

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS  
CONTENDO NÍVEIS DE EXTRATO DE ACÁCIA NEGRA**

**POLYANA DEYSE RODRIGUES MARCELINO**

**SALVADOR - BA  
AGOSTO / 2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com dietas contendo níveis  
de extrato de Acácia Negra**

**POLYANA DEYSE RODRIGUES MARCELINO**  
Zootecnista

**SALVADOR - BA  
AGOSTO / 2017**

**POLYANA DEYSE RODRIGUES MARCELINO**

**PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS COM  
DIETAS CONTENDO NÍVEIS DE EXTRATO DE ACÁCIA NEGRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de Ruminantes

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Analívia Martins Barbosa  
Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo Lopes Oliveira

**SALVADOR - BA  
AGOSTO / 2017**

---

M314p      Marcelino, Polyana Deyse Rodrigues.  
Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com dietas contendo níveis de extrato de  
Acácia Negra / Polyana Deyse Rodrigues Marcelino – 2017.  
42f. : il., enc.; 30 cm.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Analívia Martins Barbosa.  
Co-orientador: Prof. Dr. Ronaldo Lopes Oliveira.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina  
Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Salvador, 2017.

1. Alimentação animal. 2. Compostos fenólicos. 3. Ruminantes. I. Barbosa, Ana Lúvia  
Martins. II. Oliveira, Ronaldo Lopes. III. Universidade Federal da Bahia, Escola de  
Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

CDD 636.2  
CDU 636.2

---

## DEDICATÓRIA

*À minha família,  
que por diversos momentos desejaram  
a minha presença, mas entenderam  
a falta de tempo para convivência,  
amparando-me em todas as situações,  
**Dedico.***

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus.

A minha mãe, por todo o suporte, amor incondicional e orações.

Ao meu pai, mesmo não estando mais entre nós contribuiu com minha formação pessoal, deixando a herança do exemplo, da educação e o incentivo ao estudo.

As minhas irmãs, Tayse e Bruna e ao meu irmão Igor pelo apoio e incentivo.

A professora Analivia pela orientação, ensinamentos, paciência, incentivo e confiança dada na escrita deste trabalho.

Ao Professor Ronaldo Lopes Oliveira pela orientação, ensinamentos, oportunidade e confiança na execução deste trabalho.

Ao Professor Thadeu Mariniello pela prestatividade de sempre, explicações e pelas colaborações na banca de defesa de dissertação.

Ao Professor João Paulo pelas colaborações na banca de defesa de dissertação.

Ao Professor Luiz Fernando pelos ensinamentos de estatística.

Ao professor Daniel Ribeiro, pelos seus ensinamentos e exemplos que foram fundamentais para a minha vida na pós-graduação.

A todos os professores da Universidade Federal da Bahia pelos ensinamentos.

Aos pós-doutorandos Tiago Cunha, Rebeca Ribeiro, Jaqueline Trajano, Caius Pellegrini, Nilton Nascimento e Gabriela Cambuí pela solicitude e suporte dados para a realização deste trabalho.

Ao pós-doutorando Thiago Nascimento pelas importantíssimas sugestões na escrita e ensinamentos.

Aos doutores Maikal Borja e Paulo Oliveira pelas contribuições teóricas e práticas

As doutorandas Jusaline e Emellinne pela parceria e ajuda, vocês foram importantíssimas, minha vida na fazenda não seria a mesma sem nossas risadas.

A Neiri Jean por todo auxílio nas diferentes etapas desde trabalho.

A Susana Gesteira por toda a ajuda e troca de conhecimento, foi muito bom contar com você nos momentos finais de correria e ansiedade.

Aos estagiários dos cursos de Medicina Veterinária e Zootecnia; Aline, Ana Caroline,

Caroline Porto, Cláudia, Daniela, Everton, Gleice, Janaína, Luanda, Maiara, Maria Emília, Pamela, Rodrigo, Taiane, Thainá e Thiago, sempre dispostos a ajudar, sem vocês tudo seria mais difícil.

A importantíssima ajuda do apoio técnico Samuel

Aos PIBICS Júnior, Geovana, Luana, Evelin e Luiz

A Lucas, Larissa, Henry, Antônio Carneiro e Tiago pela ajuda em campo.

A todos os funcionários da fazenda experimental de São Gonçalo.

Aos bovinos canulados; Robinho, Fred, Hulk e Kaká.

A minha amiga Cíntia Raquel, pelo companheirismo, estudos, conversas, palavras de incentivo e amparo em meus momentos mais difíceis.

A Conceição Aquino pela acolhida na república e por não medir esforços em me auxiliar espiritualmente.

As amigas da pós-graduação, Ana Caroline, Dalinne, Fernanda, Jocasta, Jocely, Layse e Marina pelos estudos, incentivo e agradáveis conversas e Camila Oliveira pela amizade e grande disponibilidade em sanar minhas dúvidas no LANA.

As minhas amigas Lais Micaelle, Ariana Alves, Raquel, Anaiane e Laiane, que não participaram diretamente da execução deste projeto, mas são fundamentais na minha vida em todos os momentos.

A Universidade Federal da Bahia pela realização do curso e ao órgão de fomento CAPES pelo suporte financeiro.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

POLYANA DEYSE RODRIGUES MARCELINO – filha de Francisco Manoel Marcelino e Maria de Fátima Rodrigues Leite, nasceu em Salgueiro - PE, no dia 11 de Outubro de 1988. Em 2009, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal do Vale do São Francisco, finalizando o mesmo em dezembro de 2014. Em 2015, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal da Bahia – UFBA, concentrando estudos em nutrição e produção de ruminantes – Pesquisando, Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com dietas contendo níveis de extrato de Acácia Negra, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Analívia Martins Barbosa e Coorientação do Prof. Dr. Ronaldo Lopes Oliveira.

Defendendo sua dissertação de mestrado em Agosto de 2017.

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Composição química e bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais.....	21
<b>Tabela 2.</b> Proporção dos ingredientes das dietas.....	21
<b>Tabela 3.</b> Composição bromatológica das dietas experimentais.....	22
<b>Tabela 4.</b> Consumos médios diários de frações nutricionais por bovinos alimentados com níveis do extrato de Acácia negra na dieta total.....	27
<b>Tabela 5.</b> Frações efetivamente consumidas por bovinos alimentados com níveis do extrato de Acácia negra na dieta total.....	28
<b>Tabela 6.</b> Coeficiente de digestibilidade aparente total (CD %) da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) em bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia Negra.....	29
<b>Tabela 7.</b> Concentração de amônia (NH <sub>3</sub> ) em mg/dL, valores de pH ruminal, concentração em µmol/mL de ácidos graxos voláteis (AGV), razão molar acetato/propionato (C2:C3) do líquido ruminal em bovinos 4 horas após o fornecimento da dieta contendo níveis do extrato de Acácia Negra.....	30
<b>Tabela 8.</b> Valores do pH ruminal e nitrogênio amoniacal ruminal (mg /dL), imediatamente antes da alimentação (0 h) e 2, 4, e 6 horas após a alimentação de bovinos recebendo dietas com níveis de extrato de Acácia Negra.....	31
<b>Tabela 9.</b> Balanço de nitrogênio (N) em gramas por dia (g/dia) de bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia Negra.....	32
<b>Tabela 10.</b> Síntese diária de proteína microbiana e eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia Negra.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGV - Ácidos graxos voláteis

CDMS - Coeficiente de digestibilidade da matéria seca

CMS - Consumo de matéria seca

CNF - Carboidratos não fibrosos

EE - Extrato etéreo

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

FDNi - Fibra em detergente neutro indigestível

INCT- CA – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência animal

MM - Matéria mineral

MO - Matéria orgânica

MS - Matéria seca

NDT - Nutrientes Digestíveis totais

NH<sub>3</sub> - Amônia

N-NH<sub>3</sub>- Nitrogênio amoniacal

PB - Proteína bruta

PC - Peso corporal

pH - Potencial hidrogeniônico

PIDN - Proteína indigestível em detergente neutro

PNDR - Proteína não degradável no rúmen

SAS - Sistema de Análises Estatísticas

## SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 Taninos .....	15
2.2 Extrato de <i>Acacia mearnsii</i> .....	16
2.3 Efeitos dos taninos na nutrição de ruminantes .....	16
2.4 Efeitos sobre microrganismos ruminais .....	18
2.5 Efeitos sobre a fermentação ruminal .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	35
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	36

## RESUMO

Sob a hipótese que a inclusão do extrato de *Acacia mearnsii* (Acácia Negra) favorece a eficiência da fermentação ruminal, objetivou-se avaliar o efeito da adição deste extrato contendo taninos condensados na dieta de bovinos sob o consumo, digestibilidade, pH ruminal, nitrogênio amoniacal, ácidos graxos voláteis, balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana. Foram utilizados quatro bovinos mestiços, castrados, providos de cânula ruminal, com peso corporal médio inicial de  $446 \pm 34$  kg. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, com quatro animais e quatro tratamentos, sendo dois quadrados repetidos no tempo. Os animais foram alimentados com feno Tifton-85 e mistura concentrada composta por milho moído, farelo de soja, óleo de soja, ureia, sal mineral e a inclusão de extrato de *Acacia mearnsii* (Weibull AQ, Tanac SA, Montenegro, RS, Brasil) de 0, 10, 30 e 50g / kg com base na matéria seca da dieta total, onde os níveis constituíram os tratamentos experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão. A adição do extrato de Acácia Negra nas dietas causou decréscimo linear no consumo de MS, e efeito inverso no coeficiente de digestibilidade da MS, MO, EE, FDNcp, e CNF que expressaram efeito linear crescente ( $P < 0,05$ ). A concentração de amônia do líquido ruminal, as concentrações molares de acetato, propionato, butirato, produção total dos ácidos graxos voláteis e pH quatro horas após a alimentação não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ). Os valores de pH e  $N-NH^3$  foram afetados apresentando comportamento quadrático no tempo após a ingestão do alimento. As variáveis de nitrogênio (N) ingerido, N digerido, N urina, e, N nas fezes apresentaram efeito ( $P < 0,05$ ) linear decrescente acompanhando a ingestão do nitrogênio, porém para o balanço de nitrogênio (g/dia) não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. A eficiência de síntese microbiana e a proteína bruta microbiana não diferiram ( $P > 0,05$ ). A inclusão do extrato de Acácia Negra até o nível de 50g/kg na matéria seca, melhora a eficiência de fermentação ruminal, e pode ser usado como uma opção para otimização do aproveitamento de aminoácidos.

**Palavras-chave:** aditivos naturais, metabolismo, ruminante, tanino condensado.

## ABSTRACT

Under the hypothesis that the inclusion of the *Acacia mearnsii* extract (Acacia Negra) favors the efficiency of the ruminal fermentation, the objective was to evaluate the effect of the addition of this extract containing condensed tannins in the diet of cattle under the consumption, digestibility, ruminal pH, ammoniacal nitrogen, volatile fatty acids, nitrogen balance and microbial protein synthesis. Four crossbred, castrated, ruminal cannulated bovines were used, with initial mean body weight of  $446 \pm 34$  kg. The experimental design used was the latin square  $4 \times 4$ , with four animals and four treatments, two squares being repeated in time. The animals were fed with Tifton-85 hay and concentrated mixture composed of milled corn, soybean meal, soybean oil, urea, mineral salt and the inclusion of *Acacia mearnsii* extract (Weibull AQ, Tanac SA, Montenegro, RS, Brazil) of 0, 10, 30 and 50g / kg based on the dry matter of the total diet, where the levels were the experimental treatments. Data were submitted to analysis of variance and regression. The addition of the Black Acacia extract in the diets caused a linear decrease in DM intake, and an inverse effect on the digestibility coefficient of DM, OM, EE, NDFap, and NFC, which expressed an increasing linear effect ( $P < 0.05$ ). The ammonia concentration of the ruminal liquid, the molar concentrations of acetate, propionate, butyrate, total production of volatile fatty acids and pH four hours after feeding were not influenced ( $P > 0.05$ ). The values of pH and N-NH<sub>3</sub> were affected, presenting a quadratic behavior in the time after the ingestion of the food. The nitrogen (N) ingested, N digested, N urine, and, N in the faeces showed a linear (decreasing) effect ( $P < 0.05$ ) following the nitrogen intake, but for the nitrogen balance (g / day) there was a significant difference ( $P > 0.05$ ) between treatments. The efficiency of microbial synthesis and crude microbial protein did not differ ( $P > 0.05$ ). The inclusion of the Black Acacia extract up to 50g / kg in the dry matter, improves ruminal fermentation efficiency, and can be used as an option to optimize the use of amino acids.

**Key words:** natural additives, metabolism, ruminant, condensed tannin.

## 1. INTRODUÇÃO

Nutricionistas e microbiologistas buscam realizar a manipulação da microbiota do rúmen com o objetivo de melhorar a eficiência da fermentação ruminal e encontrar resultados satisfatórios na produtividade animal (Patra & Saxena, 2011).

Os compostos secundários de plantas podem ser uma opção viável, por apresentarem potencial de substituição aos antibióticos e outros aditivos da alimentação animal (Flachowsky & Lebzien, 2012).

O tanino condensado, também conhecido como proantocianidina (Bodas et al., 2012) está entre esses compostos, conhecidos como secundários por agirem no sistema de defesa da planta, contra o estresse ambiental (Patra & Saxena, 2009). São compostos polifenólicos solúveis em água, apresentam pesos moleculares elevados, com vários potenciais efeitos sobre a fermentação ruminal (Cieslak et al., 2012).

Possui capacidade de ligar proteínas, e em menor eficiência íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos (Makkar, 2003), modifica a população microbiana alterando a digestibilidade dos nutrientes, perfis de ácidos graxos voláteis e concentrações de amônia (Krueger et al., 2010). Pode apresentar efeito deletério ou benéfico, isso depende da sua concentração e outros fatores como espécie, estado fisiológico do animal e composição da dieta (Makkar 2003; Waghorn, 2008).

Na busca de encontrar um determinado nível e fonte de taninos condensados que proporcionem efeitos benéficos, ocorre à utilização dos extratos de taninos comerciais que possuem capacidade de serem usados na alimentação animal.

Orlandi et al. (2015) encontraram efeitos benéficos como redução da excreção urinária de nitrogênio e aumento do aproveitamento de aminoácidos adicionando 18 g/kg de extrato de *Acacia mearnsii* (0,610g/kg de tanino condensado na MS) na matéria seca da dieta de bovinos sem afetar a digestibilidade da matéria orgânica.

Ávilla et al. (2015) testaram a inclusão do extrato de *Acacia mearnsii* em novilhos, onde a concentração de 15 g/ kg de matéria seca do extrato (0,610g/kg de tanino condensado na MS) também reduziu a excreção de nitrogênio urinário e melhorou o suprimento de aminoácidos ( $P < 0,05$ ).

De acordo com Orlandi et al. (2015), o extrato comercial de *Acacia mearnsii* pode ser uma alternativa, pois apresenta potencial para ser usado como um aditivo em alimentos para ruminantes.

O objetivo foi testar a hipótese que a inclusão do extrato de Acácia Negra na dieta melhora a eficiência da fermentação ruminal de bovinos com base no consumo, digestibilidade, pH ruminal, nitrogênio amoniacal, ácidos graxos voláteis, balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana em bovinos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Taninos

Tanino vem do *Tanin*, de origem francesa, que significa casca do carvalho e outras árvores usadas para realizar o processo de curtimento, é um composto secundário utilizado há séculos pelo homem (Frutos et al., 2004).

É considerado um metabolito secundário por não está envolvido em processos essenciais das plantas como crescimento, desenvolvimento e reprodução, e sim da estrutura de proteção dos vegetais, que impede a ação de predadores, como os insetos (Patra & Saxena, 2009)

São classificados em dois grupos, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (Reed, 1995), os taninos hidrolisáveis são formados por açúcares esterificados com compostos derivados de ácido gálico (galotanino) ou ácido elágico (elagitaninos) (Bodas et al., 2012), sendo passíveis de hidrolise enzimática ou não enzimática e solúveis em água (Reed, 1995), os taninos condensados são formados por polímeros de flavonoides ligados por ligações covalentes (Bodas et al., 2012), são compostos polifenólicos e sua estrutura é formada por quinze carbonos, com dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de três carbonos (Crozier et al., 2006), e ao contrário do tanino hidrolisável são resistentes à hidrólise (Battestin et al., 2004).

São encontrados nas raízes, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva de vários vegetais (Battestin et al., 2004). Os hidrolisáveis estão quase retidos às

angiospermas dicotiledôneas, enquanto os condensados ocorrem amplamente em angiospermas e gimnospermas (Silanikove et al., 2001).

## **2.2 Extrato de *Acacia mearnsii***

A *Acacia mearnsii* é uma espécie leguminosa de origem australiana, seu plantio teve início no Brasil na segunda década do século XX, concentrando-se na região do Rio Grande do Sul, sendo explorada por milhares de pequenos produtores, que suprem as empresas no setor florestal brasileiro visando o atendimento da demanda tanto do Brasil como do exterior, é utilizada para vários fins, tais como recuperação dos solos degradados, fixação de nitrogênio, produção de tanino e de energia na forma de carvão, dentre outros (Muller, 2006).

Seu nome popular é Acácia negra e no Brasil encontra-se entre as espécies florestais mais plantadas, ocupando o terceiro lugar, atrás apenas das espécies do gênero *eucalyptus* e *pinus* (Martinez, 2006). É utilizada para realizar o processo de curtimento de couro por possuir até 40% de tanino na sua casca (Borges Júnior et al, 2004).

Este processo é realizado com o extrato tanífero natural, obtido através da lixiviação aquosa da casca, caracteriza-se como um pó de sabor adstringente, contendo no mínimo 75% de polifenóis totais, no extrato do tipo Weibull AQ existe apenas taninos condensados, excluindo-se a presença dos hidrolisáveis (Tanac S.A., Montenegro, RS, Brasil).

Muitos trabalhos foram desenvolvidos utilizando o extrato de Acácia, dentre eles; Carulla et al. (2005) testaram a inclusão de 0 e 41g do extrato de *Acacia mearnsii* (615g/kg de tanino condensado na MS) por kg de matéria seca da dieta, a base de silagem de Azevém para ovinos e concluiu que a suplementação reduziu a concentração de amônia ruminal ( $p < 0,05$ ), a excreção de nitrogênio urinário ( $P < 0,05$ ) e a liberação de metano em 13% ( $P < 0,001$ ).

## **2.3 Efeitos dos taninos na nutrição de ruminantes**

Os efeitos benéficos e prejudiciais do tanino dependem da sua concentração, natureza, adstringência, composição, qualidade geral da dieta e fatores relacionados ao

animal como espécie e estado fisiológico (em crescimento, lactantes, adultos) (Makkar, 2003; Waghorn, 2008).

Ocorrem afirmações que baixas concentrações, até 4% do tanino condensado na dieta teriam efeitos benéficos, mas esta afirmação não deve ser generalizada, pois a reversibilidade do processo de complexação depende da natureza dos taninos e da sua afinidade com macromoléculas (Makkar, 2003). Dentre os efeitos benéficos podemos citar a redução da proteólise ruminal, favorecendo a passagem e a absorção de aminoácidos no intestino delgado (Frutos, 2002), redução da concentração de nitrogênio na urina (Waghorn, 2008), prevenção do timpanismo e controle de endoparasitas (Otero & Hidalgo, 2004).

No entanto o consumo de matéria seca pode ser reduzido, pois o tanino forma complexos com as glicoproteínas salivares, causando sensação de adstringência, favorecendo o aumento da salivação e tornando a dieta menos palatável (Reed, 1995), outro fator que interfere no consumo é a redução da digestibilidade, que está associado à capacidade de formar complexos com proteínas, hemicelulose, polímeros de celulose, pectina e minerais, por isto foi lhe atribuído o conceito de composto antinutricional de acordo com McSweeney et al. (2001).

Os complexos tanino-proteína acontece quando o pH está em torno de 3,5 a 7, e ocorre dissociação quando o pH é menor que 3,0 ou em torno que 8 ( Jones & Mangan, 1977). Ou seja, pode ser formado no ambiente ruminal onde o pH está em torno de 6 a 7, e dissociado no abomaso onde o pH é menor que 3,5 ou no duodeno que está por volta de 8.

A força de ligação entre estes complexos também depende de outros fatores como estrutura, peso molecular, ponto isoelétrico e compatibilidade de locais de ligação dos tanino e proteínas (Silanikove et al., 2001).

Esses complexos também ocorrem com a parede celular bacteriana e com suas enzimas extracelulares secretadas, inibindo o transporte dos nutrientes pela parede celular, interrompendo o crescimento microbiano (McSweeney et al., 2001).

A presença de complexos resulta em redução da proteólise ruminal, favorecendo o fluxo de proteína de origem dietética e microbiana para o abomaso, sendo um dos fatores determinantes da produtividade dos animais ruminantes (Patra & Saxena, 2011).

## 2.4 Efeitos sobre microrganismos ruminais

O tanino apresenta atividade antibacteriana que pode ser explicado pela formação de complexos com a membrana da parede celular das bactérias que causam alterações morfológicas (Smith et al., 2005).

Segundo Bodas et al. (2012), o modo de ação antibacteriano dos compostos secundários está baseado na sua passagem através da membrana celular das bactérias, desintegrando suas estruturas, causando liberação de íons, os efeitos sobre a atividade dos microrganismos ruminais dependem da espécie e composição da planta consumida.

As bactérias ruminais também podem agir sobre os taninos através de mecanismos de resistência, que podem modificar ou degradar taninos, produzir secreção de polissacárido extracelular para formar uma camada protetora em volta das células, a dissociação de complexos de tanino-substrato, a inativação por ligantes de alta afinidade ou modificação das membranas celulares (Smith et al., 2005).

As bactérias gram- negativas possuem duas membranas, onde a exterior atua como uma barreira impermeável (Nikaido, 1994), sendo mais resistente aos compostos, no entanto, as bactérias gram-positivas são mais sensíveis por possuírem apenas uma membrana (De Medeiros et al., 2015).

Patra & Saxena (2009), sugerem que os efeitos dos taninos condensados sobre populações de protozoários ruminais são variados e que podem depender do tipo de planta, ou seja, da natureza e da concentração de taninos, por exemplo Animut et al. (2008), encontraram um decréscimo no números de protozoários em cabras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de tanino condensado, sendo elas *Lespedeza striata*, *Lespedeza cuneata* e Quebracho, no entanto Jayanegara et al. (2012) através de uma metanálise baseada em 30 experimentos concluíram que não houve relação entre taninos dietéticos e contagens de protozoários em qualquer tipo de sistema, in vivo ou in vitro.

Esta variabilidade também ocorre com os fungos sendo o efeito definido de acordo com a estrutura química do tanino (Patra & Saxena, 2009).

## 2.5 Efeitos sobre a fermentação ruminal

Os taninos possuem mecanismos de degradação ruminal sobre diferentes componentes dietéticos que não foram totalmente elucidados (Frutos et al., 2004). De acordo com McSweeney et al. (2001), ligam-se as proteínas dietéticas, celulose, hemicelulose e pectina, reduzindo a sua degradabilidade, além de ligações com enzimas microbianas.

A redução da degradabilidade da proteína no rúmen por conta do complexo tanino proteína diminui a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen (Rira et al., 2015), melhorando a assimilação dos aminoácidos pelos ruminantes (Frutos et al., 2002). Os efeitos sobre a fermentação ruminal são favoráveis quando aumentam, não alteram, ou altera de forma benéfica, que significa mudar a relação acetato propionato e diminui a concentração de nitrogênio amoniacal (Bodas et al., 2012). O comportamento sobre os ácidos graxos na presença do tanino condensado são variáveis, e a redução do nitrogênio amoniacal é o efeito mais visto na literatura.

Através do trabalho *in vitro* de Pellikaan et al. (2011) foi observado que a ação do tanino sobre o pH do rúmen acompanha o efeitos da fermentação ruminal, onde os resultados mostraram redução na concentração de ácidos graxos voláteis, nitrogênio amoniacal e pH do conteúdo ruminal.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado após aprovação institucional da Universidade Federal da Bahia – UFBA, sendo todo o protocolo conduzido conforme os princípios éticos de experimentação animal adotado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, com protocolo nº 01/2015.

Foi desenvolvido na Fazenda Experimental da Universidade Federal da Bahia, localizada no município de São Gonçalo dos Campos-BA, no período de 30 de março a 23 de agosto de 2015.

Foram utilizados quatro bovinos mestiços, castrados, providos de cânula ruminal, com peso corporal médio inicial de  $446 \pm 34$  kg, alojados em baias individuais, providas de comedouro e bebedouro.

O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 4 x 4, com quatro animais e quatro períodos repetidos no tempo.

No início do experimento, os animais foram pesados e identificados. Os primeiros quinze dias foram destinados à adaptação dos animais as dietas, logo após iniciou-se o experimento, o período foi de dezessete dias cada, dos quais foram dez dias de adaptação às dietas e os sete últimos eram destinados à coleta de dados e amostras. Os animais foram pesados ao final de cada período.

As dietas foram formuladas para conterem teores semelhantes de nitrogênio e energia conforme recomendações do National Research Council (NRC, 2000) para ganho médio de 1,200 g/dia (Tabela 1) e foram compostas com a relação de volumoso e concentrado na proporção de 40:60 (base na matéria seca) respectivamente. O concentrado foi composto por milho moído (*Zea mays*), farelo de soja (*Glycine max*), óleo de soja, ureia, e sal mineral. A composição química e bromatológica dos ingredientes das dietas, feno de *Cynodon spp.* Cv. Tifton-85 e componentes do concentrado estão apresentados na Tabela 1.

Os tratamentos utilizados foram sem inclusão do extrato de *Acacia mearnsii* (Weibull AQ, Tanac SA, Montenegro, RS, Brasil) e com inclusões de 10, 30 e 50g / kg com base na matéria seca da dieta total (Tabela 2).

Nas tabelas 2 e 3 podem ser visualizadas a proporção dos ingredientes da dieta e a composição química respectivamente.

**Tabela 1.** Composição química e bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais

Fração analítica	Ingredientes (g/kg MS)			
	Feno de Tifton-85	Milho Moído	Farelo de soja	Extrato de Acácia negra
Matéria seca <sup>1</sup>	823,6	821,5	834	951,1
Matéria mineral <sup>2</sup>	61,7	11,4	64,6	32,3
Proteína bruta <sup>2</sup>	61,6	91,6	503,5	22,8
Extrato etéreo <sup>2</sup>	11,3	32,2	28,9	1,6
Fibra em detergente neutro cp <sup>2,3</sup>	739,5	84,9	76,6	0,0
Fibra em detergente ácido <sup>2</sup>	356,7	22,4	51,7	0,0
Carboidrato não fibroso <sup>2</sup>	125,9	779,9	326,4	0,0
PIDIN <sup>2,4,6</sup>	611,7	75,0	26,0	0,0
PIDA <sup>2,5,6</sup>	89,6	12,0	4,2	0,0
Lignina <sup>2</sup>	47,9	3,1	4,2	0,0
Celulose <sup>2</sup>	308,8	19,3	47,5	0,0
Hemicelulose <sup>2</sup>	382,8	62,5	24,9	0,0

<sup>1</sup>Gramas por quilograma (g /kg) da matéria natural , <sup>2</sup>Gramas por quilograma (g /kg) da matéria seca  
<sup>3</sup>Corrigido para cinzas e proteína, <sup>4</sup>Proteína insolúvel em detergente neutro, <sup>5</sup>Proteína insolúvel em detergente ácido, <sup>6</sup>Valor expresso com base na proteína bruta

**Tabela 2.** Proporção dos ingredientes das dietas.

Ingredientes (g/kg MS)	Níveis de inclusão do Extrato de Acácia (g/kg MS)			
	0	10	30	50
Milho moído	445	432,5	412,5	387,5
Farelo de Soja	87,5	90	90	95
Óleo de Soja	42,5	42,5	42,5	42,5
Extrato de Acácia	0	10	30	50
Sal Mineral <sup>1</sup>	10	10	10	10
Ureia <sup>2</sup>	15	15	15	15
Feno	400	400	400	400

<sup>1</sup>Níveis de garantia (por kg em elementos ativos): cálcio: (min,)118,0g, (máx,)145,0g; fósforo:96,8g; enxofre: 38,0g; cobre 1810,0 mg, cobalto: 66,0mg; ferro 2,846,0mg; iodo 89,5 mg; manganês:1,774,5 mg; selênio: 14,9mg; zinco:4,298,5mg; flúor: máximo 968,0mg, <sup>2</sup>Ureia: sulfato de amônia, relação 9:1.

**Tabela 3.** Composição bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes (g/kg MS)	Níveis de inclusão do Extrato de Acácia (g/kg MS)			
	0	10	30	50
Matéria seca <sup>1</sup>	835,5	836,8	839,4	842,0
Matéria mineral	45,4	45,7	46,2	46,8
Proteína bruta	149,5	149,9	148,5	149,2
Extrato etéreo	63,6	63,2	62,6	62,0
Fibra Detergente Neutro cp <sup>2</sup>	340,3	339,4	337,7	336,0
Fibra em Detergente Ácido	157,2	157,0	156,6	156,3
PIDN <sup>3,5</sup>	280,3	279,4	277,9	276,2
PIDA <sup>4,5</sup>	41,9	41,7	41,5	41,2
Lignina	20,9	20,9	20,8	20,8
Celulose	136,3	136,1	135,8	135,5
Hemicelulose	183,1	182,4	181,1	179,7
Carboidratos não fibrosos <sup>6</sup>	426,0	426,5	429,8	430,8
Tanino condensado <sup>7</sup>	0,0	7,2	21,6	36,0

<sup>1</sup> Gramas por quilograma (g /kg) na matéria natural, <sup>2</sup>Corrigido para cinzas e proteína, <sup>3</sup>Proteína insolúvel em detergente neutro, <sup>4</sup>Proteína insolúvel em detergente ácido, <sup>5</sup> Valor expresso com base na proteína bruta. <sup>6</sup> valores calculados de acordo com Hall (2000). <sup>7</sup> Valores descritos pelo fabricante Weibull AQ, Tanac S.A., Montenegro, RS, Brasil.

O arraçoamento foi feito dividindo-se a dieta total em duas ofertas diárias, às 8:00 e 15:00 horas, ajustadas de modo a garantir de 5 a 10% de sobras. O consumo diário foi ajustado por diferença entre o alimento fornecido e as sobras, por animal, em cada período de coleta.

Amostras dos ingredientes, sobras e fezes foram recolhidas nos cinco primeiros dias de coleta de cada período experimental. A coleta de fezes foi realizada em duas coletas diárias em horários alternados do dia, diretamente do reto dos animais. Após as coletas procedeu-se a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e moídas em moinho tipo Willey, com peneira de 1 mm, e analisados seus teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e nitrogênio total (N), sendo que o teor de proteína bruta (PB) foi obtido multiplicando-se o teor de nitrogênio total pelo fator 6,25, foram realizadas de acordo com o INCT (2012), método INCT-CA

G-003/1 para matéria seca, INCT-CA M-001/1 para matéria mineral, INCT-CA G-005/1 para o extrato etéreo e INCT-CA N-001/1 para nitrogênio total.

Para a determinação da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) utilizou-se metodologia de Van Soest et al. (1991) com modificações propostas por Senger et al. (2008). O teor de FDN foi corrigido para cinzas e proteína e, para tal, o resíduo da fervura em detergente neutro foi incinerado em mufla a 600° C por 4 horas, e a correção para proteína foi efetuada descontando-se o teor de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) que foi obtido assim como a proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) segundo recomendações de Licitra et al. (1996).

A lignina foi determinada conforme metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002), a partir do tratamento do resíduo de FDA com ácido sulfúrico a 72%. A hemicelulose foi obtida pela equação % hemicelulose = FDNcp – FDA e a celulose foi obtida pela equação % celulose = FDA – lignina, descritas em Silva e Queiroz (2002).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com a equação de Sniffen et al. (1992):  $CNF = 100 - (MM + PB + EE + FDNcp)$ . Para os CNF do concentrado, utilizou-se a equação  $100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ ureia}) + \%FDNcp + \% EE + \% \text{ cinzas}]$  (Hall, 2000).

O consumo de matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) em porcentagem do peso vivo corporal (% PC) foi estimado por meio da diferença entre o total da de MS e FDNcp contido na dieta ofertada e o total de MS e FDNcp presente nas sobras, os valores foram expressos em percentual ao peso vivo corporal.

As frações químicas do alimento efetivamente consumido foram obtidas por meio da divisão do consumo de cada nutriente pelo consumo de MS e o quociente foi então multiplicado por 100.

No intuito de determinar a excreção de matéria seca fecal para se estimar o coeficiente de digestibilidade, foi utilizada a FDN indigestível (FDNi) como indicador interno. As amostras de alimentos, sobras e fezes foram moídas em peneira de 2 mm e incubadas *in situ* em sacos de TNT (tecido não tecido) com gramatura 100 (100g de matéria prima/m<sup>2</sup> de produto final) e incubados no rúmen de dois bovinos fistulados por 288 horas (Valente et al., 2011) os sacos de TNT com o material remanescente da

incubação foram submetidos à fervura em detergente neutro por uma hora para quantificação dos teores de FDNi contido nos mesmos.

Os coeficientes de digestibilidade (CD) da MS, PB FDN e EE foram calculados da seguinte forma:

$$\text{CD} = \frac{[(\text{kg da fração ingerida} - \text{kg da fração excretada})]}{(\text{kg da fração ingerida})} \times 100.$$

Os teores de nutrientes digestíveis totais foram obtidos por meio da soma das frações digestíveis:  $\text{NDT} = \text{PBD} + 2,25 \times \text{EED} + \text{CNFD} + \text{FDNcpD}$ , em que PBD, EED, CNFD E FDNcpD são, respectivamente, proteína bruta, extrato etéreo, carboidratos não-fibrosos e fibra em detergente neutro (corrigido para cinzas e proteínas) digestível.

Foram realizadas coletas do líquido ruminal, para a avaliação de pH, concentração de amônia ( $\text{NH}_3$ ) e ácidos graxos voláteis (AGV), no décimo sexto dia do período experimental, nos seguintes horários, 0 (antes do arrazoamento), 2, 4 e 6 horas após a alimentação. As amostras foram coletadas manualmente em oito pontos diferentes do ambiente ruminal, filtradas com gaze e submetidas à avaliação do pH imediatamente após a coleta com o uso do pHmetro digital (TECNOPON mPA 210). Para análise de ( $\text{NH}_3$ ), uma alíquota de 50 mL de cada amostra de líquido ruminal foi acidificada com a adição de 1 mL de ácido sulfúrico 1:1 em recipiente identificado e armazenado a  $-10^\circ\text{C}$ .

Após o degelo, as amostras foram colocadas em tubos Falcon e centrifugadas a 3.000 x g por 10 minutos, o sobrenadante foi recolhido e submetido a análise de acordo com a metodologia de reação colorimétrica catalisada por indofenol (Chaney & Marbach, 1962).

Para análise dos AGV (acetato, propionato e butirato), uma alíquota de 50 mL de cada amostra de líquido ruminal foi coletada em recipiente identificado e armazenada a  $-10^\circ\text{C}$ . Após o degelo, as amostras do líquido ruminal foram colocadas em tubos Falcon e centrifugadas a 15.000 x g por 10 minutos, a identificação e quantificação dos ácidos foi obtida por HPLC (Cromatografia Líquida de Alto desempenho). A análise foi realizada em um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10A VP acoplado ao Detector Ultra Violeta (UV) utilizando-se um comprimento de ondas: 210 nm.

No cálculo do balanço de nitrogênio (g/dia), considerou-se as quantidades de nitrogênio consumidas (N-ingerido), excretadas nas fezes (N-fezes) e na urina (N-urina).

No décimo primeiro dia do período experimental foi realizado a coleta de urina total, durante 24 horas (Barbosa et al., 2006) utilizando-se funis, adaptados aos animais e ligados a mangueiras de polietileno, a urina foi captada em uma proveta, observava-se o volume e em seguida armazenada em recipiente plástico contendo 200 mL de ácido sulfúrico a 20%.

Após a coleta, a urina foi homogeneizada e filtrada em tripla camada de gaze e alíquotas de 10 mL foram diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico 0,036N. As amostras de urina foram armazenadas em potes de polietileno a -10 °C e, posteriormente, submetidas às análises das concentrações de alantoína, ácido úrico, e nitrogênio total. Determinou-se a concentração de alantoína, conforme método colorimétrico descrito por Chen & Gomes (1992). O ácido úrico foi determinado por meio de kit comercial (Labtest) e a determinação do nitrogênio total foi realizada pelo método de Kjeldahl.

Para excreção total dos derivados de purina foi calculada a soma das quantidades de alantoína e ácido úrico (mmol/dia) excretadas na urina.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação proposta por Chen & Gomes (1992):

$$Pabs = (DP - 0,385 * PV^{0,75}) / 0,84$$

Em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas, e  $0,385 * PV^{0,75}$  a excreção endógena de derivados de purinas.

A síntese retículo-ruminal de compostos nitrogenados microbianos NMic (g/dia) foi determinada em função das purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), por meio da equação descrita por Chen & Gomes, (1992):

$$NMic \text{ (g/dia)} = 70 * Pabs / 0,83 \times 0,116 \times 1.000$$

Em que 70 é o conteúdo de nitrogênio nas purinas (mgN/mol); 0,83 a digestibilidade intestinal das purinas microbianas e 0,116 a razão  $N_{\text{purinas}}:N_{\text{total}}$  dos microrganismos ruminais.

A síntese de proteína bruta microbiana foi obtida multiplicando-se o nitrogênio microbiano por 6,25, enquanto a eficiência de síntese de proteína microbiana g/kg foi determinada pela razão entre a síntese de proteína bruta microbiana e o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT).

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, sendo dois quadrados repetidos no tempo, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e foi utilizado o comando PROC MIXED com contrastes polinomiais para determinar o efeito linear e quadrático dos tratamentos.

Na análise dos dados de pH e  $\text{NH}_3$  do líquido ruminal foi utilizado o comando PROC MIXED e ao comando REPEATED devido a natureza das medidas repetidas dos dados (sequencialmente no tempo), o modelo incluiu a interação entre tempo e o tratamento como efeitos fixos. A estrutura de covariâncias utilizada foi a não estruturada (UN) por apresentar menor valor de BIC (critério de informação Bayesiano), foram utilizados contrastes polinomiais (linear e quadrático) para verificar o efeito do nível de inclusão, tempo após a alimentação e a interação entre eles.

Em todos os testes foi utilizado o programa estatístico SAS 9.1® (SAS, 2002) e a significância foi considerada quando P valor < 0,05.

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A inclusão do extrato de Acácia Negra na dieta diminuiu ( $P < 0,05$ ) o consumo de todas as frações do alimento, assim como reduziu o consumo de matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) em porcentagem do peso corporal. (Tabela 4).

**Tabela 4.** Consumos médios diários de frações nutricionais por bovinos alimentados com níveis do extrato de Acácia negra na dieta total.

Itens	Níveis do Extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	P – Valor <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
	Consumo em kg/dia						
MS	9,55	9,29	8,99	7,41	0,51	<0,0001	0,0359
MO	9,38	9,13	8,82	7,28	0,50	<0,0001	0,0324
PB	1,46	1,46	1,33	1,11	0,08	<0,0001	0,0550
EE	0,63	0,63	0,58	0,44	0,03	<0,0001	0,0058
FDNcp	3,10	2,87	2,99	2,64	0,18	0,0167	0,6022
CNF	4,18	4,17	3,92	3,08	0,23	<0,0001	0,0042
NDT	5,70	5,55	5,75	5,07	0,41	0,0492	0,1788
	Consumo em % do PC						
MS	2,00	1,94	1,89	1,53	0,08	0,0001	0,0586
FDNcp	0,65	0,60	0,63	0,55	0,03	0,0244	0,6445

MS=matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= Extrato etéreo, FDNcp= fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína, CNF= carboidratos não fibrosos, NDT= nutrientes digestíveis totais. <sup>1</sup> Erro padrão da Média. <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

O efeito sobre o consumo de alimentos em ruminantes é um dos mais relatados na literatura em estudos utilizando o tanino condensado (Reed, 1995; Makkar, 2003; Kozloski et al., 2012). Uma das explicações mais apresentadas para este efeito é a redução da palatabilidade; o tanino forma complexos com as glicoproteínas salivares, causando uma sensação de adstringência e conseqüentemente redução no consumo (Reed, 1995).

A composição química das frações efetivamente consumidas, PB, EE e CNF apresentaram efeito ( $P < 0,05$ ) linear decrescente. Entretanto, observou-se um aumento linear ( $P < 0,05$ ) para o FDNcp, e não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para MO (Tabela 5).

**Tabela 5.** Frações efetivamente consumidas por bovinos alimentados com níveis do extrato de Acácia negra na dieta total.

Efetivamente consumido (% MS)	Níveis do Extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	P – Valor <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
MO	98,38	98,29	98,21	98,27	0,11	0,3834	0,5140
PB	15,35	15,65	14,79	15,01	0,21	0,0525	0,8536
EE	6,63	6,77	6,43	5,99	0,09	<0,0001	0,0060
FDN <sub>cp</sub>	32,45	31,02	33,21	35,79	0,74	0,0005	0,0074
CNF	43,95	44,86	43,78	41,48	0,55	0,0006	0,0031

MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= Extrato etéreo, FDN<sub>cp</sub>= fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína, CNF= carboidratos não fibrosos. <sup>1</sup>Erro padrão da Média, <sup>2</sup>Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

Sendo assim, houve influência da inclusão do Extrato de Acácia nas dietas, demonstrando seleção do volumoso em detrimento ao concentrado. A seletividade foi realizada na tentativa de evitar o consumo do extrato, o qual foi misturado ao concentrado, provavelmente por redução na palatabilidade citado anteriormente. O coeficiente de digestibilidade da MS, EE, FDN<sub>cp</sub> e CNF aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão do extrato de Acácia Negra (Tabela 6). Como houve redução do consumo de MS, o alimento teve sua taxa de passagem reduzida, favorecendo o aumento no tempo de retenção da fibra no rúmen, permanecendo mais tempo sobre a ação dos microrganismos, resultando em aumento da digestibilidade. A digestibilidade da proteína bruta não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as dietas, o que pode ser atribuído à presença do tanino. O tanino se liga a proteína, evitando a sua degradação no rúmen (Patra & Saxena 2011), bem como inibe o crescimento de bactérias proteolíticas ruminais, de forma direta ou indireta, impossibilitando o acesso à proteína (Ishlak, et al., 2015), reduzindo a proteólise (Patra & Saxena 2011).

Portanto, assumindo que houve complexos entre a proteína dietética e o tanino no rúmen, não houve aumento na digestibilidade como as demais frações do alimento. Os complexos favorecem o aumento do fluxo de proteína não degradada da alimentação para o abomaso (Min et al, 2005). O abomaso apresenta pH abaixo de 3,5, sendo descrito como pH favorável à dissociação *in vitro* do complexo tanino-proteína. No

entanto, a sua digestão e absorção não são garantidos, pois o tanino condensado também pode inibir a absorção da proteína protegida (Waghorn, 2008).

**Tabela 6.** Coeficiente de digestibilidade aparente total (%) da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) em bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia negra

Itens	Níveis do Extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
MS	51,21	51,63	55,78	60,74	1,90	0,0002	0,1739
PB	62,47	60,49	61,00	66,89	2,93	0,1563	0,0791
EE	72,79	72,53	77,66	82,78	3,56	0,0090	0,3402
FDNcp	36,66	36,35	41,78	44,65	1,93	0,0011	0,3771
CNF	62,80	63,38	68,20	75,83	2,17	<0,0001	0,0639
NDT	59,87	60,28	64,07	68,66	1,91	0,0005	0,2171

<sup>1</sup> Erro padrão da média. <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) para concentração de amônia do líquido ruminal quatro horas após a alimentação (Tabela 7), provavelmente houve redução na degradabilidade da proteína bruta no rúmen, mas neste horário não foi possível observar este efeito, talvez por diferença na seletividade do alimento.

As concentrações molares de acetato, propionato, butirato, produção total dos ácidos graxos voláteis e pH não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pela inclusão de até 50 g/kg do extrato de Acácia Negra (36 g/kg de tanino condensado) na MS da dieta (Tabela 7).

Patra & Saxena, (2011), afirmaram que o uso de taninos parecem não afetar a digestão de carboidratos solúveis. Possivelmente a inclusão de extrato de Acácia neste trabalho não afetou a degradação dos carboidratos totais, apresentando maior interação com a proteína, com isso, a adição de até 50 g/ kg de Extrato de Acácia na matéria seca

não foi capaz de alterar a concentração de ácidos graxos voláteis, nem a relação acetato: propionato.

**Tabela 7.** Concentração de amônia (NH<sub>3</sub>) em mg/dL, valores de pH ruminal, concentração em µmol/mL de ácidos graxos voláteis (AGV), razão molar acetato/propionato (C2:C3) do líquido ruminal em bovinos 4 horas após o fornecimento da dieta contendo níveis do extrato de Acácia Negra.

Itens	Níveis do extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
N- NH <sub>3</sub>	8,93	10,19	8,97	8,24	1,16	0,5069	0,3715
pH	6,55	6,41	6,28	6,35	0,08	0,1241	0,2633
AGV	89,17	87,43	90,03	87,66	1,60	0,7546	0,8185
Acetato	56,15	54,70	56,22	54,16	1,18	0,4076	0,7935
Propionato	23,66	23,36	24,39	24,05	0,72	0,3365	0,9803
Butirato	9,35	9,37	9,41	9,44	0,26	0,7863	0,9749
C2:C3	2,40	2,36	2,31	2,26	0,07	0,1742	0,9699

<sup>1</sup>Erro padrão da média, <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

Os valores de pH do líquido ruminal apresentaram efeitos quadráticos (P<0,05) em função dos tempos de coleta (Tabela 8). Não foi observado interação entre tratamento e tempo para pH ruminal. Independente do tempo após a alimentação e a quantidade do extrato, o pH do rúmen não esteve abaixo de 6,21, mostrando-se próximo da faixa aceitável para favorecer a digestão ruminal das frações fibrosas, que está em torno de 6,2, segundo Grant e Mertens (1992). As médias mantiveram-se próximas de 6,4, podendo afirmar que não houve influencia do pH na fermentação ruminal.

Os valores de nitrogênio amoniacal do tratamento sem inclusão e com inclusão de 30 g/kg de extrato na MS não foram influenciados pelo tempo de coleta (P>0,05), os tratamentos com inclusão de 10 e 50 g/kg de extrato na MS foram influenciados e apresentaram comportamento quadrático. Não foi observado interação entre tratamento e tempo para nitrogênio amoniacal.

**Tabela 8.** Valores do pH ruminal e nitrogênio amoniacal ruminal (mg /dL), imediatamente antes da alimentação (0 h) e 2, 4, e 6 horas após a alimentação de bovinos recebendo dietas com níveis de extrato de Acácia Negra.

Níveis (g/kg MS)	Tempo (h)				EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	2	4	6		L	Q
pH ruminal							
0	6,65	6,72	6,55	6,47	0,0777	0,9176	0,0006
10	6,67	6,64	6,41	6,48	0,0753	0,5397	0,0002
30	6,49	6,49	6,28	6,22	0,0768	0,9151	0,0024
50	6,36	6,47	6,35	6,32	0,0760	0,2893	0,0002
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)							
0	7,34	11,79	8,93	6,62	1,2832	0,5138	0,6908
10	5,01	14,43	10,19	9,07	1,2330	0,5243	0,0327
30	6,04	13,00	8,97	6,38	1,2190	0,7760	0,5987
50	4,88	7,97	8,24	6,23	1,2452	0,3806	0,0468

<sup>1</sup> Erro padrão da média, <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos. Equação de regressão N-NH<sub>3</sub> nível 10g/kg MS:  $y = -0,651x^2 + 4,2837x + 5,9734$  ( $R^2 = 0,335$ ). Equação de regressão N-NH<sub>3</sub> nível 50g/kg MS:  $y = -0,3312x^2 + 2,233x + 4,7145$  ( $R^2 = 0,2328$ ).

Através da derivação da equação foi encontrado a concentração máxima de 13,02 mg/dL de N-NH<sub>3</sub> no tempo de 3,29 horas e 8,48 mg/dL de N-NH<sub>3</sub> no tempo de 3,37 horas após a alimentação para os tratamentos com inclusão de 10 e 50 g/kg de extrato na MS, respectivamente. Nesses horários ocorreram a maior intensidade da atividade proteolítica das bactérias ruminais sobre os alimentos, que segundo Berchielli (2006) ocorre normalmente por volta de 3 a 5 horas.

No período imediatamente antes da alimentação até 6 horas após o fornecimento da dieta, as médias gerais encontradas foram de 8,67; 9,67; 8,60; e 6,83 mg/dL de N-NH<sub>3</sub> para os tratamentos sem inclusão e com inclusão de 10, 30, e 50g/kg do extrato na MS, respectivamente; valores esses acima do valor de 5mg/dL que, segundo Satter & Slyter (1974), seria a concentração mínima no fluido ruminal que favorece o crescimento microbiano adequado.

As variáveis de N digerido, N na urina e N nas fezes apresentaram efeito ( $P < 0,05$ ) linear decrescente acompanhando a ingestão do N. Entretanto, para o balanço de N (g/dia), não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 9).

**Tabela 9.** Balanço de nitrogênio (N) em gramas por dia (g/dia) de bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia Negra.

Itens	Níveis do Extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
N ingerido	234,26	233,30	212,65	178,09	13,06	<0,0001	0,0528
N digerido	145,25	138,47	130,01	118,92	10,11	0,0078	0,7521
N urina	72,77	53,20	59,64	42,4	10,14	0,0120	0,8681
N fezes	89,01	95,79	82,64	59,16	7,51	0,0018	0,0298
Balanço g N/dia	72,47	87,16	70,38	76,52	13,05	0,8995	0,6105

<sup>1</sup> Erro padrão da média, <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

A oferta de dietas contendo taninos para ruminantes também é utilizada para modificar a excreção de N, diminuindo a excreção na urina e aumentando nas fezes. Isso reduz o desperdício desse nutriente, muito importante e, diminui a poluição ambiental, já que este nitrogênio nas fezes pode ser utilizado na produção agrícola (Makkar, 2003). Este efeito é um dos mais reportados ao utilizar taninos em baixas concentrações na alimentação de ruminantes (Waghorn, 2008).

As porcentagens de nitrogênio excretadas na urina foram de 31,06%, 22,80%, 28,05% e 23,81% no tratamento sem inclusão, e com inclusões do extrato de 10, 30 e 50 g/ kg na MS, respectivamente. Assim, como relatado na literatura. Houve menor excreção de N na urina nas dietas contendo tanino condensado.

As porcentagens de nitrogênio excretadas nas fezes foram de 38,00%, 41,05%, 38,86%, e 33,22% no tratamento sem inclusão e com inclusões de extrato de 10, 30 e 50 g/ kg de extrato na MS, respectivamente. Houve aumento comparando-se ao tratamento controle da excreção de N nas fezes de 8,05% e 2,28 % nos tratamentos com inclusão de 10g/kg e 30g/ kg na MS, o que pode ser devido a uma possível redução da degradabilidade da proteína no rúmen e maior aporte de aminoácido para o intestino. No

tratamento com 50g/ kg de extrato na MS, houve redução de 12,57% de N em comparação ao tratamento controle.

Percebe-se que a quantidade de N nas fezes diminuiu com a elevação dos teores do extrato, até ocorrer redução da excreção de nitrogênio, indicando maior absorção.

O balanço de nitrogênio foi de 30,94%, 37,35%, 33,10% e 42,97% para os tratamentos sem inclusão e com inclusões de 10, 30 e 50g/kg de extrato na MS respectivamente.

A redução do nitrogênio ingerido não resultou em menor balanço de nitrogênio pelos animais. Este comportamento ocorre devido à resposta compensatória de redução na excreção de nitrogênio urinário e fecal. De acordo com Marini et al, (2004) são mudanças adaptativas para se obter o melhor aproveitamento da dieta, portanto, podemos observar que houve aumento na eficiência de utilização do nitrogênio com a inclusão do extrato de Acácia na dieta.

A síntese de proteína bruta microbiana e a eficiência de síntese microbiana não diferiram ( $P>0,05$ ) com a inclusão de extrato de Acácia Negra até 50 g/Kg na MS (Tabela 10). Provavelmente as concentrações de nitrogênio amoniacal foram suficientes para manter a síntese de proteína microbiana, que de acordo com o estudo *in vitro* de Satter & Slyter (1974), seriam de 5mg/dL. Segundo Berchielle et al. (2006), a definição da concentração mínima de amônia no fluido ruminal para maximizar a síntese microbiana é controversa, podendo apresentar teor ótimo de acordo com a disponibilidade de energia fermentável no rúmen.

**Tabela 10.** Síntese diária de proteína microbiana e eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas contendo níveis do extrato de Acácia Negra.

Itens	Níveis do Extrato de Acácia (g/Kg MS)				EPM <sup>1</sup>	Valor de P <sup>2</sup>	
	0	10	30	50		L	Q
Sínt. N microb. (g/d)	89,04	66,55	97,52	69,89	15,07	0,640	0,841
Sínt. PB microb (g/d)	556,48	415,98	609,50	436,80	92,99	0,640	0,841
Efic. de sínt.							
Pmic g/kg NDT	101,61	76,53	108,62	86,92	18,94	0,864	0,915

<sup>1</sup>-Erro padrão da média, <sup>2</sup> Valores de probabilidade para testar o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

McSweeney et al. (2001a) realizaram estudo utilizando ovelhas alimentadas com *Calliandra calothyrsus* (calliandra), que contém taninos condensados, e observaram redução na população de bactérias sem alterar a eficiência de síntese de proteína microbiana. Wischer et al. (2013) testaram o efeito de cinco extratos ricos em taninos *in vitro* (Rusitec) e a eficiência da síntese de proteínas microbianas não foram significativamente afetadas.

## 5. CONCLUSÃO

A inclusão de extrato de Acácia Negra até o nível de 50g/kg na matéria seca, melhora a eficiência de fermentação ruminal, e pode ser usado como uma opção para otimização do aproveitamento de aminoácidos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHNERT, S., DICKHOEFER, U., SCHULZ, F., SUSENBETH, A. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. *Livestock Science*. v.177 p.63–70, 2015.

ANIMUT, G., GOETSCH, A.L., PUCHALA, R., PATRA, A.K., SAHLU, T., VAREL, V.H., WELLS, J. Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. *Animal Feed Science Technology*, v.144, p. 228–241, 2008.

ÁVILA, S. C., KOZLOSKI, G. V., ORLANDI, T., MEZZOMO M. P., S. STEFANELLO. Impact of a tannin extract on digestibility, ruminal fermentation and duodenal flow of amino acids in steers fed maize silage and concentrate containing soybean meal or canola meal as protein source *Journal of Agricultural Science* v. 153, p.943–953, 2015.

BARBOSA, A. M., VALADARES R. F. D., FILHO, S. DE C. V., 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 protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.35, n.3, p.870-877, 2006

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.

BEAUCHEMIN, K. A., MCGINN, S. M., MARTINEZ, T. F., MCALLISTER, T. A. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *Journal Animal Science*. v. 85, p.1990–1996, 2007.

BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., DE OLIVEIRA, S. G., *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal, SP 2006.

- BODAS, R., PRIETO, N., GARCÍA-GONZÁLEZ, R., ANDRÉS, S., GIRÁLDEZA, F.J., LÓPEZ S. *Animal Feed Science Technology*, v.176 p.78– 93, 2012.
- BORGES JÚNIOR, N., SOBOROSA, R. C., MARTINS-CODER, M. P., Multiplicação *in vitro* de gemas axilares de Acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). *Revista Árvore*, Viçosa, v. 28, p. 493-498. 2004.
- CARRENÑO, 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.
- CARULLA, J. E., KREUZER, M., MACHMÜLLER, A., HESS, H. D. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 56, p.961, 2005.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, v.8, P.130-132, 1962.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. *Bucksburn: Rowett Research Institute*, 21p. 1992.
- CIESLAK, A., ZMORA, P., PERS-KAMCZYC, E., SZUMACHER-STRABEL, M. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. *Animal Feed Science and Technology*, v.176 p.102– 106, 2012.
- DA SILVA, C.S., DE SOUZA, E. J. O., PEREIRA, G. F. C., CAVALCANTE., E. O., DE LIMA, E. I. M., TORRES, T. R., DA SILVA, J. R. C., DA SILVA, D. C. Plant extracts as phytogetic additives considering intake, digestibility, and feeding behavior of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, v. 49, n.2, p.353-359, 2017.
- DE MEDEIROS, S. R., GOMES, R. C., BUNGENSTAB D. J. *Nutrição de bovinos de corte Fundamentos e aplicações- Embrapa 1ª edição Brasília, DF 2015.*
- FLACHOWSKY, G. and LEBZIEN P. Effects of phytogetic substances on rumen fermentation and methane emissions: A proposal for a research process *Animal Feed Science and Technology*, v.176 p. 70– 77, 2012.
- FRUTOS, P., HERVÁS, G., GIRÁLDEZ, F.J., MANTECÓN, A.R. An *in vitro* study on the ability of polyethylene glycol to inhibit the effect of quebracho tannins and tannic

acid on rumen fermentation in sheep, goats, cows, and deer. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.55, p.1125–1132, 2004.

FRUTOS, P., HERVÁS, G., RAMOS, G., GIRÁLDEZ, F.J., MANTECÓN, A.R. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science Technology*, v.92, p.215 -226, 2002.

GRANT, R. J and MERTENS, D. R. Development of Buffer Systems for pH Control and Evaluation of pH Effects on Fiber Digestion In Vitro. *Dairy Science* v.75, p.1581-1587, 1992.

HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. Gainesville: University of Florida, p.A-25. (Bulletin 339), 2000.

HASSANAT, F. AND BENCHAAAR, C. Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production in vitro. *Journal Science Food Agriculture* v.93 p.332–339, 2013.

INCT- Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal, MÉTODOS PARA ANÁLISE DE ALIMENTOS, 2012.

ISHLAK, A., GÜNALB, M., ABUGHAZALEHA, A. A. The effects of cinnamaldehyde, monensin and quebrachocondensed tannin on rumen fermentation, biohydrogenationand bacteria in continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*, v.207, p.31–40, 2015.

JAYANEGARA, A., LEIBER, F., KREUZER, M., Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants fromin vivo and in vitro experiments. *Journal Animal physiological and Animal Nutrition*, v. 96, p.365–375, 2012.

JONES W. T. AND MANGAN J. L. Complexes of the Condensed Tannins of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with Fraction 1 Leaf Protein and with Submaxillary Mucoprotein, and their Reversal by Polyethylene Glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, n.28, p.126-136, 1977.

KOZLOSKI, G.V., HÄRTER, C.J., HENTZ, F., ÁVILA, S.C., ORLANDI, T., STEFANELLO, C.M. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Small Ruminant Research* v.106, p.125–130, 2012.

KRUEGER, W.K., GUTIERREZ-BANUELOS H., CARSTENS, G.E, MIN, B.R., PINCHAK, W.E., GOMEZ, R.R., ANDERSON, R.C., KRUEGER, N.A., FORBES, T.D.A. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science and Technology*. v. 159 p.1–9, 2010.

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

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.

MARINI J.C., KLEIN J.D., SANDS J.M., VAN AMBURGH, M.E. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *Journal of Animal Science*, v.82, p. 1157–1164, 2004.

MARTINEZ, D.T. Seleção genética de *Acacia mearnsii* de wild. (acácia-negra) visando o aumento da qualidade e produtividade de madeira e tanino no rio grande do sul. 90f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2006.

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

MIN, B.R., ATTWOOD, G.T., MCNABB, W.C. MOLAN, A.L., BARRY, T.N. The effect of condensed tannins from *Lotus corniculatus* on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology* , v. 121 , p.45–58, 2005.

- MULLER, I. Avaliação da produtividade da *Acacia mearnsii* De Will. (Acácia negra) em função de diferentes espaçamentos. 131f. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, RS. 2006.
- NIKAIDO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*. v.264, p.382–388, 1994.
- NRC- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle. 7ed. Washington, D. C.:348p, 2000.
- ORLANDI, T., KOZLOSKI, G.V., ALVES, T.P., MESQUITA, F.R., ÁVILA, S.C. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Animal Feed Science and Technology* v.210, p.37–45, 2015.
- OTERO, M.J., HIDALGO, L.G. Taninos condensados en espécies forrajeras de clima templado: efectos sobre productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. *Livestock Research for Rural Development*, v.16, p. 1-9. 2004.
- 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.
- PATRA, A.K., SAXENA, J., Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal Science Food Agriculture*, v.91, p. 24–37. 2011.
- PELLIKAAN, W.F., STRINGANO, E., LEENAARS, J., BONGERS, D.J.G.M., VAN LAAR-VAN SCHUPPEN, S., PLANT, J., MUELLER-HARVEY, I. Evaluating effects of tannins on extent and rate of in vitro gas and CH<sub>4</sub> production using an automated pressure evaluation system (APES). *Animal Feed Science Technology*, v.166–167, p.377–390, 2011.
- PERNA JUNIOR, F., CASSIANO, E.C.O., MARTINS, M.F., ROMERO, L.A., ZAPATA, D.C.V., PINEDO, L.A., MARINO, C.T., P.H.M. RODRIGUES. Effect of tannins-rich extract from *Acacia mearnsii* or monensin as feed additives on ruminal fermentation efficiency in cattle. *Livestock Science*, v.203, p. 21–29, 2017.

- REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal Animal Science*, v.73, p.1516-1528, 1995.
- RIRA, M., MORGAVI, D. P. , ARCHIMÈDE, H. Potential of tannin-rich plants for modulating ruminal microbes and ruminal fermentation in sheep. *Journal Animal Science*, v. 93, p.334–347, 2015.
- SATTER, L. D., SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of nutrition*, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SENGER, C.C.D, et al. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, v.146, p.169-174, 2008.
- SILANIKOVE, N., PEREVOLOTSKY, A., PROVENZA, F.D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science Technology* v. 91, p. 69–81, 2001.
- SILVA, C. S., SOUZA, E. J. O., PEREIRA, G. F. C., CAVALCANTE, E. O., DE LIMA, E. I. M., TORRES, T. R. DA SILVA, J. R. C., DA SILVA, D. C. Plant extracts as phytogetic additives considering intake, digestibility, and feeding behavior of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 2017.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- SMITH, T., MLAMBO, V., SIKOSANA, J. L., N., MAPHOSA, V., MUELLER-HARVEY, I., OWEN, E. *Dichrostachys cinerea* and *Acacia nilotica* fruits as dry season feed supplements for goats in a semi-arid environment. *Animal Feed Science Technology*, v.122, p.149-157, 2005.
- SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J., FOX, D.G., RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v.70, p.3562-3577, 1992.
- STATISTICAL Analysis System SAS. *User's Guide*, version 9, 4.ed., North Caroline, SAS Institute INC., 2002.
- TANAC, 2017. <http://www.tanac.com.br> (acessado em 06/04/2017).

VALENTE, T.N.P., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S.C., QUEIROZ, A.C., SAMPAIO, C.B., GOMES, D.I. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.1148-1154, 2011.

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. 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.

WISCHER, G., BOGUHN, J., STEINGA, H., SCHOLLENBERGER, M. AND RODEHUTSCORD M.. Effects of different tannin-rich extracts and rapeseed tannin monomers on methane formation and microbial protein synthesis in vitro. *Revista Animal*. 2013.