTLER, 1991; MIN et al., 2003; POQUET et al., 2010) e raízes (BELE et al., 2010), eles ocorrem normalmente nos vacúolos das células (MIN et al., 2003). São complexos polímeros oligômeros, de 2 a 50 ou mais (BELE et al., 2010) unidades de flavonóides ligadas por ligações carbono-carbono, produtos do metabolismo do fenilpropanol (HAGERMAN e BUTLER, 1991).

O tanino hidrolisável é largamente encontrados no reino vegetal, ocorrem mais nas vagens dos frutos e galhos das plantas, folhas de árvores e arbustos de áreas tropicais (HASLAM, 1989; MIN et al., 2003; BATTESTIN et al., 2004), e assim como os taninos condensados, raramente ocorrem em gramíneas forrageiras (MIN et al., 2003).

Taninos hidrolisáveis são moléculas complexas constituídas de uma mistura de fenóis simples, onde a unidade básica estrutural central é um poliol, um carboidrato tal como D- glicose (poliésteres de glicose), glucitol, pirogalol, ácidos elágico, quínico, quercitol e chiquímico (PATRA e SAXENA, 2011), onde, sobre hidrólise, os grupos hidroxila são parcialmente ou totalmente esterificados com grupos fenólicos como ácido gálico, ácido elágico ou hexadihidroxifênico (HASLAM, 1989; BATTESTIN et al., 2004; GOEL et al., 2005; MONTEIRO et al., 2005; BELE et al., 2010; PATRA e

SAXENA, 2011). Sendo unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisados em condições ácidas ou básicas (BATTESTIN et al., 2004).

Os microrganismos ruminais são capazes de degradar taninos hidrolisáveis, eles são hidrolisados por ácidos ou bases fracas para produzir carboidratos e compostos fenólicos (BELE et al., 2010; PATRA e SAXENA, 2011), onde, seus produtos de degradação são absorvidos no intestino delgado dos animais, a toxicidade por conseguinte (HASLAM, 1989; MAKKAR, 2003; MIN et al., 2003), parece ser devido à absorção dos produtos degradados como os ácidos gálico e elágico, que são potencialmente tóxicos para ruminantes (GOEL et al., 2005), e maior carga de fenóis na corrente sanguínea, o que está além da capacidade do fígado para desintoxicá-los (MAKKAR, 2003).

A biodisponibilidade dos flavonóides, possivelmente, variam de 10 a 50%. Os taninos condensados não são absorvidos para a corrente sanguínea, estes, em condições fisiológicas normais, não são susceptíveis de danificar órgãos como o fígado, rins, baço, etc, (MAKKAR, 2003). Entretanto, sob situação de dano intestinal devido ao consumo de elevados níveis de taninos ou de outros agentes irritantes da membrana intestinal, taninos condensados podem ser absorvidos para o sangue e podem causar lesões de órgãos semelhantes aos observados para taninos hidrolisáveis (MAKKAR, 2003).

A forma mais simples do tanino hidrolisável é o ácido tânico. Estudos evidenciam a importância do ácido tânico como um agente antioxidante, antimutagênico, anticarcinogênico, além de possuir efeitos inibitórios nas enzimas do citocromo P450 (BRANDÃO et al., 2008).

Fermentação ruminal utilizando taninos

A anatomia e fisiologia digestiva dos bovinos e outros ruminantes é acentuadamente diferente dos não ruminantes. O ruminante tem três órgãos digestivos adicionais, que permitem a população microbiana extrair e o hospedeiro absorver a energia do material vegetal fibroso (HART et al., 2008). A digestão dos alimentos no rúmen ocorre por uma combinação de fermentação microbiana e quebra física durante a ruminação. A colonização microbiana é conduzida por uma população mista de

bactérias, protozoários ciliados, e uma pequena, população de fungos anaeróbios (HART et al., 2008). Deste modo, alimentos consumidos pelos ruminantes são expostos ao ataque microbiano antes da digestão gástrica e intestinal. O rúmen é essencialmente uma câmara de fermentação em que a colonização microbiana ajuda a digerir a dieta.

Assim, os produtos da fermentação microbiana, são principalmente ácidos graxos voláteis (AGV) (ácidos propiônico, butírico e acético) e proteína microbiana, que estará disponível para absorção no rúmen (HART et al., 2008; FARIA e LEITE, 2009). Hart et al. (2008) relata que os AGV's formados no rúmen podem fornecer a maioria das necessidades energéticas do animal (cerca de 80%), enquanto a proteína microbiana deixando o rúmen pode explicar muito (tipicamente 60-85%) se não a totalidade da proteína que entra no intestino delgado.

O superior desempenho animal observado quando a dieta contém baixos níveis de taninos condensados é geralmente atribuído à proteção das proteínas dos alimentos da degradação ruminal, levando a um aumento no fluxo de aminoácidos essenciais para intestino delgado e aumento da absorção de aminoácidos essenciais para o sangue (WAGHORN et al., 1994; MAKKAR, 2003). O aumento na eficiência da síntese de proteína microbiana e redução na degradabilidade da proteína alimentar no rúmen são benéficas para os ruminantes, pois além de aumentarem o fornecimento de nitrogênio não amônio para o intestino delgado para fins de produção, tem efeitos poupadores de proteína, ocasionando redução na produção de metano e a excreção de N para o meio ambiente, reduzindo assim a emissão de poluentes ambientais, o que resulta em maior produção de carne, leite e lã (MAKKAR, 2003).

O fornecimento de uma fonte moderada de taninos condensados para ovinos, através da suplementação com *Lotus corniculatus* (cornichão), aumentou a produção de leite, proteína e lactose (AERTS et al., 1999). O aumento do rendimento de proteína de leite pode estar relacionada com o fato de que no rúmen-retículo (que tem um pH de 6,0-7,0), os compostos fenólicos interagem com as proteínas, inibindo desse modo a utilização da proteína no rúmen por microrganismos locais (estima-se que a microbiota rúmen retículo degrada-se a 75% de proteína ingerida), mas, uma vez que o complexo compostos fenólicos-proteína passa para o abomaso (pH 2,5-3,5), os complexos são quebrados e a proteína liberada é degradada e absorvida pelo animal (AERTS et al., 1999; O' CONNELL e FOX, 2001).

O efeito do tanino sobre o balanço do nitrogênio em ruminantes

A quantidade de proteína que flui do rúmen é um fator importante na determinação da produtividade dos ruminantes. A proteína que atinge o abomaso é constituída de uma mistura de proteína da dieta e proteína microbiana. O aumento do fluxo de proteína do rúmen depende da diminuição da proteólise pelos microrganismos e aumento da eficiência de síntese de proteína microbiana.

Quando ruminantes são alimentados com forragens frescas de alta qualidade contendo uma alta concentração de N ($25-35 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$) a maioria das proteínas tornam-se rapidamente solúveis durante a ruminação, liberando 56-65% da concentração de proteína no rúmen como proteína solúvel. Por conseguinte, uma grande quantidade de proteína solúvel é degradada pelos microrganismos do rúmen, resultando em níveis excedentes de amônia (20-35%), que é absorvida a partir do rúmen e excretada na urina. Inversamente, uma redução da degradação da proteína no rúmen poderá aumentar a quantidade de proteína digerida no intestino delgado (PATRA e SAXENA, 2011).

Animais alimentados com dietas à base de ambos os taninos (condensados e hidrolisáveis), podem diminuir a taxa de degradação proteica no rúmen (Figura 1), melhorando assim a síntese de proteína microbiana, sendo vantajoso (McSWEENEY et al., 2001; PATRA e SAXENA, 2011). A redução dessa taxa de degradação proteica pode minimizar as concentrações de amônia no rúmen e consequentemente diminuir a excreção de N na urina (GRAINGER et al., 2009).

Ruminantes alimentados com dieta contendo ambos os taninos tendem a excretar menos N urinário e apresentar apenas um ligeiro aumento na excreção de N fecal, como resultado, eles absorvem mais aminoácidos dietéticos essenciais das dietas que contém taninos, do que de outras dietas isonutritivas que não contém taninos (MUELLER-HARVEY, 2006) o que provavelmente, contribui para o ganho de peso e produção de leite e carne (AERTS et al., 1999).

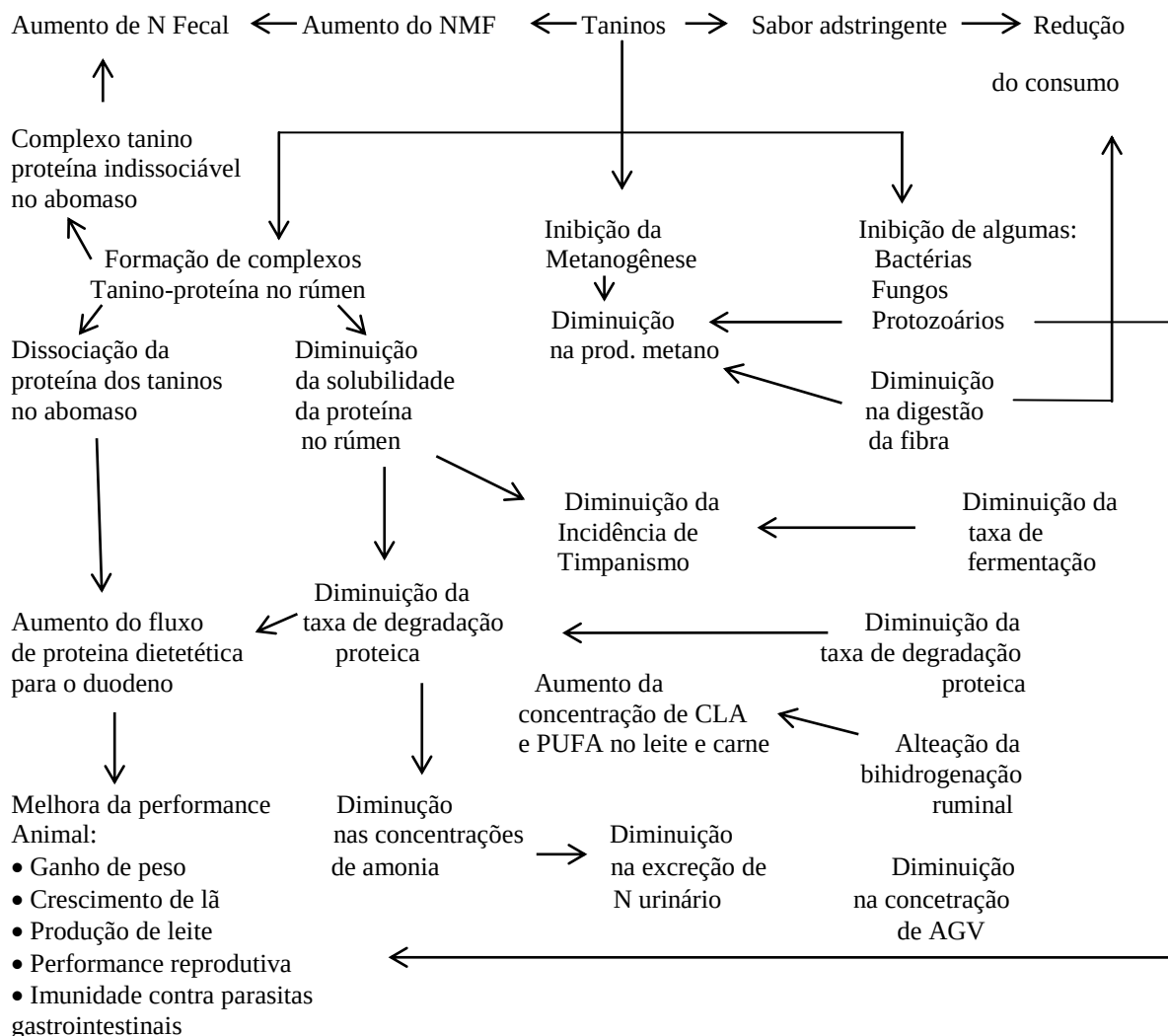
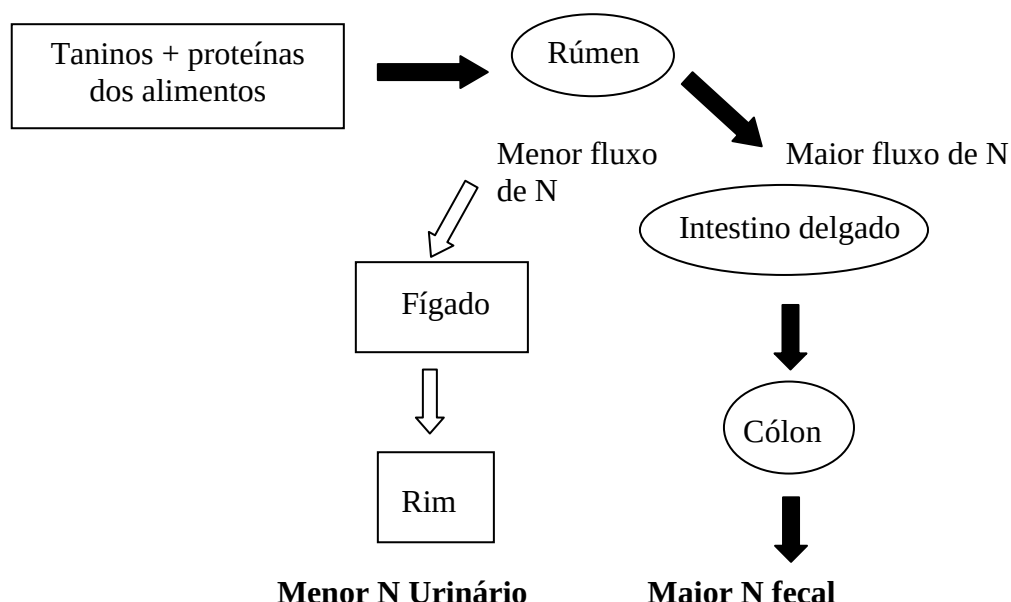


Figura 1- Representação esquemática do efeito dos taninos sobre o metabolismo ruminal e desempenho.

Min et al. (2005), explicam que os taninos condensados complexam-se com proteínas solúveis no rúmen, reduzem a degradação da proteína à amônia no rúmen e permitem um maior fluxo de proteína dietética para o intestino delgado, conforme é explicado na Figura 2, (MULLER –HARVEY, 2006).

Ao aumentar a oferta de proteína digestível para o hospedeiro, causa um efeito indireto sobre a resistência gastrintestinal ao parasitismo, aumentando a resposta imune através da melhoria da nutrição proteica (MIN et al., 2005), produzindo “proteína de escape ruminal” (MULLER–HARVEY, 2006). A ligação entre os taninos condensados

e as proteínas ocorre muito rapidamente após a ruptura da célula, mas o tanino pode ser deslocado a partir de proteínas do pH neutro (rúmen) nos primeiros 30 min de ligação (WAGHORN, 2008).

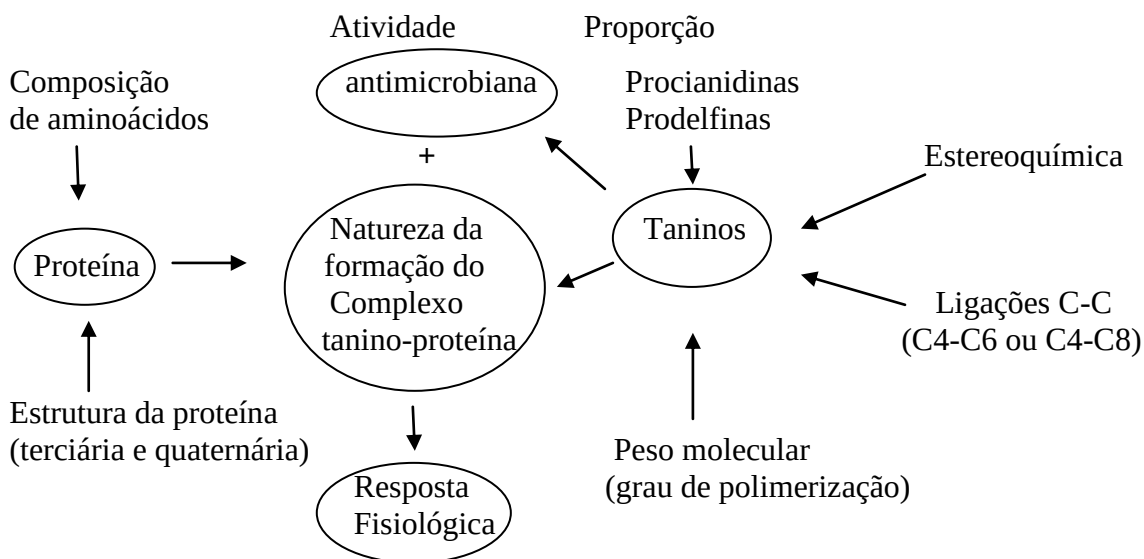


Resultado: melhor aproveitamento de aminoácidos

Adaptado de (Muller –Harvey, 2006)

Figura 2- Proteína de escape ruminal.

Portanto, os taninos podem exercer o seu efeito inibitório sobre a degradação da proteína no rúmen, protegendo a proteína vegetal de clivagem por proteases, ou através da inibição direta das proteases por si, ou por uma combinação dos dois. Experimentos *in vitro*, levaram à hipótese de que complexos estáveis entre taninos e proteína são formados no pH prevalente no rúmen (pH 6-7) e que mudanças no pH pós ruminal do abomaso (pH <3,5) dissocia os complexos de proteína de tanino, liberam proteína a partir destes complexos, assim tornando-o disponível para a digestão gástrica ou pancreática, resultando num aumento da digestão e absorção de aminoácidos essenciais úteis ao longo de todo o comprimento do intestino delgado (AERTS et al., 1999; MUELLER-HARVEY, 2006). Patra e Saxena, (2011) esquematizaram essa relação na Figura 3.



Adaptado de Patra e Saxena (2011)

Figura 3- Fatores que podem afetar a formação e dissociação do complexo tanino proteína.

Alguns estudos relataram uma melhora na eficiência da síntese de proteína microbiana, como a casca da semente de tamarindo (*Tamarindus indica*) (140 g kg⁻¹ taninos MS) que melhorou a eficiência de síntese de proteína microbiana *in vitro* (BHATTA et al., 2001). Além de Bhatta et al. (2001), Al Dobaib (2009) também observaram que os taninos de Quebracho aumentaram a síntese de proteína microbiana em uma dieta com Leucena oferecida a ovinos em doses de 10 e 20 g kg⁻¹ de MS. Entretanto, Komolong et al. (2001) não observaram melhora no metabolismo de proteínas, tais como a degradação de proteínas e fornecimento de proteína pós-ruminal em ovinos alimentados com Leucena em níveis baixos a moderados (0-60 g kg⁻¹ de MS) de taninos de Quebracho como porção líquida.

Pode ocorrer uma redução da degradação proteica no rúmen devido à formação de complexos tanino-proteína no pH do rúmen e inibição do crescimento e atividade das populações de bactérias proteolíticas. Ambos os taninos, condensados e hidrolisáveis, interagem com as proteínas, formando pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e grupos carboxílicos alifáticos e aromáticos de cadeias laterais das proteínas e através de interações hidrofóbicas. A força de ligação das interações proteína-tanino determinam as respostas da ação dos taninos sobre a digestibilidade da

proteína no trato digestivo (WAGHORN, 1994; MUELLER HARVEY, 2006; PATRA e SAXENA, 2011).

Efeito sobre a quantidade de colesterol sanguíneo

Colesterol elevado, hipertensão arterial e obesidade são problemas metabólicos que estão relacionados com a dieta, como consumo insuficiente de frutas e vegetais e consumo em excesso de sais, açúcar e gorduras. Isoflavonas, o ingrediente bioativo em produtos hortícolas, não apenas causam uma pequena redução do colesterol no sangue, mas também reduzem a pressão e dimensões arteriais do sangue, e o estresse oxidativo (JAGANATH e CROZIER, 2010).

Flavonóides (taninos) podem reduzir a absorção do colesterol através da interação com transportadores de colesterol e transportadores através da membrana da borda em escova. Esta redução na absorção de colesterol diminui a chegada de colesterol para o fígado, que por sua vez, regula a expressão do receptor de LDL para compensar a menor disponibilidade de substrato disponível e induz reduções do colesterol plasmático (LOKE et al., 2010).

Flavonóides dietéticos também demonstraram afetar a produção hepática de lipoproteínas e inibir a esterificação do colesterol através de sua ligação com a membrana plasmática de transporte P-glicoproteína. As reduções nos triglicérides plasmáticos pelos flavonóides podem ocorrer como resultado da redução da atividade da proteína de transferência de microssomas e um aumento da atividade lipoproteína lipase, o que pode alterar adicionalmente a cascata de deslipidação, produzindo menos LDL em circulação. O mecanismo é por meio da inibição da secreção de apoB100 no fígado (LOKE et al., 2010) .

Silva et al. (2009) trabalhando com frangos de corte e diferentes níveis de substituição de milho por sorgo (0, 25, 50, 75 e 100%) alto tanino na dieta, observaram decréscimo nos índices de gordura abdominal, da moela e índice hepatossomático conforme crescia a proporção de tanino. Além disso, foi observado que a substituição de 75% do milho pelo sorgo, proporcionou menor concentração de colesterol total plasmático, sem interferir no rendimento da carcaça das aves.

REFERÊNCIAS

- AERTS, R.J. BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 75, p.1-12, 1999.
- AL-DOBAIB, S.N. Effect of different levels of quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. **Animal Science Journal**. v. 80, p.532–541, 2009.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L.K.; MACEDO, G. A.; FONTES, E. Aplicações de Taninos e Tanases em Alimentos. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v.15, n.1, p.63-72, 2004.
- BELE, A.A.; VARSHA, M.J; KADAM, V.J. Potential of Tannins: A review. **Asian Journal of Plant Sciences**. v. 9, n. 4, p. 209-214, 2010.
- BHATTA, R.; KRISHNAMOORTHY, U.; MOHAMMED, F. Effect of tamarind (*Tamarindus indica*) seed husk tannins on *in vitro* rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**. v. 90, p.143–152, 2001.
- BRANDÃO, L.F.G.; COSTA, C.M.D.; LACERDA, D.P.; SIQUEIRA, J.M. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 5, n.3,p. 33 - 38, 2008.
- BOUCHER, P.; LORGERIL, M.; SALEN, P.; CROZIER, P.; DELAYE, J.; VALLON, J.J.; GEYSSANT, A.; DANTE, R. Effect of Dietary Cholesterol on Low Density Lipoprotein-Receptor, 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase, and Low Density Lipoprotein Receptor- Related Protein mRNA Expression in Healthy Humans. **Lipids**. v. 33, n. 12, p. 1177-86, 1998.
- CABRAL FILHO, S.L.S. Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovinos. 2004. 77p. **Tese (Doutorado)** – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP – Piracicaba - SP, 2004.
- CARREÑO, D.; HERVÁS, G.; TORAL, P.G.; BELENGUER, A.; FRUTOS, P. Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate *in vitro* ruminal biohydrogenation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. v. 202, p. 42–51, 2015.
- CAYGILL, J.C.; MUELLER HARVEY, I. Secondary plant products, anti-nutricional and beneficial actions in animal feeding. **Nottingham University Press, 2000**.
- CHUNG, K.T.; WONG, T.Y.; WEI, C.I.; HUANG, Y.W.; LIN, Y. Tannins and Human Health: A Review. DOI: 10.1080/10408699891274273. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 38, n. 6, p. 421–464, 1998.

FARIA, B.N.; LEITE, L.A. Manipulação da Fermentação Ruminal. In: GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; FERREIRA, P.D.S. **Alimentação de Gado de Leite**. Ed. FEPMVZ. Cap. 8, p. 212- 244. 2009.

GOEL, G.; PUNIYA, A.K.; AGUILAR, C.N.; SINGH, K. Interaction of gut microflora with tannins in feed. **Naturwissenschaften. Dairy Microbiology Division**. India. v. 92, p. 497-503, 2005.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M.; WAGHORN, G. C.; ECKARD, R. J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 89, p.241–251, 2009.

HASLAM, E. **Plant polyphenols—vegetable tannins**. Cambridge University Press, UK, 1989.

HASLAM, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. **Journal of Natural Products**. v. 59, n, 2, 1996.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. **Journal of Biology Chemistry**. v. 256, p. 4494–4497, 1991.

HART, K.J.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; DUVAL, S.M.; MCEWAN, N.R.; NEWBOLD, C.J. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**. v. 147, p. 8–35, 2008.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, 2010. Acesso em: 15/01/2014. Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa_201001_5.shtm

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2015**. ISSN 0103-443X. Rio de Janeiro v. 29 n.10 p.1-79 outubro. 2015 disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201510.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201510.pdf)

JAGANATH, I. B.; CROZIER, A. Dietary Flavonoids and Phenolic Compounds. (cap. 1) In: FRAGA, C.G. **Plant Phenolics and human Health**. Biochemistry, nutrition and pharmacology. Wiley. USA. 2010. 610p.

KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G.; MCNEILL, D.M. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. **Animal Feed Science and Technology**. v. 92, p, 59–72, 2001.

LEKHA, P.K.; LONSANE, B.K. Production and application of tannin acyl hydrolase: state of the art. **Advances in Applied Microbiology**. 44:215–260 (1997). Central Food Technology Research Institute. Mysore, India. Disponível em 11 out 2014, Google books.

LOKE, W.M.; HODGSON, J. M.; CROFT, K.D. The Biochemistry Behind the Potential Cardiovascular Protection by Dietary Flavonoids (Cap. 5) In: FRAGA, C.G. **Plant Phenolics and human Health**. Biochemistry, nutrition and pharmacology. Wiley. USA, 610, p. 2010.

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

McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v. 91, p. 83–93, 2001.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; MCNABB W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**. v. 106, p. 3–19, 2003.

MIN, B.R.; HART, S.P.; MILLER, D.; TOMITA, G.M.; LOETZ, E.; SAHLU, T. The effect of grazing forage containing condensed tannins on gastro-intestinal parasite infection and milk composition in Angora does. **Veterinary Parasitology**. v. 130, p. 105–113, 2005.

MUELLER-HARVEY, I.; McALLAN, A.B. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. 1992. In: **Advances In Plant Cell Biochemistry and Biotechnology**. v.1, p. 151-186, 1992.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of Science and Food Agriculture**. v. 86, p. 2010–2037, 2006.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova, São Paulo**. v. 28, n. 5, 2005. p. 892-896. ISSN 0100- 4042.

NRC. Requirements of Nutrients of Poultry (**9th Ed.**), **National Academy Press**, Washington, DC.1994

O'CONNELL, J.E.; FOX, P.F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. **International Dairy Journal**. v. 11,p. 103–120, 2001.

PATRA, A.K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. DOI 10.1002/jsfa.4152. **Journal of Science and Food Agriculture**; v. 91.p, 24–37, 2011.

POQUET, L.; CLIFFORD, M.N.; WILLIAMSON, G. Bioavailability Of Flavonols And Phenolic Acids. (cap. 2) In: FRAGA, C.G. **Plant Phenolics and human health, Biochemistry, nutrition and pharmacology**. Wiley. USA, 610p. 2010.

SEKI-DIAS, L.T.; MACHADO, C.R.; CARVALHO, M.R.B.; SEKI, M.C.; SILVA, J.T.D.; PINTO, M.M. Estudo da síntese de lipoproteínas em frangos de corte alimentados com rações contendo sorgo e/ou ácido tânico. In: Congresso de Iniciação Científica, Presidente Prudente. **Resumos**, (2002).

SEKI-DIAS, L.T. Efeitos do tanino e do ácido tânico sobre os lipídios plasmáticos e morfometria do fígado e pâncreas em frangos de corte. **Tese**. 2004. 60p. (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2004.

SHAHIDI, D.; NACZK, M. Food Phenols, Sources, Chemistry, Effects and Applications. **Technomic, Lancaster-Pennsylvania**, 1995.

SCHEUERMANN, G.N. Utilização do sorgo em rações para frangos de corte. **UBA-Informa (Informativo Técnico – União Brasileira de Avicultura)**. p. 95-96, 2003.

SILVA, J.D.T.; DIAS, L.T.S.; MACHADO, C.R.; CARVALHO, M.R.B.; RIZZO, P.V. Uso de Sorgo com Baixo Teor em Taninos na Alimentação de Frangos de Corte. **Nucleus Animalium**, v. 1, n.2. 2009.

SILVA, J.D.T.; CARVALHO, M.R.B.; MACHADO, C.R.; et al. Efeito do sorgo e do ácido tânico na deposição de gordura visceral e abdominal em frangos de corte. In: **Congresso de Iniciação Científica**, Presidente Prudente. Resumos. 2002.

WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; McNABB, W.C. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 1. Non-nitrogenous aspects. *Journal Agriculture Science (Camb)* 2. Nitrogenous aspects. **Journal Agriculture Science (Camb)** v. 123, p. 99–107 / 109–119, 1994.

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

WALLACE, R.J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 63, p. 621–629, 2004.

CAPÍTULO II

DESEMPENHO E PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE VACAS ALIMENTADAS COM DUAS FONTES DE TANINO

DESEMPENHO E PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE VACAS ALIMENTADAS COM DUAS FONTES DE TANINO

RESUMO: Cinco vacas mestiças holandês/zebu em lactação foram distribuídas em quadrado latino 5×5 com o objetivo de avaliar dietas taniníferas à base de sorgo (tanino condensado) e níveis crescentes de ácido tânico (tanino hidrolisável) sobre o consumo, digestibilidade, produção de leite e parâmetros sanguíneos (ureia, ácido úrico, creatinina, TGO (transaminase glutâmico-oxalacética), TGP (transaminase glutâmico-pirúvica), glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL) de vacas. Amostras de fezes foram recolhidas nos 1º, 3º e 5º dias, dos 5 dias de coleta de cada período experimental. Amostras de sobras foram realizadas nos 5 dias de coleta de cada período experimental. A produção de leite foi registrada diariamente por pesagem individual e amostradas nos últimos 5 dias de coleta de cada período experimental duas vezes ao dia e acondicionadas em ambiente refrigerado -20°C . A produção de leite corrigida para 4% de gordura foi estimada utilizando-se a fórmula de Gaines (1928). As amostras de sangue foram obtidas nos 1º, 3º e 5º dias, dos 5 dias de colheita de cada período experimental, pela manhã, 4h após a alimentação dos animais, por punções da veia jugular, sendo o sangue recolhido em tubos vacuolizados de 10mL. As dietas continham 35 kg de silagem de milho como volumoso e 6,380kg de concentrado. A dieta 1 (controle), continha sorgo de reduzido teor de tanino, o qual foi substituído nas demais dietas pelo sorgo de elevado teor de tanino. Os níveis de ácido tânico adicionados às dietas foram estabelecidas com base na análise da quantidade de tanino condensado constituinte do sorgo de alto tanino. Deste modo, nas dietas 2, 3, 4 e 5 foi adicionado 1,5, 79,5, 157,5 e 235,5g de ácido tânico, respectivamente. O consumo de matéria natural e matéria seca não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. O consumo em função do peso vivo não diferiu ($P>0,05$) para MS e FDN, mas diferiram significativamente ($P<0,05$) para EE. A digestibilidade aparente da MS, PB, EE, FDN, CHOT e CNF não diferiu ($P>0,05$) com o incremento de tanino na dieta. De todos os parâmetros sanguíneos analisados apenas os níveis de (transaminase glutâmica oxalacética) TGO e hemoglobina apresentaram diferença significativa ($P<0,05$). Os níveis de TGO tiveram um comportamento linear (com ponto de mínima 72,29 U/L e máxima 84,60 U/L), sem, no entanto apresentarem toxidez. A inclusão de tanino na dieta não causou depressão no

consumo nem na digestibilidade, indicando que a saúde dos animais não foi afetada. A produção de leite foi decresceu linearmente em média 0,350 kg de leite a medida que aumentou a inclusão de tanino na dieta.

Palavras chave: ácido gálico; hepato toxicidade; primíparas.

DESEMPENHO E PARÂMETROS SANGUÍNEOS DE VACAS ALIMENTADAS COM DUAS FONTES DE TANINO

ABSTRACT: Five crossbred holstein/ zebu cows were distributed in a 5×5 latin square in order to evaluate tanniniferous diets based on sorghum (condensed tannin) and increasing levels of tannic acid (hydrolyzable tannin) on intake, digestibility, milk production and blood parameters of cows. Feces samples were collected at 1st, 3rd and 5th of the 5 collection period days, of each experimental period. Leftovers samples were collected at the 5 collection days, of each experimental period. Milk production was recorded daily for individual weighing and collected at the 5 collection days of each experimental period twice daily and stored in refrigerated environment at -20°C. The milk yield was corrected to 4% of fat, it was estimated using the Gaines formula (1928). The blood samples were collected at 1st, 3rd and 5th of the 5 collection period days, of each experimental period, in the morning, 4 hours after the animals feeding by jugular vein puncture, the blood was collected in 10 mL vacuoles tubes. The five diets contained 35 kg of corn silage as bulky and 6,380 kg of concentrate. Diet 1 (control) contained low tannin sorghum, which has been substituted in the other diets for high tannin content Sorghum. The tannic acid levels added to diets were based on high tannin sorghum analysis and the total condensed tannin amount constituent. Thus, in the diets 2, 3, 4 and 5 was added, 1.5, 79.5, 157.5 and 235,5g of tannic acid respectively. Consumption of natural and dry matter did not differ ($P > 0.05$) between treatments. The consumption as a body weight function did not differ ($P > 0.05$) for DM and NDF and differed significantly ($P < 0.05$) for EE. The apparent digestibility of DM, CP, EE, NDF, NFC and CHOT did not differ ($P > 0.05$) with increasing dietary tannin. All blood parameters analyzed only levels (Aspartate transaminase) of AST and hemoglobin showed significant differences ($P < 0.05$). The levels of AST have a linear behavior (with a minimum point of 72.29 U / L and maximum 84.60 U / l), without however

presenting toxicity. The inclusion of tannin in the diet did not cause depression in the intake or digestibility, indicating that the health of the animals was not affected. Milk production was decreased linearly on average 0.350 kg of milk as increased inclusion of tannin in the diet.

Key words: galic acid; hepato-toxicity; primiparous cows.

INTRODUÇÃO

A anatomia e fisiologia digestiva dos bovinos e outros ruminantes é acentuadamente diferente dos não ruminantes. O ruminante tem três órgãos digestivos adicionais na porção anterior do estomago, que permitem a população microbiana extrair e o hospedeiro absorver a energia do material vegetal fibroso, caso contrário não disponível para enzimas de mamíferos (HART et al., 2008). A digestão dos alimentos no rúmen ocorre por uma combinação de fermentação microbiana e quebra física durante a ruminação. A colonização microbiana é conduzido por uma população mista de bactérias e protozoários ciliados, em conjunto com uma menor população de fungos anaeróbios (HART et al., 2008).

Como resultado da localização do rúmen, anterior ao abomaso, os alimentos consumidos pelos ruminantes são expostos a colonização microbiana antes da digestão gástrica e intestinal. O rúmen é essencialmente uma câmara de fermentação em que o ataque microbiano ajuda a digerir a dieta. Assim, ao contrário dos fermentadores de intestino grosso os produtos da fermentação microbiana ruminal, são principalmente ácidos graxos voláteis (AGV) (ácidos propiônico, butírico e acético) e proteína microbiana, e estão disponíveis para absorção no próprio rúmen e intestino delgado (HART et al., 2008; FARIA e LEITE, 2009). Os AGV's formados no rúmen podem fornecer a maioria das necessidades energéticas do animal (cerca de 80%), enquanto a proteína microbiana pode explicar muito (tipicamente 60-85%) se não a totalidade da proteína que entra no intestino delgado (HART et al., 2008).

Visando obter o máximo de eficiência na produção ruminal e animal, práticas modernas de alimentação têm sido utilizadas na tentativa de se manipular a fermentação no rúmen, melhorando o desempenho ruminal, e a produção de leite reduzindo custos. A composição do leite bovino, em especial as frações lipídicas e de N, são influenciadas por vários fatores, incluindo nutrição, idade, estágio de lactação e raça (CARROLL et al., 2006). O ambiente microbiano no rúmen pode ser manipulado diretamente pela adição de novos microrganismos para a população nativa do rúmen ou, indiretamente, de forma que alteram o equilíbrio dos microrganismos concorrentes (KNOWLES et al.,

2006). A maioria das pesquisas sobre a modificação da flora microbiana do rúmen tem enfatizado os benefícios em produtividade animal através da melhoria da degradação ruminal da fibra e utilização da proteína, ou redução dos gases que causam o efeito estufa (McSWEENEY et al., 1999).

Nas últimas décadas, uma série de aditivos químicos, tais como antibióticos, ionóforos, inibidores de metano e agentes defaunadores foram utilizados na nutrição de ruminantes para modular a fermentação ruminal, para aumentar o crescimento e a produção de leite e melhorar o consumo de ração e eficiência. Mas, a maioria destes suplementos não podem ser utilizados rotineiramente por causa de problemas de toxicidade para os animais hospedeiros e a adaptação microbiana para estes aditivos (PATRA, 2011). Além disso, a legislação atual, 1831/2003; EC, (2003) que foi introduzida na União Europeia proíbe o uso de antibióticos promotores de crescimento em rações animais (EURFA, 2014). Como o Brasil é um dos grandes exportadores de carne, respeitar esta lei é de grande interesse.

Usado para descrever metabólitos “não-nutritivos” de plantas que são essenciais para a sobrevivência (proteção contra herbívoros, pragas e microrganismos) e o bom funcionamento do crescimento e reprodução em plantas, o termo "fitoquímicos", vem causando um crescente interesse entre nutricionistas e microbiologistas nos últimos anos. Com a intenção de explorar esses compostos fitoquímicos bioativos, saponinas, taninos e óleos essenciais, Pesquisas tem sido realizadas com o intuito de encontrar respostas positivas sobre o metabolismo ruminal, aumentando assim a eficiência da produção dos ruminantes. Os fitoquímicos bioativos, particularmente, com seletivas propriedades antimicrobianas, são de interesse na nutrição animal (PATRA e SAXENA, 2009), podendo aperfeiçoar a fermentação ruminal, e o metabolismo de proteínas, diminuir a produção de metano e reduzir o estresse nutricional, como timpanismo (PATRA, 2011).

Neste sentido, atualmente reconhece-se que (GOEL et al., 2005) os taninos têm efeitos benéficos e adversos, (AERTS et al., 1999, GRABBER, 2009), dependendo de seu tipo e estrutura química, da espécie vegetal advinda, da quantidade ingerida ou concentração e da espécie e particularidade de cada animal (MAKKAR, 2003; MUELLER-HARVEY, 2006).

Dentre os inúmeros benefícios que os taninos podem trazer aos ruminantes, temos: melhor utilização da proteína dietética, aumento das taxas de crescimento, de peso vivo ou lã, produção de leite mais elevada, aumento da fertilidade e melhoria do bem-estar animal e da saúde através da prevenção de timpanismo e redução da carga parasitária (MUELLER-HARVEY, 2006).

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o consumo, digestibilidade, produção de leite e os parâmetros sanguíneos de vacas em lactação alimentadas com dietas taniníferas à base de sorgo (tanino condensado) e níveis crescentes de ácido tânico (tanino hidrolisável).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias/UFPB, Campus II, no município de Areia/PB, no período de fevereiro a maio de 2015.

Foram utilizadas cinco vacas primíparas mestiças de holandês/zebu com aproximadamente quatro anos de idade, peso vivo médio de 420 ± 30 kg, com aproximadamente 100 dias de lactação, com produção média inicial de 18 ± 4 kg/dia. Antes de iniciar o experimento, as vacas foram vermifugadas e tratadas contra ectoparasitas com Ivermectina 3,5%, e submetidas à adaptação às instalações, às dietas experimentais e ao manejo da estabulação por 10 dias.

O experimento foi dividido em 5 períodos, com 20 dias cada, sendo 15 dias para adaptação às dietas e 5 dias de coleta de dados, totalizando 100 dias experimentais. As vacas foram pesadas antes do início do experimento e a cada início de período. As vacas foram estabuladas em baias individuais com 18 m^2 , piso concretado, equipadas com cochos e bebedouros. A dieta experimental foi ofertada na forma de volumoso e concentrado numa relação volumoso: concentrado fixa de 64:36, formulada para atender as exigências de lactação, segundo recomendações do NRC (2001), fornecidas duas vezes ao dia, às 06:00h e às 13:30h, logo após as ordenhas. As sobras foram pesadas, diariamente, para determinação do consumo.

Todas as vacas receberam diariamente, 35 kg de silagem de milho como volumoso e 6,38 kg de concentrado composto por, 3kg sorgo moído, 1kg milho moído, 1,5 kg farelo de soja, 0,5 kg farelo de trigo, 0,2 kg ureia e 0,18 kg de mistura mineral (Bovigold®). A dieta 1 (controle), continha o sorgo cultivar BRS Ponta Negra, na tentativa de oferecer o mínimo de tanino possível, as demais dietas continham o sorgo cultivar A9904, que foi o cultivar com maior quantidade de tanino disponível, conforme Tabela 1.

Para se alcançar as doses crescentes de tanino adicionou-se ácido PA ($C_{76}H_{52}O_{46}$), adquirido através da empresa Anidrol® (produtos para laboratório), por ser uma fonte de tanino hidrolisável.

Tabela 1- Composição físico-química, proporção dos ingredientes da dieta, concentração de tanino condensado e tanino hidrolisável (ácido Tânico) nas dietas experimentais em kg

	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5
Silagem de milho (kg)	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Milho moído (kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farelo de soja (kg)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Farelo de trigo (kg)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ureia (kg)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Mistura mineral* (kg)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Sorgo A9904 (kg)	0,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sorgo Controle (kg)	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido tânico (kg)	0,00	0,015	0,0795	0,158	0,236
Total	41,38	41,4	41,46	41,54	41,62

* carbonato de cálcio; cloreto de potássio; cloreto de sódio (sal comum); enxofre ventilado (flor de enxofre); Fosfato bicálcico; óxido de magnésio; carbo amino fosfoquelato de cobre; carbo amino fosfoquelato de cromo; carbo amino fosfoquelato de enxofre; carbo amino fosfoquelato de ferro; carbo amino fosfoquelato de manganês; carbo amino fosfoquelato de selênio; carbo amino fosfoquelato de zinco; Hidróxido de tolueno butilado (BHT); Iodato de cálcio; monóxido de manganês; selenito de sódio; sulfato de cobalto; sulfato de cobre monohidratado; sulfato de zinco; vitamina A; vitamina D3; vitamina E.

Os níveis de ácido tânico adicionados às dietas foram estabelecidos com base na análise da quantidade de tanino condensado constituinte do sorgo de alto tanino, que, de acordo com a metodologia do HCL- Butanol (HAGERMAN e BUTLER, 1978) realizado no Laboratório de Bromatologia da UAG- UFRPE o A9904 (cultivar A9904) foi de 2,55% de tanino condensado total na MS, e o sorgo controle (cultivar BRS Ponta

Negra) 0,92% de tanino condensado total na MS pela metodologia Terril et al. (1992) realizado na EMBRAPA Sete Lagoas - MG.

O concentrado foi oferecido separado do volumoso na tentativa de assegurar o total consumo do ácido tânico contido no concentrado. O ácido tânico nas proporções pré-determinadas foram misturadas ao concentrado no dia anterior ao fornecimento no cocho. Deste modo, nas dietas 2, 3, 4 e 5 foram adicionados 1,5, 79,5, 157,5 e 235,5g de ácido tânico, respectivamente. Proporcionando um incremento no percentual de tanino total nas dietas, conforme Tabela 2.

Tabela 2- Contribuições percentuais e em kg do tanino condensado do sorgo e do ácido tânico adicionado artificialmente.

Dieta	Contribuição TC do sorgo (%)	Adição do ác. tânico (%)	Contribuição TC do sorgo (3kg)	Adição do ác. tânico (kg/dia)	Tanino total na dieta (%)	Total tanino (kg/dia)
Dieta 1	0,46	0,00	0,0276	0,0000	0,46%	0,0276
Dieta 2	1,27	0,03	0,0765	0,0150	1,30%	0,0780
Dieta 3	1,27	1,33	0,0765	0,0795	2,60%	0,1560
Dieta 4	1,27	2,63	0,0765	0,1575	3,90%	0,2340
Dieta 5	1,27	3,93	0,0765	0,2355	5,20%	0,3210

Deste modo, nas dietas experimentais foram oferecidas duas fontes de tanino. Condensados, através dos dois cultivares de sorgo e hidrolisáveis, através do ácido tânico.

A água foi disponibilizada à vontade para os animais. A composição nutricional percentual dos ingredientes das dietas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais (%)

	MS	PB	EE	FDN	MM	CNF	CHOT
Ingrediente							
Silagem	28,19	7,96	2,20	55,08	4,77	33,62	84,79
Milho moído	86,68	8,97	4,27	13,98	1,17	74,47	80,61
Sorgo A9904	85,85	9,28	2,80	14,03	3,49	73,90	82,41
Sorgo Controle	79,61	9,34	2,80	14,03	3,49	73,90	82,41
Farelo de trigo	87,73	16,40	1,70	44,50	6,26	30,05	73,99
Farelo de soja	88,30	48,78	1,97	14,46	6,13	30,40	43,45
Ureia	100	283	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mistura mineral	100	0,00	0,00	0,00	100	0,00	0,00

Matéria seca (MS), Proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), Fibra em detergente neutro (FDN), Matéria mineral (MM), carboidratos não fibrosos (CNF), Carboidratos totais (CHOT)

A composição nutricional percentual das dietas já adicionadas de ácido tânico encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4- Composição nutricional das dietas experimentais (concentrado mais volumoso) (%)

Tratamento	MS	PB	EE	FDN	MM	CNF	CHOT
Dieta 1	36,85	15,55	1,99	38,66	5,48	33,68	68,92
Dieta 2	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 3	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 4	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 5	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27

A produção de leite foi registrada diariamente por pesagem individual (kg/dia). As amostras de leite foram realizadas nos últimos 5 dias de coleta de cada período experimental, duas vezes ao dia (manhã e tarde).

As amostras de leite da ordenha da manhã foram acondicionadas em recipiente plástico e acondicionada em ambiente refrigerado para, posteriormente, serem misturadas às amostras do leite da ordenha da tarde, formando uma amostra composta/vaca/dia. Para as coletas foram utilizadas garrafas plásticas estéreis, com capacidade para 100 e 200 mL, e em seguida foram armazenadas em freezer a -20°C para posterior análise.

A produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLCG) foi calculada utilizando-se a fórmula de Gaines (1928) proposta pela NRC (2001): PLC (4%) = [(PL x 0,4) + (% Gleite x 0,15)].

PL = kg de leite produzido

% Gleite = % gordura do leite

O teor de nitrogênio total do leite foi determinado pelo método de Kjeldahl (2000), utilizando o fator de correção adaptado para leite 6,38 (AOAC, 2000 COD. MET POA/11/02/01).

Para a determinação de gordura foi usada a metodologia de Folch (1957). A análise de alantoína do leite foi realizada no Laboratório de Leite do Departamento de Zootecnia da UFRPE de acordo com, Chen e Gomes (1992).

As amostras de sangue foram realizadas nos 1º, 3º e 5º dias, da fase de coleta de cada período experimental, pela manhã, 4 horas após a alimentação dos animais, por punções da veia jugular, sendo o sangue recolhido em tubos vacuolizados de 10mL. As amostras depois de coletadas foram imediatamente resfriadas para, em um período máximo de 45 minutos pós-coleta realizar o hemograma completo (sem ativador de coágulos), e em outra parte do sangue coletado (com ativador de coágulos), realizar a centrifugação a 3.000 rpm por 15 minutos para a obtenção do plasma, estas foram armazenadas em tubos do tipo eppendorf e mantidos a -20°C, até o momento da análise.

Do sangue coletado nos tubos vacuolizados (com ativador de coágulos), foram realizadas as análises de ureia, ácido úrico, creatinina, TGO (transaminase glutâmico-oxalacética), TGP (transaminase glutâmico-pirúvica), glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL. As análises de sangue foram realizadas no Analisador Bioquímico Automático LABMAX 240 (2231.110.111) do Laboratório do Hospital Veterinário da UFRPE.

As amostras de fezes foram realizadas nos 1º, 3º e 5º dias, da fase de coleta de cada período experimental. As amostras de sobras de alimentos foram coletadas nos 5 dias de coleta de cada período experimental e registradas diariamente por pesagem individual (kg/dia).

As amostras de alimento, sobras de alimento e fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e pesadas. Em seguida foram trituradas em moinho tipo “Willey” com peneira de 1 mm. Para determinação dos teores de matéria seca (MS) foram secas em estufa a 105°C durante 24 horas, e para determinar cinzas

(MM) por incineração em mufla a 600°C (SILVA e QUEIROZ, 2002). O teor de proteína bruta (PB) e nitrogênio total (N) foram determinados pelo método Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando o fator de correção de 6,25. A determinação dos teores de extrato etéreo (EE) foi realizada em sistema de refluxo de éter (Soxtherm, Gerhardt, Alemanha) a 180°C. A determinação da fibra em detergente neutro (FDN), teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) foram determinadas segundo Van Soest et al. (1991).

As dietas experimentais foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do CCA/DZ/UFPB para a matéria seca (MS), cinzas (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com Silva e Queiroz (2002). As determinações de fibra em detergente neutro (FDN), foram de acordo com os métodos de Van Soest et al. (1991) e energia bruta foi obtida por oxidação da amostra em bomba calorimétrica. Os valores de carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com o NRC (2001).

As estimativas de consumo de matéria seca e dos nutrientes foram obtidas determinando-se os teores de MS, MO, PB, EE e cinzas, FDN, FDA, CHOT e consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) segundo Sniffen (1992), e CNF foi preconizado por equação proposta por Hall et al. (1999) em ensaio e digestibilidade.

$$\text{CHOT} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$$

$$\text{CNF} = \% \text{CHOT} - \% \text{FDN}_{\text{cp}}, \text{ sendo a FDN corrigida pra cinzas e proteína.}$$

$$\text{CNDT} = (\text{CPBD} + \text{CCNFD} + \text{CFDN} + (\text{CEED} \times 2,25))$$

$$\% \text{NDT} = (\text{Consumo de NDT} / \text{Consumo de MS}) \times 100$$

Para o ensaio de digestibilidade as amostras de alimento, sobras e fezes foram armazenadas, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e pesadas. Em seguida foram trituradas em moinho tipo “Willey” com peneira de 2 mm. Para avaliação de indicadores internos em alimentos e fezes, procedimento *in situ* com uso de sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), foi utilizado um boi holandês/zebu, com cânulas no rúmen.

Os sacos de TNT respeitaram a relação de 20 a 25 mg de matéria seca por cm² de superfície. Sendo: 0,9g para rações e matérias primas, 0,2g para fezes, 0,3g para silagem e 0,7g para sobras de alimento. O tempo de incubação foi de 240 horas, para

determinação dos teores de matéria seca indigestível (MSi) e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) conforme (DETMAN et al., 2012).

Uma vez retirados do rúmen, os sacos foram imediatamente imersos em água com gelo, sendo em seguida lavados por diversas vezes até que a água se apresentasse límpida; secos em estufa de pré-secagem por aproximadamente 48 horas a 60°C, e em estufa não-ventilada (105°C) por 60 minutos, pesados e lavados para as análises laboratoriais.

O trabalho foi executado de acordo com as normas de ética para pesquisa envolvendo animais, sendo submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba CEUA/BIOTEC/UFPB.

Para as avaliações de produção, desempenho, composição do leite e análises bioquímicas utilizou-se o delineamento em quadrado latino 5x5, simples, com cinco animais e quatro níveis de inclusão de ácido tânico na dieta (1, 2, 3, 4 e 5), com base na matéria seca. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando-se o programa estatístico SAS, considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de matéria natural (MN) e matéria seca (MS) não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos, o que significa que a dose máxima de ácido tânico (tanino hidrolisável) somada a dose de tanino condensado do sorgo ofertada (0,3210 kg/vaca/dia), não causou queda significativa da palatabilidade ao ponto de afetar o consumo das vacas neste experimento. Makkar et al. (1995), relataram que a presença do tanino no grão de sorgo está associada com o baixo consumo de matéria seca (MS), fato não observado neste experimento (Tabela 5).

Grainger et al. (2009) testando a inclusão de tanino condensado purificado na dieta de vacas em lactação observaram um consumo médio de MS variando de 17,4 a 12,8 kg/dia, o que representou uma ingestão média de tanino de 163g/dia a 244g/dia. Neste experimento a ingestão de tanino (condensado e ácido tânico) variou entre 27g/dia e 321g/dia, sem, no entanto, ter o consumo afetado.

Tabela 5- Consumos médios e consumo em função do peso vivo das dietas experimentais

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	P	
	Consumos (kg/dia)					L	Q
MN	40,55	40,34	41,16	40,91	39,96	0,80	0,37
MS	14,75	14,40	14,92	14,80	14,08	0,57	0,48
PB	2,11	2,08	2,12	1,98	2,09	0,79	0,21
EE*	0,42	0,34	0,40	0,38	0,36	0,01	0,25
FDN	7,64	7,28	7,66	6,96	7,52	0,72	0,55
CHOT	10,81	10,09	10,88	9,75	10,65	0,65	0,35
CNF	4,96	4,74	5,00	4,58	4,92	0,89	0,20
NDT	8,09	8,90	8,53	7,61	8,38	-	-
	Consumo (%PV)						
MS	3,42	3,34	3,47	3,45	3,26	0,63	0,45
FDN	1,84	1,71	1,78	1,59	1,69	0,80	0,48
PB	0,51	0,49	0,49	0,45	0,47	-	-

* Diferiram estatisticamente ($P < 0,05$). Matéria natural (MN) matéria seca (MS), proteína bruta (PB), *extrato etéreo (EE) $y = -0,0075x + 0,4035$, $R^2 = 0,1541$, fibra em detergente neutro (FDN), Carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT), P- Probabilidade, Q- Quadrático, L- Linear

Cabral Filho (2004) oferecendo oito híbridos de sorgo com diversos teores de tanino para ovinos, também não observou diferença no consumo de MS. Soares et al. (2004) trabalhando com vacas leiteiras encontrou consumo de MS médio de 16,8kg/dia, valores ligeiramente maiores que os encontrados neste experimento.

Os consumos de PB, FDN, CHOT, CNF e NDT não diferiram ($P > 0,05$) com o aumento do teor de tanino na dieta, demonstrando que a presença do tanino hidrolisável não afetou negativamente o consumo de nutrientes dos alimentos. A pequena quantidade de tanino condensado presente no sorgo da dieta 1 pode ter contribuído para a não diferença estatística das demais dietas. A literatura cita alguns efeitos negativos do excesso de taninos na alimentação animal, como: depressão na palatabilidade do alimento, por formarem complexos com glicoproteínas salivares (GOEL et al., 2005) e consequente menor ingestão voluntária (CHANG et al., 1994; CHUNG et al., 1998; MONTEIRO et al., 2005) e eficiência alimentar reduzida (CHUNG et al., 1998) nos ruminantes e não ruminantes, além de menor digestibilidade da proteína, matéria seca, carboidratos e lipídios (CHANG et al., 1994; MONTEIRO et al., 2005), diminuição na energia metabolizável (CHUNG et al., 1998), menor ganho de peso e menor produção de leite (MULLER –HARVEY, 2006).

Entretanto, dos nutrientes avaliados apenas o EE teve seu consumo influenciado linearmente pelos níveis de tanino ($P < 0,05$) entre as dietas avaliadas, com equação $y = -0,0075x + 0,4035$, $R^2 = 0,1541$.

A inibição de lipídeos pode ser considerada como um dos mais importantes mecanismos de reação química que pode explicar as funções antioxidantes dos compostos fenólicos. Em termos gerais, antioxidante quebradores de cadeia, inibem ou retardam a oxidação lipídica, por interferência com iniciação ou com reações de propagação de cadeia pela doação de átomos de hidrogênio prontamente disponível para radicais peroxil lipídicos ou radicais lipídicos (FRAGA et al., 2010).

Soares et al. (2004) trabalhando com vacas leiteiras encontrou valores médios de consumo para: PB 2,68 kg/dia, EE 0,46 kg/dia, CHOT de 11,69 kg/dia, FDN 7,98 kg/dia e NDT 10,97 kg/dia, todos os valores muito semelhantes ao encontrado neste experimento, talvez, porque a composição da dieta base tenha sido muito similar, com ingredientes como fubá de milho, farelo de soja, farelo de trigo e silagem de milho.

O efeito negativo do tanino depende da dose oferecida, ou seja, pequenas quantidades de tanino podem beneficiar os ruminantes protegendo as proteínas da degradação bacteriana ruminal e prevenindo fermentação, porém, altas concentrações de tanino na dieta podem afetar negativamente a digestão dos nutrientes pela produção de complexos insolúveis de tanino-proteína e a inibição enzimas microbianas fibrolíticas (GOEL et al., 2005).

O consumo em função do peso vivo para MS, FDN e PB não diferiram ($P > 0,05$), o que pode ser explicado pelo consumo em termos absolutos também não ter sido afetado significativamente, demonstrando que, independente do tipo de tanino avaliado, não houve depressão no consumo.

O peso vivo corporal médio, a eficiência alimentar, a porcentagem de proteína no leite e a produção de leite corrigida para 4% não diferiram ($P > 0,05$) com o incremento de tanino na dieta, conforme demonstrado na Tabela 6. A produção (kg) de leite teve efeito linear, decrescendo a partir do 2º até o 5º tratamento, com equação de regressão, $y = -0,249x + 16,271$, $R^2 = 0,6677$, decrescendo em média 0,350 kg de leite a medida que se aumentava a inclusão de tanino. O percentual de gordura no leite cresceu linearmente ($P < 0,05$), com equação de regressão, $y = 0,138x + 3,114$, $R^2 = 0,5939$.

Tabela 6- Peso corporal médio das vacas, eficiência alimentar, produção de leite, gordura (%), proteína (%) e produção de leite corrigida para 4% de gordura, de vacas alimentadas com sorgo e níveis crescentes de ácido tânico.

Variável	Dieta	Dieta	Dieta	Dieta	Dieta	P	
	1	2	3	4	5	L	Q
Peso vivo corporal (kg)	431,2	433,6	437,8	449,2	456	0,96	0,70
Eficiência alimentar	1,07	1,11	1,06	1,04	1,05	0,41	0,85
Produção de leite (kg/dia)*	15,71	15,96	15,80	15,41	14,74	0,01	0,07
Gordura total (%)*	3,28	3,17	3,80	3,67	3,72	0,04	0,55
Proteína bruta (%)	3,45	3,50	3,27	3,62	3,28	0,66	0,73
Produção de leite 4%	14,04	14,00	15,30	14,67	14,19	0,61	0,23

* Diferiram estatisticamente. *Produção de leite, $y = -0,249x + 16,271$, $R^2 = 0,6677$. *Gordura total- $y = 0,138x + 3,114$, $R^2 = 0,5939$, P- Probabilidade, Q- Quadrático, L- Linear

Shi et al. (2013) indicaram que os efeitos de uma dose baixa e única de ácido gálico (600mg) em ratos, analisada em várias matrizes biológicas (plasma, extrato de fígado, urina, e fezes), afeta a glicogenólise, a glicólise, o ciclo de krebs, o metabolismo de nucleotídeos, colina, aminoácidos, ácidos biliares, bem como atividades microbianas intestinais. O que sugere que o ácido gálico induziu o estresse oxidativo, o que aumenta o gasto energético, e gera produção de mais ATP através da glicogenólise, glicólise e o ciclo de Krebs. A inclusão de tanino na dieta pode afetar o fluxo de energia para a produção de leite.

A digestibilidade aparente da MS, MO, MS, PB, EE, FDN, CHOT e CNF, não diferiram ($P > 0,05$) independente do tipo de tanino na dieta, conforme pode ser visto na Tabela 7, demonstrando que a máxima dose de tanino (condensados e hidrolisáveis) ofertada (321g), não influenciou negativamente a digestibilidade dos nutrientes das dietas.

Ferreira et al. (2009) trabalhando com novilhas alimentadas com cana de açúcar e ureia ou sulfato de amônio e concentrado, avaliaram vários indicadores em estudos com ruminantes e encontraram valores de digestibilidade para PB entre 65,89 e 73,76 e para CNF entre 91,82 e 93,61, valores semelhantes aos encontrados neste experimento.

A digestibilidade é um parâmetro que avalia o valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos ruminantes. Na Tabela 7 é possível observar as médias dos coeficientes de digestibilidade de acordo com as dietas. Taninos podem também reduzir a digestibilidade aparente do nitrogênio no alimento (WAGHORN, 2008; GRAINGER et al. 2009) entretanto neste trabalho não foram encontradas diferenças significativas.

Tabela 7- Coeficientes de digestibilidade (%) aparente da, MS, MO, PB, EE, FDN, CHOT e CNF das dietas experimentais.

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	L	Q
MS	63,84	62,35	64,13	62,36	60,24	0,27	0,53
MO	64,20	63,18	63,99	62,46	61,34	0,33	0,74
PB	58,57	56,78	61,66	51,96	54,21	0,16	0,59
EE	67,18	64,16	71,72	66,38	64,08	0,65	0,28
FDN	53,99	52,55	57,69	54,05	54,59	0,63	0,28
CHO T	65,99	63,43	64,31	60,24	63,67	0,87	0,58
CNF	91,32	89,75	87,13	85,19	90,69	0,68	0,39

Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), Carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF) P- Probabilidade, Q- Quadrático, L- Linear

Patra e Saxena, (2011) relatam que a digestibilidade aparente dos carboidratos solúveis parece não ser afetado pelos taninos. Altas concentrações de taninos condensados em *L. pedunculatus* (95 e 10,6 g kg⁻¹ de MS) reduziu a digestão dos carboidratos prontamente fermentáveis e hemicelulose no rúmen, mas isso foi contrabalançado pelo aumento da digestão pós-ruminal. Maiores concentrações de taninos (de baixo peso molecular) na dieta, que permanecem livres após a ligação com proteínas, pode deprimir a digestão das fibras por complexação com lignocelulose impedindo assim a digestão microbiana ou por inibição direta dos microrganismos celulolíticos e atividades de enzimas fibrolíticas ou ambos. Embora a natureza da ligação com carboidratos não tenha sido determinada, afirma-se que esta ligação é relativamente independente do pH e é influenciado pelo tipo de taninos (peso molecular, flexibilidade e solubilidade em água) incluído nas dietas (MAKKAR et al., 1995). A taxa reduzida de digestão de carboidratos, especialmente fibrosos, pode diminuir as concentrações de ácidos graxos voláteis totais no rúmen.

Na tentativa de garantir a saúde das vacas realizou-se todos os exames sanguíneos, para assegurar o acompanhamento nas possíveis mudanças metabólicas dos órgãos como os rins e o fígado e mudanças no metabolismo do colesterol e do sistema imunológico. Dos parâmetros sanguíneos analisados (Tabela 8), os níveis de TGO apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$).

Neste experimento, na dose mais alta de ácido tânico (235,5g/dia) na dieta, para a vaca de menor peso (± 420 kg) foi oferecido 560mg de ácido tânico por kg/PV, dose esta, que está abaixo da dosagem citada por Shi et al. (2013) que não observaram efeito tóxico evidente. TGO (ou AST Transaminase Glutâmico Oxalacética) e TGP (ou ALT

Transaminase Glutâmico Pirúvica) são enzimas presentes no fígado e em outros órgãos, que em altos níveis indicam doenças hepáticas. Os níveis de TGO cresceram linearmente ($P < 0,05$), apesar do comportamento, na maior dose de ácido tânico os níveis de TGO foram 84,59 U/L, o que ainda está dentro da normalidade sanguínea de TGO para vacas, segundo Kaneko et al. (1997), que é de até 132 U/L.

Tabela 8- Parâmetros sanguíneos e níveis de referência de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico.

Variável	Valor Refer.	Dieta					P	
		0%	1,3%	2,6%	3,9%	5,2%	L	Q
TGP U/L	0 - 38	30,59	29,72	32,91	39,57	31,57	0,14	0,25
TGO U/L*	0 - 132	72,29	77,34	72,56	84,60	76,48	0,01	0,14
Ureia mg/dL	23 - 58	56,13	50,88	54,13	51,25	52,87	0,69	0,68
Creatinina mg/dL	1,0- 2,0	1,14	1,12	1,15	1,18	1,11	0,99	0,55
Glicose mg/dL	45 - 75	49,72	47,18	44,60	44,43	49,93	0,76	0,06
Triglicerídeos mg/dL	0 - 14	9,62	10,57	7,40	10,06	25,29	0,21	0,23
Ácido Úrico	-- --	1,03	0,96	0,95	0,85	0,95	0,31	0,39
Colesterol total mg/dL	80 - 120	151,28	136,28	131,67	160,56	121,67	0,26	0,69
HDL	-- --	50,30	46,50	48,10	52,50	41,20	0,30	0,38
LDL	-- --	13,93	13,37	14,03	14,24	14,56	0,58	0,77
Eritrócitos 10^6 u/l	5 a 10	5,16	4,92	5,05	5,08	5,24	0,57	0,31
Hemoglobina mg/dL*	8 a 15	10,44	9,55	7,94	9,82	10,26	0,97	0,05
Hematócritos %	24 - 46	22,10	20,20	17,14	21,50	21,60	0,95	0,08
Leucócitos u/l	4 - 12	11,30	8,16	10,19	10,63	11,12	0,39	0,07
Plaquetas 10^5 u/l	1 - 8	48,60	61,90	42,38	34,22	52,60	0,49	0,50

Índices de referência segundo Kaneko et al., (1997) para bovinos adultos. * Diferiram estatisticamente pela análise de variância e de regressão ao nível de 5% de significância. TGO - transaminase glutâmico-oxalacética, $y = 1,5654 + 71,957x$, $R^2 = 0,2464$, TGP - Transaminase Glutâmico-Pirúvica, hemoglobina $y = 0,4395x^2 - 2,6458x + 12,705$, $R^2 = 0,6844$, P- Probabilidade, Q- Quadrático, L- Linear, HDL- LDL

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptações do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrio metabólicos específicos ou de origem nutricional (GONZÁLES e SCHEFFER, 2002), para, deste modo, podermos avaliar que mudanças fisiológicas taninos na alimentação, podem causar às vacas em lactação.

Para que possamos entender as razões pelas quais os mamíferos intoxicam-se ao ingerirem taninos, nós temos que conhecer quimicamente o tipo de tanino que estamos

oferecendo. O tanino hidrolisável presente no ácido tânico que foi oferecido as vacas neste experimento é composto principalmente por ácido gálico. A toxicidade que o ácido gálico exerce sobre os mamíferos foram sistematicamente estudados por Shi et al. (2013), que em revisão relataram que para ingestão oral aguda, não ocorreram efeitos adversos evidentes a 5g/kg ácido gálico para camundongos albinos suíços e 1g/kg para ratos sem raça definida, respectivamente. Com exposição subaguda a uma dosagem de 1g/kg/dia, nenhuma toxicidade cumulativa de ácido gálico foi observada para camundongos albinos suíços.

Não houve diferença estatística ($P>0,05$) para ureia, creatinina e ácido úrico, indicando que nem o tanino condensado nem o hidrolisável, afetaram visivelmente as funções renais.

Os níveis sanguíneos da glicose, triglicerídeos e do colesterol (total, LDL e HDL), não diferiram significativamente ($P>0,05$). O colesterol total manteve-se alto em todas as dietas. Sendo o LDL baixo comparado ao HDL, isso significa que provavelmente houve pouca influencia da gordura do fígado e que a gordura que está no leite pode ser principalmente oriunda dos acetatos produzidos no rúmen.

A hemoglobina apresentou diferença significativa ($P<0,05$), com comportamento quadrático, onde, o ponto de máxima foi 10,44 mg/dL e mínima de 7,94 mg/dL. A hemoglobina tem como principal função o transporte de oxigênio dos pulmões para o corpo, ela está presente nos glóbulos vermelhos do sangue e também ajuda um pouco no transporte de nutrientes para as células e recolhe substâncias tóxicas, como dióxido de carbono, para depois serem retiradas do organismo. A análise da hemoglobina serve para identificar doenças como anemia, segundo Kaneko et al. (1997) o nível de normalidade da hemoglobina encontrado para vacas é entre 9 a 15mg/dL, o que demonstra que mesmo com a diferença encontrada entre os tratamentos, a diferença nos níveis de hemoglobina ainda estão dentro da normalidade encontrada para vacas.

Shi et al. (2013) em revisão revelaram que resultados histopatológicos e clínico-químicos indicaram que uma única dose abaixo do nível que causa efeitos adversos evidentes (1 g/ kg/PV) não causou tais efeitos em ratos. Os mesmos autores citaram ainda que o ácido gálico é submetido a extensas biotransformações incluindo a fase I e fase II do metabolismo do fígado e microbiota intestinal dos mamíferos. Deste modo, é concebível que a ingestão de ácido gálico possa afetar o metabolismo endógeno dos

mamíferos, mesmo quando a dosagem está abaixo da que causa efeitos adversos evidentes.

Shi et al. (2013) relata ainda que tais efeitos foram dinâmicos e dose dependentes, onde, os efeitos do ácido gálico foram maiores no fígado do que em outros órgãos e não completamente recuperáveis dentro de 144 h.

CONCLUSÃO

A inclusão de tanino na dieta não causou depressão no consumo nem na digestibilidade da dieta nos animais.

A produção de leite foi linear, ou seja, a produção de leite decresceu em média 0,350 kg de leite a medida que se aumentava a inclusão de tanino na dieta.

Os níveis de transaminase glutâmica oxalacética (TGO) foram alterados significativamente, apresentando um comportamento linear (com ponto de mínima 72,29 U/L e máxima 84,60 U/L), sem, no entanto apresentarem toxidez.

REFERENCIAS

AERTS, R.J. BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.75, p.1-12, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995. 2000p.

BOUCHER, P.; LORGERIL, M.; SALEN, P.; CROZIER, P.; DELAYE, J.; VALLON, J.J.; GEYSSANT, A.; DANTE, R. Effect of Dietary Cholesterol on Low Density Lipoprotein-Receptor, 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reductase, and Low Density Lipoprotein Receptor- Related Protein mRNA Expression in Healthy Humans. **Lipids**. v. 33, n. 12, p. 1177-86, 1998.

CABRAL FILHO, S.L.S. Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovinos. 2004. 77p. **Tese (Doutorado)** – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP – Piracicaba - SP, 2004.

CARROLL, S.M.; DePETERS, E.J.; TAYLOR, S.J.; ROSENBERG, M.; PEREZ-MONTI, H.; CAPPES, V.A. Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. **Animal Feed Science and Technology**. v. 131, p. 451–473, 2006.

CHANG, M.J.; BAILEY, J.W.; COLLINS, J.L. Dietary tannins from cowpeas and tea transiently alter apparent calcium absorption and utilization of protein in rats. **Journal of Nutrition**. v. 124, p. 283-288, 1994.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) **International Feed Research Unit**. Bucksburn, Aberdeen: Rowett Research Institute. p. 21. 1992.

CHUNG, K.T.; WONG, T.Y.; WEI, C.I.; Huang, Y.W.; Lin, Y. Tannins and Human Health: A Review. DOI: 10.1080/10408699891274273. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 38, n.6, p. 421–464, 1998.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para Análise de Alimentos**. INCT – **Ciência Animal**. Suprema, Visconde do Rio Branco, 2012, p.214.

EUROPEAN UNION REGISTER OF FEED ADDITIVES PURSUANT TO REGULATION (EC) No 1831/2003. Released 12.05.2014 (acesso em 05/11/2014) http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/comm_register_feed_additives_1831-03.pdf.

FARIA, B.N.; LEITE, L.A. Manipulação da Fermentação Ruminal. In: Gonçalves, L.C.; Borges, I.; Ferreira, P.D.S. **Alimentação de Gado de Leite**. Ed. FEPMVZ. Cap. 8, p. 212- 244. 2009.

FERREIRA, M.A.; SILVA, R.R.; RAMOS, A.O. Síntese de proteína microbiana e concentrações de ureia em vacas alimentadas com dietas à base de palma forrageira e diferentes volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.159-165, 2009.

FRAGA, C.G.; CELEP, G.S.; GALLEANO, M. Biochemical actions of plant phenolics compounds: Thermodynamic and kinetic aspects In: FRAGA, C.G. **Plant phenolics and human health. Biochemistry, nutrition and pharmacology**. Wiley. USA. cap.3, p.610, 2010.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H. S.; **Journal of Biology and Chemistry**. v. 226, p. 497. 1957.

GOEL, G.; PUNIYA, A.K.; AGUILAR, C.N.; SINGH, K. Interaction of Gut Microflora with tannins in feed. **Naturwissenschaften**. v. 92, p. 497-503, 2005.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas**

leiteiras por meio de fluidos corporais. GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Porto Alegre, 72p. 2002.

GRABBER, J.H. Protein fractions in forage legumes containing protein-binding polyphenols: freeze-drying vs. conservation as hay or silage. **Animal Feed Science and Technology**. v. 151, p. 324–329, 2009.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN S.M.; WAGHORN G.C.; ECKARD, R. J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 89, p. 241-251, 2009.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 26, n.4, p. 809-812, 1978.

HART, K.J.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; DUVAL, S.M.; McEWAN, N.R.; NEWBOLD C.J. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**. v. 147, p. 8–35. 2008.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (ds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.

KNOWLES, S.O.; GRACE, N.D.; KNIGHT, T.W.; MCNABB, W.C.; LEE, J. Reasons and means for manipulating the micronutrient composition of milk from grazing dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**. v. 131, p. 154–167, 2006.

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

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

McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; BUNCH, R.; KRAUSE, D.O. Isolation and Characterization of Proteolytic Ruminant Bacteria from Sheep and Goats Fed the Tannin-Containing Shrub Legume *Calliandra calothyrsus*. **Applied And Environmental Microbiology**, p. 3075–3083. 1999.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. 892-896. ISSN 0100-4042. **Química Nova, São Paulo**. v. 28, n. 5, p. 892-896. 2005.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of Science Food and Agriculture**. v. 86, p. 2010–2037, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of the dairy cattle**. 7.ed. Washington: D.C.: National Academy Press, 2001. 363p.

PATRA, A.K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. DOI 10.1002/jsfa.4152. **Journal of Science Food and Agriculture**. v. 91, p. 24–37, 2011.

PATRA, A.K. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. **Asian journal of animal and veterinary advances**. ISSN 1683-9919/ DOI:10.3923/ajava. 2011.

PATRA, A.K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 96, p.363–375, 2009.

PUNITHAVATHI, V. R.; PRINCE, P.S.M.; KUMAR, M. R.; SELVAKUMARI, C. J. Protective Effects of Gallic Acid on Hepatic Lipid Peroxide Metabolism, Glycoprotein Components and Lipids in Streptozotocin-Induced Type II Diabetic Wistar Rats. **Journal of Biochemistry Molecular and Toxicology**. v. 25, n. 2, p.68-76, 2011.

SAS. 2010. **Statistical Analysis System Institute**. Institute SAS/STAT software, CD-ROOM.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 2002, 235p.

SILVA, J. D.T.; DIAS, L.T.S.; MACHADO, C.R.; CARVALHO, M.R.B.; RIZZO, P.V. Uso de sorgo com baixo teor em taninos na alimentação de frangos de corte. **Nucleus Animalium**, v.1, n.2, 2009.

SHI, X.; XIAO, C.; WANG, Y.; WANG, Y.; TANG, H. Gallic Acid Intake Induces Alterations to Systems Metabolism in Rats. dx.doi.org/10.1021/pr301041k. **Journal Proteome Research**. v. 12, p. 991–1006, 2013.

SOARES, C.A.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; MENDONÇA, S.S.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. Consumo, Digestibilidade Aparente, Produção e Composição do Leite de Vacas Leiteiras Alimentadas com Farelo de Trigo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.6 (Supl. 2), p.2161-2169, 2004.

TERRILL, T.H.; ROWAN, A.M.; DOUGLAS, G.B.; BARRY, T.N. Determination of extractable and bound condensed tannin concentration in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.58, p.321-329, 1992.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; McNABB, W.C. The effect of condensed tannin in *Lotus pedunculatus* on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. **Journal of Agriculture Sciences** (Cambridge). v, 123, p.109–119, 1994.

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

CAPÍTULO III

SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM VACAS ALIMENTADAS COM DIETAS À BASE DE SORGO E NÍVEIS CRESCENTES DE ÁCIDO TÂNICO

SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM VACAS ALIMENTADAS COM DIETAS À BASE DE SORGO E NÍVEIS CRESCENTES DE ÁCIDO TÂNICO

RESUMO: Cinco vacas em lactação mestiças holandês/zebu foram distribuídas em quadrado latino 5×5 com o objetivo de avaliar dietas taniníferas á base de sorgo (tanino condensado) e níveis crescentes de ácido tânico (tanino hidrolisável) sobre o balanço de nitrogênio (N) e a produção de proteína microbiana. Utilizou-se a excreção total de derivados de purinas (DP), por meio de coletas *spot* de urina, e as concentrações de N no plasma, no leite e na urina. Cada dieta continha 35 kg de silagem de milho como volumoso e 6,380kg de concentrado. A dieta 1 (controle), continha sorgo de baixo tanino, o qual foi substituído nas demais dietas pelo sorgo de elevado teor de tanino. Os níveis de ácido tânico adicionados às dietas foram estabelecidas com base na análise da quantidade de tanino condensado constituinte do sorgo de alto tanino. Deste modo, nas dietas 2; 3; 4; e 5 foi adicionado 1,5, 79,5, 157,5 e 235,5g de ácido tânico respectivamente. As excreções urinárias de ureia, alantoína e derivados de purina, purinas absorvidas, a síntese de N-microbiano e as concentrações de alantoína no leite, não sofreram influencia da adição de tanino às dietas. O balanço de N foi positivo e não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. A excreção média de creatinina foi de 229,1mmol/dia e diferiram linearmente ($P<0,05$) entre as dietas avaliadas.

Palavras chave: ácido gálico; creatinina; nitrogênio urinário; vacas.

MICROBIAL PROTEIN SYNTHESIS AND NITROGEN BALANCE IN COWS FED WITH SORGHUM DIETS AND INCREASING TANNIC ACID LEVELS

ABSTRACT: Five cows crossbred holstein/ zebu were distributed in a 5×5 latin square in order to evaluate tanniniferous diets will sorghum based (condensed tannin) and increasing levels of tannic acid (hydrolyzable tannin) on the N balance and microbial protein production. Was used the total excretion of purine derivatives (PD) by spot urine collection and concentrations of N in plasma, milk and urine. The five diets contained 35 kg of corn silage as bulky and 6,380 kg of concentrate. Diet 1 (control) contained low tannin sorghum, which has been substituted in the other diets for high

tannin content Sorghum. The tannic acid levels added to diets were based on high tannin sorghum analysis and the total condensed tannin amount constituent. Thus, in the diets 2, 3, 4 and 5 was added, 1.5, 79.5, 157.5 and 235,5g of tannic acid respectively. The urinary excretion of urea, allantoin and derivatives of purine, absorbed purine, N-microbial synthesis and allantoin concentrations in the milk did not differ. The N balance was positive and did not differ ($P > 0.05$) between treatments. The average creatinine excretion was 229.1 mmol / day and differed linearly ($P < 0.05$) between diets evaluated

Key words: creatinine; gallic acid; heifers; urinary nitrogen.

INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção animal, a alimentação, especialmente proteína de qualidade, é o insumo de maior custo, podendo representar de 70 a 90% dos custos operacionais totais da criação. Além disso, vacas de leite de alta produção devem ser alimentadas com quantidade suficiente de energia e de proteína (EKINCI e BRODERICK, 1997).

O aumento do fluxo de proteína do rúmen depende da diminuição da proteólise pelos microrganismos ruminais e aumento na eficiência da síntese microbiana. Diversas revisões tem avaliado o potencial dos polifenóis como os taninos de formarem complexos com proteínas dos alimentos e protegê-las da degradação microbiana (PATRA e SAXENA, 2011).

Neste contexto, os conceitos sobre nutrição proteica de ruminantes evoluiu de forma considerável nas últimas décadas, o que possibilitou o desenvolvimento do método fatorial de exigências, utilizado nos principais sistemas protéicos disponíveis, permitindo fracionar as exigências proteicas do animal em exigência de manutenção e de produção. As exigências de manutenção englobam o nitrogênio (N) endógeno urinário, N de descamação (pele e pelos) e N metabólico fecal. As exigências de produção são o N necessário para o feto, crescimento e lactação (SANTOS, 2006).

Ruminantes alimentados com dietas contendo taninos condensado e hidrolisável tendem a excretar menos N urinário e apresentar apenas um ligeiro aumento na excreção de N fecal, tendo como resultado, maior absorção dos aminoácidos dietéticos essenciais das rações que contém taninos (MUELLER-HARVEY, 2006) o que provavelmente contribui para o ganho de peso e produção de leite e carne (AERTS et al., 1999).

O balanço de N, sob condições controladas, fornece uma estimativa do metabolismo proteico e constitui um método de avaliação dos alimentos e do estado nutricional do animal (COELHO DA SILVA e LEÃO, 1979).

Existem vários caminhos pelos quais os taninos podem melhorar a saúde e o bem-estar dos ruminantes: melhorando a nutrição, prevenindo inchaço/fermentação, infestação por moscas em ovinos e reduzindo o número de vermes gastrointestinais (AERTS et al., 1999; WAGHORN e McNABB, 2003; MONTEIRO 2005; ALONSO –

DIAZ et al., 2012) bem como o seu impacto na pecuária (WAGHORN e McNABB, 2003). O principal benefício pode ser sobre a digestão de proteínas. Alguns taninos podem reduzir a quantidade de proteína que é digerida no rúmen e aumentar a quantidade de proteína disponível para a digestão no intestino delgado, esta mudança no local de digestão de proteínas tem sido referida como proteína de escape ruminal ou ‘proteína by pass’ (MUELLER-HARVEY, 2006).

Deste modo, objetivou-se avaliar o efeito da dieta à base de sorgo e níveis crescentes de ácido tânico sobre a síntese de nitrogênio microbiano e balanço de nitrogênio em vacas primíparas mestiças holandês/zebu.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias/UFPB, Campus II, no município de Areia/PB, no período de fevereiro a maio de 2015.

Foram utilizadas cinco vacas mestiças holandês/zebu com aproximadamente quatro anos de idade, peso vivo médio de 420 ± 30 kg, com aproximadamente 100 dias de lactação, com produção média inicial de 18 ± 4 kg/dia. Antes de iniciar o experimento, as vacas foram vermifugadas e tratadas contra ectoparasitas com Ivermectina 3,5%, e submetidas à adaptação às instalações, às dietas experimentais e ao manejo da estabulação por 10 dias.

O experimento foi dividido em cinco períodos, com 20 dias cada, sendo 15 dias para adaptação às dietas e 5 dias de coleta de dados, totalizando 100 dias experimentais. As vacas foram pesadas antes do início do experimento e a cada início de período. As vacas foram estabuladas em baias individuais com 18 m^2 , piso concretado, equipadas com cochos e bebedouros. A dieta experimental foi ofertada na forma de volumoso e concentrado numa relação volumoso: concentrado fixa de 64:36, formulada para atender as exigências de lactação, segundo recomendações do NRC (2001), fornecidas duas vezes ao dia, às 06:00h e às 13:30h, logo após as ordenhas. As sobras foram pesadas, diariamente, para determinação do consumo.

Todas as vacas receberam diariamente, 35 kg de silagem de milho como volumoso e 6,38 kg de concentrado composto por, 3,00 kg sorgo moído, 1,00 kg milho moído, 1,50 kg farelo de soja, 0,5 kg farelo de trigo, 0,20 kg ureia e 0,18 kg de mistura mineral (Bovigold®). A dieta 1 (controle), continha o sorgo cultivar BRS Ponta Negra, na tentativa de oferecer o mínimo de tanino possível, as demais dietas continham o sorgo A9904 (cultivar A9904), que foi o cultivar com maior quantidade de tanino disponível. Conforme pode ser visualizado na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição físico-química, proporção dos ingredientes da dieta, concentração de tanino condensado e tanino hidrolisável (ácido tânico) nas dietas experimentais em kg

Ingrediente	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5
Silagem de milho (kg)	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Milho moído (kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farelo de soja (kg)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Farelo de trigo (kg)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ureia (kg)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Mistura mineral* (kg)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Sorgo A9904 (kg)	0,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sorgo controle (kg)	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ácido tânico (kg)	0,00	0,015	0,0795	0,158	0,236
Total	41,38	41,4	41,46	41,54	41,62

* carbonato de cálcio; cloreto de potássio; cloreto de sódio (sal comum); enxofre ventilado (flor de enxofre); fosfato bicálcico; óxido de magnésio; carbo amino fosfoquelato de cobre; carbo amino fosfoquelato de cromo; carbo amino fosfoquelato de enxofre; carbo amino fosfoquelato de ferro; carbo amino fosfoquelato de manganês; carbo amino fosfoquelato de selênio; carbo amino fosfoquelato de zinco; hidróxido de tolueno butilado (BHT); lodato de cálcio; monóxido de manganês; Selenito de sódio; sulfato de cobalto; sulfato de cobre monohidratado; sulfato de zinco; vitamina A; vitamina D3; vitamina E.

Para se alcançar as doses crescentes de tanino adicionou-se ácido tânico PA ($C_{76}H_{52}O_{46}$), adquirido através da empresa Anidrol® (produtos para laboratório), por ser uma fonte de tanino hidrolisável.

Os níveis de ácido tânico adicionados às dietas foram estabelecidos com base na análise da quantidade de tanino condensado constituinte do sorgo de alto tanino, que, de acordo com a metodologia do HCL- Butanol (HAGERMAN e BUTLER, 1978) realizado no Laboratório de Bromatologia da UAG- UFRPE o A9904 (cultivar A9904) foi de 2,55% de tanino condensado total na MS, e o sorgo Controle (cultivar BRS Ponta

Negra) 0,92% de tanino condensado total na MS pela metodologia Terril et al. (1992) realizado na EMBRAPA Sete Lagoas - MG.

O concentrado foi oferecido separado do volumoso na tentativa de assegurar o total consumo do ácido tânico contido no concentrado. O ácido tânico nas proporções pré-determinadas foram misturadas ao concentrado no dia anterior ao fornecimento no cocho.

Tabela 10 - Contribuições percentuais e em kg do tanino condensado do sorgo e do ácido tânico adicionado artificialmente

Dieta	Contribuição TC do sorgo (%)	Adição do ác. tânico (%)	Contribuição TC do sorgo (3kg)	Adição do ác. tânico (kg/dia)	Tanino total na dieta (%)	Total tanino (kg/dia)
Dieta 1	0,46	0,00	0,0276	0,0000	0,46%	0,0276
Dieta 2	1,27	0,03	0,0765	0,0150	1,30%	0,0780
Dieta 3	1,27	1,33	0,0765	0,0795	2,60%	0,1560
Dieta 4	1,27	2,63	0,0765	0,1575	3,90%	0,2340
Dieta 5	1,27	3,93	0,0765	0,2355	5,20%	0,3210

Deste modo, nas dietas 2, 3, 4 e 5 foram adicionados 1,5; 79,5; 157,5 e 235,5g de ácido tânico, respectivamente. Proporcionando um incremento no percentual de tanino total nas dietas, conforme pode ser observado na Tabela 10. Assim, o tanino nas dietas foram oferecidos tanto na forma de condensados como hidrolisáveis, os primeiros foram ofertados por intermédio através dos dois cultivares de sorgo e os demais através do ácido tânico.

A água foi disponibilizada à vontade para os animais. A composição nutricional dos ingredientes das dietas são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais com base na matéria seca

Ingrediente	MS	PB	EE	FDN	MM	CNF	CHOT
Silagem	28,19	7,96	2,20	55,08	4,77	33,62	84,79
Milho moído	86,68	8,97	4,27	13,98	1,17	74,47	80,61
Sorgo A9904	85,85	9,28	2,80	14,03	3,49	73,90	82,41
Sorgo Controle	79,61	9,34	2,80	14,03	3,49	73,90	82,41
Farelo de trigo	87,73	16,40	1,70	44,50	6,26	30,05	73,99
Farelo de soja	88,30	48,78	1,97	14,46	6,13	30,40	43,45
Ureia	100	283	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mistura mineral	100	0,00	0,00	0,00	100	0,00	0,00

Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), matéria mineral (MM), carboidratos não fibrosos (CNF), carboidratos totais (CHOT)

A composição nutricional percentual das dietas, já adicionadas de ácido tânico encontra-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Composição nutricional das dietas experimentais (concentrado mais volumoso) (%)

Tratamento	MS	PB	EE	FDN	MM	CNF	CHOT
Dieta 1	36,85	15,55	1,99	38,66	5,48	33,68	68,92
Dieta 2	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 3	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 4	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27
Dieta 5	37,30	15,46	2,08	39,38	5,67	33,24	69,27

A produção de leite foi registrada diariamente por pesagem individual (kg/dia). As amostras de leite foram realizadas nos últimos 5 dias de coleta de cada período experimental, duas vezes ao dia (manhã e tarde).

As amostras de leite da ordenha da manhã foram acondicionadas em recipiente plástico e acondicionadas em ambiente refrigerado para, posteriormente, serem misturadas às amostras do leite da ordenha da tarde, formando uma amostra composta/vaca/dia. Para as coletas foram utilizadas garrafas plásticas estéreis, com capacidade para 100 e 200 mL, e em seguida foram armazenadas em freezer a -20°C para posterior análise.

A produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLCG) foi calculada utilizando-se a fórmula de Gaines (1928) proposta pela NRC (2001): $PLC(4\%) = [(PL \times 0,4) + (\% \text{ Gleite} \times 0,15)]$.

PL = kg de leite produzido

% Gleite = % gordura do leite

O teor de nitrogênio total do leite foi determinado pelo método de Kjeldahl (2000), utilizando o fator de correção adaptado para leite 6,38 (AOAC, 2000 COD. MET POA/11/02/01).

Para a determinação de gordura foi usada a metodologia de Folch (1957). A análise de alantoína do leite foi realizada no Laboratório de Leite do Departamento de Zootecnia da UFRPE de acordo com, Chen e Gomes (1992).

Amostras de urina foram coletadas nos 1º e 5º dias, dos 5 dias de coleta de cada período experimental. As amostras *spot* de urina foram obtidas de todos os animais, pela manhã, 4 horas após a alimentação, por micção espontânea ou estimulada por massagem. Da urina colhida, após a homogeneização e filtragem (com gaze), foram obtidas duas amostras por animal, onde uma continha a urina pura e a outra uma alíquota de 10 mL de urina que foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (acidificada) 0,036 N, (com o objetivo de impedir a destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação de ácido úrico) conforme descrito por Valadares Filho et al. (1999), para realização da análise de alantoína. Em seguida as amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos e armazenadas a -20°C (freezer) para posteriores análises.

As análises de ureia, ácido úrico e creatinina das urinas coletadas e congeladas puras foram analisadas, em analisador bioquímico automático modelo LABMAX 240 (2231.110.111), realizadas no Laboratório do Hospital Veterinário da UFRPE.

A análise de alantoína na urina acidificada foi realizada no Departamento de Zootecnia da UFRPE pelo método Chen e Gomes (1992).

As amostras de fezes foram coletadas nos 1º, 3º e 5º dias, dos 5 dias de coleta de cada período experimental. As amostras de sobras de alimentos foram coletadas nos 5 dias de coleta de cada período experimental e registradas diariamente por pesagem individual (kg/dia). O teor de proteína bruta (PB) e nitrogênio total (N) foram

determinados pelo método Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando o fator de correção de 6,25.

O trabalho foi executado de acordo com as normas de ética para pesquisa envolvendo animais, sendo submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba CEUA/BIOTEC/UFPB, (072/2016).

Para as avaliações de produção, desempenho, composição do leite e análises bioquímicas utilizou-se o delineamento em quadrado latino 5x5, simples, com 5 animais e 4 níveis de inclusão de ácido tânico na dieta (1, 2, 3, 4 e 5), com base na matéria seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando-se o programa estatístico SAS, considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de leite corrigida para 4% de gordura (14,05; 14,00; 13,30; 14,68 e 14,19 kg/vaca/dia) e o consumo de matéria seca (14,75; 14,40; 14,92; 14,80 e 14,08kg/vaca/dia) não diferiram significativamente entre as dietas.

A literatura relata alguns efeitos negativos do excesso de taninos na dieta animal como: depressão na palatabilidade do alimento (GOEL et al., 2005) e consequente menor ingestão voluntária (CHANG et al., 1994; CHUNG et al., 1998; MONTEIRO et al., 2005) e eficiência alimentar reduzida (CHUNG et al., 1998) nos ruminantes e não ruminantes, além de, menor digestibilidade da proteína e matéria seca (MONTEIRO et al., 2005; CHANG et al., 1994; GOEL et al., 2005), fatores não observados neste experimento, talvez pela dose de tanino oferecida não ter sido excessiva. Cabral Filho (2004) ressalta que nos ruminantes o efeito anti-nutricional dos taninos na dieta é amenizado pela ação dos microrganismos no rúmen.

O volume urinário estimado em L/vaca/dia, não foi influenciado ($P>0,05$) pelos teores de tanino, com média de 15,42 L/vaca/dia (Tabela 13), provavelmente por não haver diferença significativa na produção de leite e consumo. O que concorda com os

valores encontrados por Chizzotti et al. (2007), que avaliou o efeito do nível de produção de leite sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e a excreção de N.

Tabela 13- Volume urinário, ácido úrico, creatinina, ureia, alantoína, alantoína do leite, purinas totais e absorvidas, síntese de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico

Variável	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	P	
Volume urinário estimado (L)	19,40	15,55	15,56	12,74	13,870	L	Q
Excreção urinária							
Ácido urico (mmol/dia)	32,88	37,39	35,73	42,18	37,82	0,18	0,45
Creatinina (mmol/dia)*	59,23	71,67	68,11	83,05	78,74	0,01	0,49
Uréia (mmol/dia)	2.009	1.980	1.967	2.183	1.884	0,93	0,62
Alantoína urina (mmol/dia)	67,18	87,54	79,65	118,64	108,95	0,07	0,85
Alantoína no leite (mmol/dia)	38,04	33,45	40,29	40,99	29,22	0,40	0,16
Alantoína Total (mmol/dia)	105,22	120,99	119,94	159,63	138,17	0,08	0,61
Derivados de purinas totais (mmol/dia)	138,10	158,38	155,67	201,81	175,98	0,06	0,54
Purinas absorvidas (mmol/dia)	95,05	115,34	112,53	159,15	132,77	0,06	0,54
Síntese de PB mic (gN/dia)	431,90	524,10	511,40	723,20	603,30	0,06	0,54
Síntese de PB mic NDT	48,91	71,11	56,10	83,80	78,82	0,24	0,79

* Diferiram estatisticamente pela análise de variância e de regressão ao nível de 5% de significância

*Creatinina- $y = 5,04x + 57,04$, $R^2 = 0,7348$.

Além disso, o animal perde água principalmente através da produção de leite, e via fecal e urinárias. Perdas pelo leite e fezes, são similares e correspondem a aproximadamente 35% da ingestão total de água, enquanto a por via urinária varia de 15 a 21% em vacas em lactação (NCR, 2001). O requerimento de água pelos animais, segundo do NRC é em média 84 kg/dia, o que leva à produção urinária média de $14,3 \pm 3,6$ L/dia, o que está dentro dos valores encontrado neste experimento.

A excreção média de creatinina foi de 72,16 mmol/dia, e cresceram linearmente ($P < 0,05$) entre as dietas avaliadas (Tabela 13), com ponto de mínima de 59,23 mmol/dia e máxima de 83,05 mmol/dia. Barbosa et al. (2006) avaliaram o efeito do período de coleta da urina sobre a excreção urinária de creatinina, em animais nelore de quatro categorias (novilhas, machos castrados, machos inteiros e vacas em lactação), sendo que, para novilhas, encontraram valores médios de creatinina urinária $0,95 \text{ mmol/kg}^{0,75}$ e para vacas $1,18 \text{ mmol/kg}^{0,75}$. O resultado obtido neste experimento foi de $0,75 \text{ mmol/kg}^{0,75}$, ou seja, valores mais baixos, demonstrando que a adição de taninos à dieta não causou aumentos nos níveis de creatinina, tão pouco causou sobrecarga renal. Silva et al. (2001) ressaltam que existem vários relatos demonstrando que a excreção da

creatinina é uma função constante do peso vivo, o que possibilita sua utilização para estimar o volume urinário.

Creatinina é produto de descarboxilação da creatina-fosfato, usada na contração de músculo esquelético. Sua excreção é realizada apenas pela via renal, sendo este o melhor marcador da função renal, pois, quando ocorre uma redução no filtrado glomerular aumenta-se os níveis de creatinina no soro, o que indica deficiência na funcionalidade renal. Entretanto, a creatina sozinha não é indicativo suficiente para indicar uma proteinúria ou excesso de carga renal, sendo necessário fazer a relação PU/CrU que em amostras aleatórias de urina tem valor preditivo para excreção de proteínas em 24 horas (BOTELHO et al., 2012) (Tabela 14).

Tabela 14 - Valores médios de nitrogênio urinário (NU) e creatinina urinária (CrU) relação NU/ CrU, como indicativo da saúde renal de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico

Variável	Dieta 0%	Dieta 1,3%	Dieta 2,6%	Dieta 3,9%	Dieta 5,2%	P	
						L	Q
CrU*(mg/dL)	59,23	71,67	68,11	83,05	78,74	0,01	0,49
NU (mg/dL)	6,84	7,67	6,70	7,92	7,71	-	-
NU/CrU	0,12	0,11	0,10	0,10	0,10	-	-

* Diferiram estatisticamente pela análise de variância e de regressão ao nível de 5% de significância

Não foram encontrados na literatura consultada níveis de referência de nitrogênio urinário, creatinina urinária ou da relação NU/CrU em bovinos. Em cães, Araújo (2007) apresentou como limite máximo de normalidade o valor 0,57. Botelho et al. (2012) trabalhando com vacas em lactação encontrou valores da relação NU/CrU variando entre 0,1 e 0,6 (mg/dL), estando os valores observados neste experimento dentro dessa faixa, definindo que os níveis de tanino não influenciaram negativamente a saúde dos animais, mesmo afetando significativamente os níveis de creatinina.

A excreção média de ácido úrico foi de 37,21 mmol/dia e não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. Chizzotti et al. (2007) trabalhando com vacas leiteiras de produção média de ± 18 kg de leite, encontraram valores médios de ácido úrico de 27,75 mmol/dia, valores um pouco abaixo do encontrado neste experimento.

A alantoína e o ácido úrico urinários são catabólitos da degradação das purinas, provenientes dos ácidos nucleicos. Nos ruminantes, cerca de 85% ou mais das purinas

são provenientes dos ácidos nucleicos dos microrganismos ruminais digeridos no abomaso e intestino delgado e, absorvidos no intestino delgado. Deste modo, a alantoína e o ácido úrico são indicadores do metabolismo ruminal recente, informando indiretamente a quantidade de microrganismos presentes no rúmen, os quais aumentaram em número, de acordo com a qualidade nutricional e a ingestão de alimentos pelo ruminante (PUCHALA e KULASEK, 1992).

As excreções de alantoína total média foram de 185,2 mmol/dia, alantoína média do leite foi de 36,4 mmol/dia e alantoína urinária média foi de 148,72 mmol/dia, não havendo diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos. Chizzotti et al. (2007) trabalhado com vacas holandesas de peso médio de 578 kg encontraram valores médios de alantoína urinária de 160,18 mmol/dia e alantoína média do leite de 34,0 mmol/dia, portanto muito próximos aos encontrados neste experimento. A excreção urinária da alantoína e outros derivados de purina parecem ser afetados por mudanças na proporção de componentes microbianos endógenos, ou pelo aumento na reciclagem do N (PUCHALA e KULASEN, 1992), por este motivo era esperado que com o aumento do nível de tanino, aumentasse a quantidade de alantoína ou os derivados de purina.

A ureia urinária também não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. Fisiologicamente a ureia se eleva devido a dieta hiperprotéica, catabolismo elevado (febre, septicemia e hemorragias internas) ou devido a causas pré-renais (insuficiência cardíaca congestiva) e renais (nefrites, pielonefrites e insuficiência renal aguda ou crônica). A ureia começa a se elevar no sangue quando a velocidade de filtração glomerular é menor que 10 mL/minuto. As causas pós-renais são obstruções no trato urinário (cálculo, carcinomas ou pólipos). As dosagens de creatinina e ureia juntas definem melhor as prováveis disfunções renais (LABTEST, ref 27). As excreções médias de ureia encontradas neste experimento foram 712,3 mmol/dia. Taninos diminuem a taxa de degradação proteica no rúmen, assim, reduzindo a disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos ruminais (McSWEENEY et al., 2001; PATRA e SAXENA, 2011).

A síntese de nitrogênio microbiano não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$). A diminuição da taxa e extensão da degradação proteica no rúmen de animais alimentados com dietas à base de tanino podem diminuir as concentrações de amônia no rúmen e consequentemente diminuir a excreção de N na urina (GRAINGER et al., 2009). Fato

que não ocorreu neste experimento, talvez pelo tipo de tanino utilizado nas dietas experimentais.

Conforme pode ser observado na Tabela 15, o balanço de N foi positivo e não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos. O balanço de N tem uma grande importância, pois, através dele, é possível quantificar o metabolismo proteico animal e analisar se existem ganhos ou perdas proteicas, evitando prejuízos produtivos, reprodutivos, ambientais e econômicos.

Tabela 15 - Balanço de nitrogênio (N) (g/ dia) de vacas alimentadas com sorgo e níveis de ácido tânico

Variável	Dieta 0%	Dieta 1,30%	Dieta 2,60%	Dieta 3,90%	Dieta 5,20%	P	
						L	Q
ConsN(g/dia)	388,0	380,8	360,0	372,6	382,0	0,79	0,21
gNfezes	67,7	61,0	63,1	67,8	54,3	0,16	0,30
gNurina	215,8	209,3	131,7	165,0	168,0	0,07	0,27
gNleite	72,8	83,1	68,1	97,6	77,4	0,17	0,36
gNexcretado total	140,7	145,9	155,3	155,4	142,8	0,39	0,93
Balanço de N	247,2	242,4	232,4	180,6	242,9	0,50	0,61

Ruminantes alimentados com dieta contendo tanino tendem a excretar menos N urinário e apresentar apenas um ligeiro aumento na excreção de N fecal, tendo como resultado, maior absorção dos aminoácidos dietéticos essenciais das rações que contém taninos (MUELLER-HARVEY, 2006) o que provavelmente contribui para o ganho de peso e produção de leite (AERTS et al., 1999), e diminui a contaminação ambiental por N.

Souza et al. (2006) trabalhando com vacas holandesas puras e mestiças com peso médio de 550 kg e produção de leite média de 23,4 kg, substituindo o fubá de milho por níveis de casca de café (8,4% PB) na ração concentrada, com o nível máximo de substituição de 10,5% de casca de café na MS total da dieta, encontraram excreções urinárias de N média de 190,5 g/dia, excreção N fecal de 139,5 g/dia e excreção de N no leite de 114,7 g/dia, com um consumo médio total de 441 g/dia de N.

Enquanto que o encontrado neste experimento foi de 177,96 g/dia de excreção de N urinária, 62,8 g/dia de excreção de N fecal e 79,8 g/dia de N no leite, e com um consumo médio de 367,65 g/dia.

Grainger et al. (2009) observaram que as vacas que receberam tanino condensado na dieta produziram menos urina, consumiram menos N e também excretaram mais N nas fezes e menos N na urina e no leite, o que não concorda completamente com o encontrado neste experimento, o que ocorreu foi um aumento na excreção de N na urina e uma redução do N do leite e fezes.

Para os ruminantes, Min et al. (2005) em revisão, ressaltaram as já reconhecidas habilidades dos taninos condensados de complexar-se com proteínas solúveis no rúmen, reduzir a degradação da proteína a amônia no rúmen e permitir um maior fluxo de proteína dietética para o intestino delgado. Segundo Patra e Saxena (2010) a diminuição da taxa e extensão da degradação de proteínas no rúmen devido ao consumo de alimentos ricos em tanino poderia reduzir as concentrações de amônia no rúmen e, portanto, a excreção de N ureico na urina, o que seria vantajoso ambientalmente.

CONCLUSÃO

A síntese de proteína microbiana e o balanço de N não foram alterados pela inclusão de tanino na dieta.

REFERENCIAS

AERTS, R.J. BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.75, p.1-12, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995. 2000p.

ALONSO-DÍAZ, M.A.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; HOSTE, H. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe?. **Small Ruminant Research**. v. 89, p.164-173, 2010.

ARAÚJO, P.A. Avaliação da Relação Proteína/Creatinina Urinária como Método de Escolha para Diagnóstico Precoce de Lesão Glomerular em Cães (Canis familiaris).

TCC. curso de Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica em Pequenos Animais – UCB, 2007.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; VÉRAS, R.M.L.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MARCONDES, M.I.; SOUZA, M.A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes proteicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.3, p. 870-877, 2006.

BOTELHO G. G.; BOTELHO C. M.; BOTELHO C. F. M.; PAZ, J. G. Relação proteína/creatinina urinária (PU/CrU) em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n.2, p.121-126, 2012.

CABRAL FILHO, S.L.S. Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovinos. 2004. 77p. **Tese** (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP – Piracicaba - SP, 2004.

CHANG, M.J.; BAILEY, J.W.; COLLINS, J.L. Dietary tannins from cowpeas and tea transiently alter apparent calcium absorption and utilization of protein in rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 283-288, 1994.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) **International Feed Research Unit**, Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. p. 21. 1992.

CHUNG ,K.T.; WONG ,T.Y.; WEI, C.I.; HUANG, Y.W.; LIN, Y. Tannins and Human Health: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 38, n.6, p.421–464, 1998. DOI: 10.1080/10408699891274273.

CHIZZOTTI, L.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; MARCONDES, M.I.; FONSECA, M.A. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.1, p.138-146, 2007.

COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para Análise de Alimentos**. INCT – Ciência Animal. Suprema, Visconde do Rio Branco, 2012, p.214.

EKINCI, C.; BRODERICK, G.A. Effect of processing high moisture ear corn on ruminal fermentation and milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3298-3307, 1997.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H. S.; **Journal of Biology and Chemistry**. v. 226, p. 497. 1957.

GOEL, G.; PUNIYA, A.K.; AGUILAR, C.N.; SINGH, K. Interaction of Gut Microflora with tannins in feed. **Naturwissenschaften**, v. 92, p. 497-503, 2005.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; AULDIST, M.J.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M.; WAGHORN, G. C.; ECKARD, R. J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 89, p. 241-251, 2009.

McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 83–93, 2001.

MIN, B.R.; HART, S.P.; MILLER, D.; TOMITA, G.M.; LOETZ, E.; SAHLU, T. The effect of grazing forage containing condensed tannins on gastro-intestinal parasite infection and milk composition in Angora does. **Veterinary Parasitology**, v. 130, p. 105–113, 2005.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. ISSN 0100-4042. **Química Nova, São Paulo**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal Science Food Agriculture**, v. 86, p. 2010–2037, 2006

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of the dairy cattle**, 7.ed. Washington: D.C.: National Academy Press, 2001. 363p.

PATRA, A.K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. DOI 10.1002/jsfa.4152. **Journal Science Food Agriculture**. v. 91, p. 24–37, 2011.

PETACCHI, F.; BUCCIONI, A. Effect of chestnut tannin in the diet of lactating ewes on milk and cheese quality. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. 1, p. 582-584. 2007.

PUCHALA, R.; G. KULASEK, W. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 72, p. 821-830, 1992.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T; VAZ PIRES, A.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**, Jaboticabal: Funep. Cap 9. p. 538, 2006.

SAS. 2010. **Statistical Analysis System Institute**. Institute SAS/STAT software, CD-ROOM.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R. F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L.N.; SILVA, J.M. Ureia para Vacas em Lactação. Estimativas do Volume Urinário, da Produção Microbiana e da Excreção de Ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.6, p. 1948-1957, 2001.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 2002, 235p

SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES, R.F.D.; PEREIRA, M.L.A.; CABRAL, L.S. VALADARES FILHO, S.C. Casca de café em dietas para vacas em lactação: balanço de compostos nitrogenados e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.4, p.1860-1865, 2006.

TERRILL, T.H.; ROWAN, A.M.; DOUGLAS, G.B.; BARRY, T.N. Determination of extractable and bound condensed tannin concentration in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.58, p.321-329, 1992.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

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