

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

HENRIQUE JONATHA TAVARES

**ESTIMATIVA DE CONSUMO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS A PARTIR DE
SUA CONCENTRAÇÃO FECAL EM OVINOS**

**Porto Alegre
2022**

HENRIQUE JONATHA TAVARES

**ESTIMATIVA DE CONSUMO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS A PARTIR
DE SUA CONCENTRAÇÃO FECAL EM OVINOS**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do grau de Mestre em Zootecnia, na
Faculdade de Agronomia, da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Henrique Espírito Candal Poli

**Porto Alegre
2022**

CIP - Catalogação na Publicação

Tavares, Henrique Jonatha
ESTIMATIVA DE CONSUMO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS A
PARTIR DE SUA CONCENTRAÇÃO FECAL EM OVINOS / Henrique
Jonatha Tavares. -- 2022.
51 f.
Orientador: César Henrique Espírito Candal Poli.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, , Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Tanino. 2. Tocoferol. 3. Ovinos. I. Espírito
Candal Poli, César Henrique, orient. II. Título.

Henrique Jonatha Tavares
Médico Veterinário

DISSERTAÇÃO

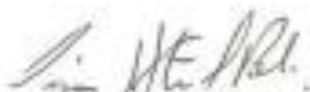
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 17.08.22
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 18/10/2022
Por



CESAR HENRIQUE ESPIRITO CANDAL POLI
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



SERGIO LUIZ VIEIRA
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



Alda Lúcia Gomes Monteiro
UFRR



Renius de Oliveira Mello
UFRR



Vivian Fischer
UFRGS



CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

Ao fim dos dois anos de mestrado, tenho diversos agradecimentos a serem feitos. Inicialmente agradeço aos meus pais e minha irmã por todo apoio incondicional, toda a preocupação e ajuda emocional, pelos comentários positivos durante toda essa jornada. Mesmo distante vocês sempre estiveram muito presentes.

Agradeço ainda ao meu Orientador, por todo o apoio, compreensão e confiança.

Agradeço também a Doutoranda do grupo Luíza. Muito obrigado por sempre me apoiar e ajudar em todos os passos do mestrado, por me lembrar das datas, por me acompanhar madrugadas adentro durante a realização das análises laboratoriais, tornando esse momento mais leve.

Agradeço também aos integrantes do CEPOV, em especial a mestranda Aline e aos doutorandos Marina e Juliano.

Também fica um registro de agradecimento aos professores Renius, Gilberto e Marta por terem cedido espaço em seus laboratórios para a execução das análises.

As minhas colegas de trabalho Angélica e Gabriela, que se tornaram minha família no Rio Grande do Sul, que sempre me apoiaram e me ajudaram muito, principalmente durante as minhas ausências ou falhas em alguns compromissos. Meu mais sincero agradecimento.

Ao meu colega de apartamento e amigo Willian, por ouvir todos os meus desabafos (que não foram poucos), por me ajudar na parte prática de coletas, e mesmo a distância por se prontificar e me ajudar com as análises estatísticas.

Agradeço ainda a minha coordenadora Wanessa, por me possibilitar o primeiro emprego e me apoiar na decisão de fazer o mestrado. Sempre disponível e solícita. Agradeço também pelas reuniões de feedbacks que me ajudaram muito, de forma profissional e pessoal, me dando a confiança necessária para continuar nos caminhos que escolhi. Sempre levarei o que aprendi com você, em especial a regra do 1/3.

RESUMO

ESTIMATIVA DE CONSUMO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS A PARTIR DE SUA CONCENTRAÇÃO FECAL EM OVINOS

Autor: Henrique Jonatha Tavares¹

Orientador: Prof. Cesar Henrique Espírito Candal Poli

A estimativa do consumo de compostos secundários das plantas por animais em pastejo continua sendo um desafio nas pesquisas de nutrição animal. Objetivou-se estimar o consumo de compostos secundários de plantas, como fenóis, taninos e tocoferóis, pelos ovinos a partir da concentração desses compostos nas fezes. Para tal, foram coletadas amostras fecais de 39 cordeiros machos, castrados da raça Crioula Lanada, com 150 dias de idade, e peso vivo inicial médio de $22,53 \pm 3,77$ kg. Os animais foram distribuídos de forma aleatória em baias individuais formando quatro grupos que receberam dietas distintas, sendo: 1) dieta controle, formulada com casca de soja, milho e farelo de soja, sem adição de compostos antioxidantes; 2) dieta controle com adição de α -tocoferol (400 mg/kg); 3) dieta controle com adição de extrato taninífero de Acácia negra (4% MS da dieta) e 4) dieta controle com adição de α -tocoferol e extrato taninífero de Acácia negra, nas mesmas quantidades dos tratamentos anteriores. A oferta de ração e a sobra foram pesadas diariamente para determinação do consumo real dos animais. Após período de adaptação dos animais à dieta, as fezes foram coletadas direto do reto dos animais durante cinco dias consecutivos e armazenadas a -20°C para posterior avaliação das quantidades de taninos e tocoferol. Além das fezes, foram realizadas coletas das diferentes dietas fornecidas, para análise dos compostos. As amostras foram liofilizadas e a quantidade de fenóis e taninos foi determinada por espectrofotometria, enquanto a concentração de tocoferol foi determinada por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). Análises de variância e regressões lineares foram realizadas para verificar diferenças entre as dietas e uma possível relação entre a quantidade dos compostos ingeridos (quantidade conhecida) e a quantidade eliminada nas fezes. As análises estatísticas mostraram diferença significativa ($P < 0,05$) nas quantidades de taninos e tocoferol nas quatro dietas (ração e fezes). Foram criadas cinco equações de regressão para os compostos avaliados (alfa-tocoferol, fenóis totais, taninos totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis). Dentre as equações criadas para predição de consumo de cada composto, a de maior r^2 (0,59) foi a de fenóis totais, mostrando-se melhor ajustada para estimativa de fenóis totais consumidos pelos ovinos.

Palavras-chave: cordeiro; fenol; ingestão; modelo matemático; tanino; tocoferol.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (48 p.) Abril, 2022.

ABSTRACT

ESTIMATED CONSUMPTION OF SECONDARY METABOLITES FROM THEIR FECAL CONCENTRATION IN SHEEP

Author: Henrique Jonatha Tavares²

Supervisor: Prof. Cesar Henrique Espírito Candal Poli.

Estimating the consumption of secondary plant compounds by grazing animals remains a challenge in animal nutrition research. The objective of this work is to estimate the consumption of secondary plant compounds, such as phenols, tannins and tocopherol, by sheep from the concentration of these compounds in the feces. For this, fecal samples were collected from 39 male lambs, castrated, crosses Crioula Lanada breed, with 150 days of age, and average initial live weight of 22.53 ± 3.77 kg. The animals were randomly distributed in individual pens, forming four groups that received different diets, as follows: 1) control diet, formulated with soybean hulls, corn and soybean meal, without the addition of antioxidant compounds; 2) control diet with the addition of α -tocopherol (400 mg/kg); 3) control diet with the addition of Acacia tannin extract (4% DM of the diet) and 4) control diet with the addition of α -tocopherol and Acacia tannin extract, in the same amounts as in the previous treatments. The feed supply and leftovers were weighed daily to determine the real consumption of the animals. After a period of adaptation of the animals to the diet, the feces were collected directly from the animals' rectum for five consecutive days and stored at -20°C for later evaluation of the amounts of tannins and tocopherol. In addition to the feces, different diets were collected for analysis of the compounds. The samples were lyophilized and the amount of phenols and tannins was determined by spectrophotometry, while the concentration of tocopherol was determined by HPLC (High Pressure Liquid Chromatography). Analysis of variance and linear regressions were performed to verify differences between the diets and a possible relationship between the amount of compounds ingested (known amount) and the amount eliminated in the feces. Statistical analyzes showed a significant difference ($P < 0.05$) in the amounts of tannins and tocopherol in the four diets (feed and feces). Five regression equations were created for the evaluated compounds (α -tocopherol, total phenols, total tannins, condensed tannins and hydrolysable tannins). Among the equations created to predict the consumption of each compound, the one with the highest r^2 (0.59) was that of total phenols, showing potential for estimating total phenols consumed by sheep.

Keywords: intake; lamb; mathematical model; phenol; tannin; tocopherol.

² Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (93 p.) Abril, 2022.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1	Uso de marcadores fecais.....	21
2.2	Tocoferol.....	22
2.3	Taninos.....	24
3	HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	26
3.1	Hipótese.....	26
3.2	Objetivo Geral.....	26
3.3	Objetivos Específicos.....	26

CAPÍTULO II - Estimativa de consumo de compostos secundário das plantas através de sua concentração nas fezes de ovinos

	Introdução.....	29
	Material e Métodos.....	30
	Resultados.....	36
	Discussão.....	41
	Conclusão.....	43
	Revisão Bibliográfica.....	44

CAPÍTULO III

4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
5	REFERÊNCIAS.....	51
6	APÊNDICES.....	54
	VITA.....	56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1.	Ingredientes e composição química das dietas experimentais de ovinos com a presença ou não de tocoferol e/ou tanino.....	31
Tabela 2.	Valores médios e erro padrão (EP) de quantidades consumida e excretada de alfa-tocoferol (Cons-alfa e Fezes-alfa, respectivamente), de quantidades de fenóis totais (FT-ração), taninos condensados (TC-ração), taninos hidrolisáveis (TH-ração), e taninos totais (TT-ração) ingeridas; de quantidades de fenóis totais (FT- fezes), taninos condensados (TC-fezes), taninos hidrolisáveis (TH-fezes) e taninos totais (TT-fezes) eliminadas nas fezes.....	37

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Estrutura química da molécula de alfa-tocoferol..... 23
- Figura 2.** Estrutura química do tanino condensado, polímeros de flavan-3-ol..... 25
- Figura 3.** Estrutura química do tanino hidrolisável..... 25

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de alfa-tocoferol em ovinos..... 38
- Figura 2.** Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de fenóis totais de ovinos..... 39
- Figura 3.** Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos totais em ovinos..... 39
- Figura 4.** Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos totais em ovinos..... 40
- Figura 5.** Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos hidrolisáveis de ovinos..... 40

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A criação de ruminantes em sistemas pastoris, sejam eles bovinos, ovinos, caprinos ou bubalinos, depende diretamente da quantidade e qualidade dos nutrientes ingeridos. Há uma influência direta das quantidades consumidas com o desempenho dos animais. Entretanto, a estimativa de consumo de compostos secundários das plantas pelos animais em pastejo ainda é um grande desafio. Faz-se necessário um entendimento quantitativo em relação ao consumo desses compostos pelos animais para que sua nutrição possa ser o mais assertiva possível e conseqüentemente atinjam os índices produtivos esperados (MAYES & DOVE, 2000).

Dos compostos secundários presentes nas forrageiras, destacam-se em relação a pecuária os taninos condensados (POLI et al., 1998; LIU et al., 2011) e os tocoferóis (TURNER et al., 2002; SANT'ANA et al., 2011; RIPOLL et al., 2013). Apesar de haver importantes trabalhos no mundo com a utilização de taninos condensados e tocoferóis (POLI et al., 1998; WAGHORN, 2008; LIU et al., 2011; LOUVANDINI et al., 2011; RIPOLL et al., 2013), ainda é pouco conhecido o efeito desses compostos secundários, presentes em gramíneas e leguminosas, sobre a produtividade e qualidade da carne de cordeiros sendo escassos também dados de consumo desses compostos de forma natural.

Entretanto, já foi demonstrado que cordeiros criados consumindo forragem fresca podem apresentar concentrações elevadas de α -tocoferol muscular, contribuindo para uma melhor estabilidade oxidativa e cor da carne. Segundo MCDOWEL (1996), a vitamina E é sintetizada e encontrada primariamente nas plantas. Os óleos encontrados nas plantas constituem uma rica fonte de vitamina E. Todas as plantas contêm alfa-tocoferol em suas folhas e outras partes verdes, contido em grande parte nos cloroplastos das células das plantas.

Um dos objetivos da suplementação da vitamina E é retardar a oxidação de lipídeos nos alimentos cárneos. Como é uma vitamina lipossolúvel, o alfa-tocoferol se distribui entre as biomembranas e assim sua concentração aumenta com a suplementação da dieta de forma a proteger os ácidos graxos insaturados da membrana contra a oxidação. Suplementação com vitamina E retarda a

oxidação lipídica em carne fresca durante a exposição e condições de varejo (Lages, 2004). A vitamina E é considerada um supressor de radicais livres em membranas biológicas, pois sua localização dentro da biocamada biológica das membranas celulares provê um meio de controlar a oxidação lipídica ao sitio de iniciação e propagação (Jensen et al., 1998).

Já os taninos são compostos secundários das plantas ligados à sua defesa contra patógenos, fungos, condições ambientais adversas e ao próprio consumo da planta por animais. Logo, quanto maiores os desafios encarados pela planta maior será a concentração de taninos (CORDÃO; FILHO; BAKKE, 2010). Podem variar de concentração nos tecidos vegetais, dependendo da idade, condição fisiológica, tamanho e parte coletada da planta, da época ou do local de coleta (TEIXEIRA, SOARES & SCOLFORO, 1990; BASTIANETTO & QUIRION, 2002). Os taninos são principalmente encontrados nos vacúolos das plantas, interferindo no metabolismo vegetal somente após lesão ou morte das mesmas (CANNAS, 2005).

Vários são os métodos utilizados para a análise de fenóis totais e taninos totais, entretanto devido a essa variação na estrutura e composição torna-se difícil adequar os resultados analíticos aos efeitos nos animais. Mas sabe-se que os taninos têm um importante papel na nutrição animal, exercendo efeitos adversos e/ou benéficos. Seus benefícios estão em grande parte ligados à habilidade desses compostos em formar complexos com vários tipos de moléculas. Além da capacidade dos taninos em precipitar proteína, eles também são capazes de interagir com outras macromoléculas, como carboidratos e membrana celular das bactérias (LEINMÜLLER & KARL-HEINZ, 1991).

Muitos trabalhos citados na literatura mostram que quantidades de taninos condensados entre 10 a 40 g.kg⁻¹ MS podem prevenir o timpanismo; aumentar o fornecimento de proteína “by-pass” para digestão no intestino delgado, além de tornar a utilização de aminoácidos essenciais da dieta mais eficiente (BRANDES & FEITAS, 1992).

Os métodos mais usados para a determinação de taninos em forragens são os métodos colorimétricos. Entretanto, ainda podem ser utilizadas outras ferramentas HPLC (cromatografia líquida de alta resolução), gravimetria, métodos de ligação e precipitação com proteínas. Entretanto, a maioria desses

métodos avalia as concentrações de taninos não em valores absolutos, mas em relação a padrões, por exemplo, ácido tânico e ácido gálico (SALUNKHE et al., 1990).

Este trabalho encontra-se dividido em dois capítulos. O primeiro contendo uma introdução e revisão do tema, assim como hipóteses e objetivos. Já o segundo capítulo traz um artigo científico que será submetido a revista *Tropical Animal Health and Production*, intitulado “Estimativa de consumo de compostos secundário das plantas através de sua concentração nas fezes de ovinos”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tocoferol

O tocoferol, conhecido genericamente como vitamina E é composto por oito diferentes tipos de tocoferóis e tocotrienóis dentre os quais se destaca com maior poder antioxidante o alfa-tocoferol (BUETTNER, 1993), vide Figura 1. Os tocoferóis possuem uma cadeia lateral saturada, enquanto os tocotrienóis possuem uma cadeia lateral insaturada contendo três ligações duplas. Além disso, quatro tocoferóis (alfa, beta, gama e ômega) e quatro tocotrienóis (alfa, beta, gama e ômega) são diferenciados pela posição dos grupos metil (-CH₃) nas posições 5, 7 ou 8 do anel chroman (COLOMBO, 2010).

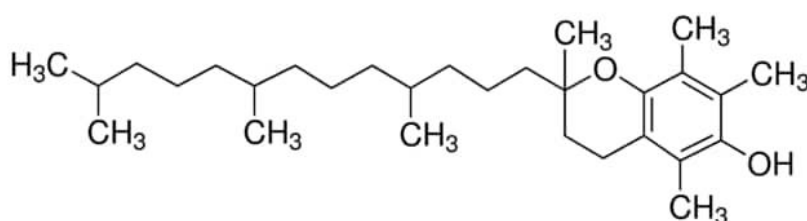


Figura 1. Estrutura química da molécula de alfa-tocoferol (<https://www.researchgate.net/publication/342078411>).

De uma forma resumida, o tocoferol age no organismo inibindo a peroxidação lipídica doando hidrogênio para os radicais peroxila. Essa reação irreversível torna os radicais livres inativos e conseqüentemente incapazes de gerar danos celulares (BUETTNER, 1993). Graças as características de lipossolubilidade da vitamina E, a absorção é dependente da habilidade dos animais digerirem e absorverem gordura (PEREIRA, 2002). Entretanto, muitas vezes, a presença da vitamina em tecidos animais reflete a disponibilidade na dieta (PEREIRA, 2002).

Após a solubilização das micelas, a vitamina E pode ser absorvida no intestino delgado dos animais em forma de álcool livre em sua maior parte. Após a absorção intestinal, a vitamina E entra na circulação através do sistema linfático. Sua absorção de forma geral é baixa e variável, estando diretamente relacionada com a disponibilidade de lipídeos na alimentação (SANGUINET, 2019).

Sua distribuição no organismo do animal ocorre de forma cumulativa e diretamente relacionado com a quantidade ingerida, o que a difere de outras vitaminas que costumam ter um limiar de absorção limitado em órgãos que não sejam o fígado, o que pode justificar seu alto poder antioxidante. Seu acúmulo em maiores quantidades ocorre no fígado, tecido adiposo e músculos, e sua excreção, em maior parte ocorre pela via fecal, por eliminação direta ou através da bile e menos de 1% pela via urinária (SANGUINET, 2019; GONZÁLEZ & SILVA, 2019).

O tocoferol possui ainda uma grande vantagem ao ser utilizado na alimentação de ovinos, pelo fato de ser encontrado naturalmente nas pastagens em concentrações que variam de 50 a 200mg/Kg MS (GABBEY et al., 1977). Segundo Pearce et al., (2005), a ingestão de tocoferol por ovinos alimentados com *Atriplex* spp. foi de 106mg/dia. Segundo o estudo as concentrações de alfa-tocoferol podem variar de acordo com as estações do ano e em relação a precipitação, sendo encontrados níveis mais baixos em pastagens secas.

As forrageiras são uma boa opção para aumentar o conteúdo muscular de α -tocoferol (RIPOLL et al., 2013). Cordeiros pastando forragem fresca podem ter

concentrações elevadas de α -tocoferol muscular, resultando na melhoria da estabilidade oxidativa e da cor da carne sem ter a necessidade de suplementação com vitamina E. Segundo Mcdowel (1996), a vitamina E é sintetizada e encontrada primariamente nas plantas. Os óleos encontrados nas plantas constituem uma rica fonte de vitamina E. Todas as plantas contêm alfa-tocoferol em suas folhas e outras partes verdes. Devido ao fato de o alfa-tocoferol estar contido em grande parte nos cloroplastos das células das plantas, as plantas verdes contêm mais vitamina E do que plantas amarelas, por exemplo.

A vitamina E atua como protetor das membranas celulares contra estresse oxidativo, prevenindo a lipoperoxidação das membranas biológicas (MAAS et al. 1994, BARROS 2001, RADOSTITS et al. 2002). Se o organismo é privado desses mecanismos, as membranas celulares têm a sua permeabilidade alterada, permitindo o influxo de cálcio para o citosol. Isso resulta no acúmulo de cálcio nas mitocôndrias e morte celular, causando necrose segmentar (BARROS 2001).

2.2 Consumo de Tocoferol por Ruminantes

A vitamina E não pode ser sintetizada pelos animais, portanto a presença da vitamina em tecidos reflete a disponibilidade na dieta. Graças as características de lipossolubilidade da vitamina E, a absorção é dependente da habilidade dos animais digerirem e absorverem gordura (PEREIRA, 2002). A deficiência dessa vitamina pode levar a vários problemas para a saúde dos animais, incluindo alterações reprodutivas (retenção de placenta, reabsorção fetal, distocia), maior susceptibilidade a infecções pela redução da função dos neutrófilos, diminuição na produtividade animal e morte por distrofia muscular nutricional (SMITH & SHERMAN 1994, RADOSTITS et al. 2002).

Segundo Tramontano et. al., (1993) as estimativas de necessidade dietética de alfa-tocoferol em herbívoros podem ser estimadas a partir da concentração total do alfa-tocoferol nas plantas e ração. E a partir do consumo desse composto é possível estabelecer uma relação com a estabilidade da cor da carne e oxidação

dos ácidos graxos, já que essas características estão intimamente ligadas aos alimentos ofertados ao animal (PONNAMPALAM, 2001).

Sabe-se que gramíneas em crescimento apresentam teor mais elevado de alfa-tocoferol quando comparadas a gramíneas senescentes (PEARCE et. al., (2005). Já alimentos processados, segundo McDowell (1996), podem ter o conteúdo de vitamina E reduzido, especialmente quando expostos à peroxidação lipídica, formada durante o desenvolvimento da rancificação oxidativa das gorduras.

Segundo Ballet et al. (2000), embora a capacidade das espécies de plantas sejam diferente em sintetizar essas vitaminas, um fator relevante para ambas é o percentual de folha e colmo, pois os teores na folha são superiores a do colmo e isso influencia significativamente o nível de β -caroteno e α -tocoferol encontrado nas forragens. O mesmo autor relata que há variação de até 22% no nível de α -tocoferol em quatro variedades de alfafa e para o nível de β -caroteno essa variação foi na ordem de 30% quando se utilizou nove variedades de alfafa. Já o teor de tiamina em quatro variedades de alfafa não apresentou diferença significativa.

2.3 Taninos

Os taninos são compostos secundários das plantas ligados à sua defesa contra patógenos, fungos, condições ambientais adversas e ao próprio consumo da planta por animais. Logo, quanto maiores os desafios encarados pela planta, maior será a concentração de taninos (CORDÃO; FILHO; BAKKE, 2010).

Taninos são solúveis em água, com grande potencial de formar ligações com proteínas, aminoácidos e polissacarídeos. Eles são metabólicos secundários de grande interesse econômico e ecológico (BRUNETON, 1991). O tanino pode ser classificado com base em sua estrutura em taninos hidrolisáveis que como a própria classificação já indica, sofrem hidrólise no rúmen liberando ácidos fenólicos e um açúcar, e taninos condensados que não sofrem hidrólise no rúmen. A quantidade e a estrutura desse composto determinam seus efeitos nutricionais nos animais (MAKKAR, 1995; CANNAS, 2003).

Os taninos condensados são polímeros constituído de unidades de flavan-3-ol e/ou flavan-3-4-diol (NAUMANN et al., 2017), conforme pode ser visualizado na Figura 2. Os taninos hidrolisáveis, mostrados na Figura 3, são ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados em que os grupos hidroxilas do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (MONTEIRO et al., 2005).

A ação do tanino pode ser benéfica ou maléfica, variando de acordo com a quantidade ingerida pelo animal. Quando utilizados em níveis intermediários, os taninos podem apresentar características favoráveis na alimentação animal. Seus principais benefícios estão relacionados a ligação entre tanino e proteína. Em termos gerais, as ligações entre os taninos e as proteínas são feitas por pontes de hidrogênio, entre os grupos hidroxifenóis dos taninos e os grupos carbonila das ligações peptídicas (BARRY & DUNCAN, 1984; REED, 1995). Segundo Makkar (1988), uma vez complexados, a utilização da proteína é diminuída, afetando a digestibilidade dos carboidratos, e a absorção e a retenção de algumas vitaminas e minerais. Essa ligação é mantida nas condições de pH ruminal e torna a proteína protegida da hidrólise microbiana. Uma vez protegida da fermentação, essa proteína chegará ao abomaso. Este órgão possui um pH ácido, o que desfaz a ligação entre tanino e proteína, permitindo que ela seja digerida no intestino pelas enzimas digestivas do animal (BRANDES & FREITAS, 1992).

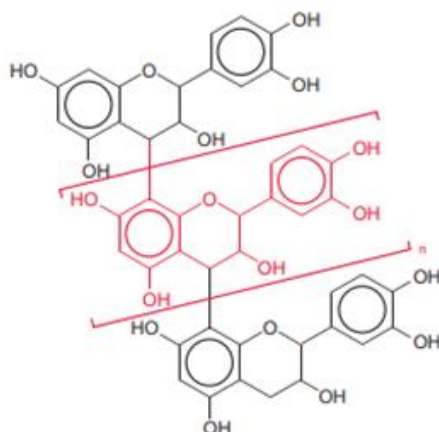


Figura 2. Estrutura química do tanino condensado, polímeros de flavan-3-ol (PIECHULLA & HELDT, 2010).

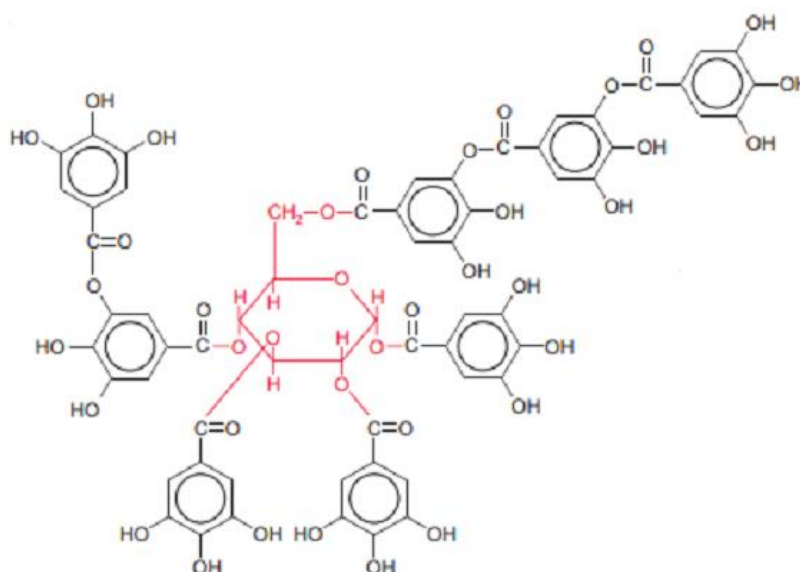


Figura 3. Estrutura química do tanino hidrolisável (PIECHULLA & HELDT, 2010).

2.4 Consumo de Taninos por Ruminantes

Os ruminantes de uma forma geral, são mais resistentes a alguns princípios que podem causar toxicidade como nos casos de altas concentrações de tanino. Isso se deve a capacidade de ação dos microrganismos do rúmen que transformam essas substâncias tóxicas, diminuindo seu grau de toxicidade ou até mesmo as deixando inócuas. Dessa forma, o rúmen funciona como primeira barreira de defesa contra substâncias tóxicas (RIET-CORREA E MEDEIROS, 2001; AGUDELO, 2007; SELINGER; FOSBERG; CHENG, 1996). Os efeitos dos taninos sobre o processo de digestão nos ruminantes resultam, principalmente, da sua concentração e estrutura. Concentrações em torno de 3 a 4% da matéria seca de leguminosas, segundo Barry e McNabb (1999), podem aumentar a absorção intestinal de aminoácidos, enquanto o fornecimento de doses maiores (6 a 12% na MS) pode causar depressão do consumo e redução na eficiência do processo digestivo (FRUTOS et al., 2002).

O consumo de taninos por ruminantes pode ainda estar relacionado a efeitos positivos associados à sua concentração (entre 3 e 4% de taninos na MS), onde destacam-se: prevenção do timpanismo (Cruz et al., 2007) e efeito anti-helmíntico, em faixa entre 2-4% segundo Otero e Hidalgo (2004). Já Vitti et al. (2005) afirma que não pode ser generalizado que concentração de tanino

entre 2% e 4% da MS são benéficos para a digestão e que valores acima de 5% são deletérios para o metabolismo. A presença de taninos maior nas leguminosas que nas gramíneas contribui ainda para uma menor emissão de CH₄ pelos ruminantes, sendo sugerido por Archimède et al. (2011) a inclusão de leguminosas na dieta desses animais.

Apesar das características benéficas, quando a ingestão de taninos pelos ruminantes é muita elevada e excede a capacidade de degradação dos microrganismos, a absorção de compostos fenólicos pode levar toxidez ao animal. Embora este processo ainda não esteja bem entendido, parece estar relacionado com o aparecimento de necroses no fígado e nos rins, foto-sensibilização e morte (PINTO et al., 2004).

A magnitude dos efeitos deletérios, varia com os tipos e concentrações de taninos. Waldo (1973) demonstrou que a digestibilidade do amido no rúmen diminui com o aumento no nível de taninos. A digestão da fibra também foi reduzida pelos taninos condensados na dieta (BARRY e DUNCAN, 1984; YU et al., 1995), resultando em um menor suprimento de ATP (adenosina trifosfato) aos microrganismos, retardando seu crescimento e, portanto, a síntese de proteína microbiana necessária ao animal. Adicionado a isto, a produção de ácidos graxos in vitro (AGV, s) também é reduzida pelo nível de taninos, ocasionando indisponibilidade de energia para o animal.

De maneira geral, os efeitos adversos dos taninos incluem: redução no consumo; baixa digestibilidade; inibição de enzimas digestíveis; perda de proteínas endógenas, e efeitos sistêmicos como resultados de produtos degradados de taninos hidrolisáveis no trato gastrointestinal (GETACHEW; MAKKAR; BECKER, 2000b). Cabral Filho (2004), estudando três cultivares de sorgo com níveis crescente de taninos, (0, 1,9 e 2,4%), respectivamente, na alimentação de ovinos, observou que a digestibilidade da matéria seca (DMS) e da proteína bruta (DPB) é reduzida pela presença de taninos condensados na dieta, mesmo em baixas concentrações.

A diminuição do consumo voluntário está relacionada com a formação de complexos entre taninos e glicoproteínas da boca (adstringência). A diminuição da digestibilidade também pode ser responsável pelo efeito negativo no

consumo (CANNAS, 1999). Os taninos podem reduzir a ingestão por diminuição da aceitabilidade e por afetar negativamente a digestão (REED, 1995). A aceitabilidade é reduzida por causa da adstringência causada pela formação de complexos entre os taninos presentes nos alimentos e a glicoproteína salivar. A presença de taninos condensados na dieta também está associada à diminuição da digestibilidade dos glicídeos parietais, levando a um decréscimo na produção de ácidos graxos voláteis, de gás e do valor energético dos alimentos (KUMAR & SINGH, 1984). Estes efeitos podem ser atribuídos: à ligação dos taninos solúveis com componentes da parede celular (CANOPOLOCHE, 1993); a uma redução da atividade enzimática, com inativação de importantes enzimas microbianas (BAE et al., 1993); e a uma modificação da microflora, devido a uma ação bacteriostática ou bactericida do tanino (KUMAR & VAITHIYANATHAN, 1990; NELSON et al., 1997; MCSWEENEY et al., 2001).

O consumo de taninos por ruminantes pode ainda estar relacionado a efeitos positivos associados à sua concentração (entre 3 e 4% de taninos na MS), onde destacam-se: prevenção do timpanismo (Cruz et al., 2007) e e) efeito anti-helmíntico, em faixa entre 2-4% segundo Otero e Hidalgo (2004). Já Vitti et al. (2005) afirma que não pode ser generalizado que concentração de tanino entre 2% e 4% da MS são benéficos para a digestão e que valores acima de 5% são deletérios para o metabolismo. A presença de taninos maior nas leguminosas que nas gramíneas contribui ainda para uma menor emissão de CH₄ pelos ruminantes, sendo sugerido por Archimède et al. (2011) a inclusão de leguminosas na dieta desses animais.

3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

3.1 Hipóteses

É possível estimar o consumo de compostos secundários de plantas, como fenóis, taninos e tocoferol, por ovinos a partir da concentração desses compostos nas fezes.

3.2 Objetivo Geral

Avaliar o uso de fenóis, taninos e tocoferol presentes nas fezes para estimar o consumo desses compostos em ovinos.

3.3 Objetivos Específicos

- 1) Quantificar as concentrações de fenóis, taninos e tocoferol na dieta e nas fezes de ovinos alimentados artificialmente com esses compostos.
- 2) Gerar modelo matemático de ingestão e excreção de fenóis, tanino e tocoferol a partir da análise das fezes de animais alimentados artificialmente com esses compostos.
- 3) Avaliar o uso de fenóis, taninos e tocoferol como estimadores do consumo desses compostos.

CAPÍTULO II³

**Artigo a ser submetido para a revista Tropical Animal Health and
Production**

³ Artigo elaborado de acordo com as normas da Tropical Animal Health and Production (Apêndice 1)

Estimativa do consumo de metabólitos secundários a partir de sua concentração fecal em ovinos

Henrique Jonatha Tavares¹; Cesar Henrique Espírito Candal Poli¹; Luiza Rodegheri Jacondino¹; Marina Terra Braga¹; Aline Sgiers¹; Gladis Ferreira Corrêa²; Jalise Fabíola Tontini¹; Rênus Mello³; Marta Leal³

¹ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Universidade Federal do Pampa. Dom Pedrito, RS, Brasil.

³ Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

Autor para correspondência: Cesar Henrique Espírito Candal Poli. E-mail: cesar.poli@ufrgs.br

Resumo: Objetivou-se avaliar o uso de compostos fenólicos, taninos e tocoferol presentes no alimento como estimativa do consumo desses compostos para ovinos. Foram coletadas amostras fecais de 39 ovinos alimentados com quatro dietas diferentes: 1) dieta base formulada com casca de soja, milho e farelo de soja; 2) dieta base mais adição de tocoferol; 3) dieta base mais adição de extrato de tanino condensado e 4) dieta base mais adição de tocoferol e extrato de tanino condensado. As amostras da ração e das fezes foram coletadas durante cinco dias consecutivos. Essas amostras foram agrupadas em pool por indivíduo para análise de taninos e tocoferol por espectrofotometria e por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Pressão), respectivamente. Após a quantificação desses compostos supracitados, procedeu-se a avaliação estatística através da análise de regressão linear. Buscou-se verificar a existência de uma relação linear entre a quantidade desses compostos eliminada nas fezes e a quantidade dos compostos ingeridos.. Baseado nisso, foram criadas cinco equações de regressão para os compostos avaliados (alfa-tocoferol, fenóis totais, taninos totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis). Dentre as equações, a de maior r^2 (0,5853) foi a de fenóis totais, mostrando melhor ajuste para quantificação dos compostos fenólicos na dieta a partir da concentração nas fezes de ovinos.

Palavras-chave: cordeiro; fenol; ingestão; modelo matemático; tanino; tocoferol.

INTRODUÇÃO

A produção de ruminantes depende diretamente da quantidade de nutrientes ingeridos. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que meçam a quantidade de diferentes compostos ingeridos, principalmente quando os animais são criados a pasto para que se atinjam os índices produtivos esperados (Mayes e Dove, 2000). Acreditamos que esse é o primeiro estudo realizado para estimar o consumo de tanino e tocoferol a partir das suas concentrações nas fezes. Ele pode ainda ser mais importante para ruminantes criados em pastagens com diferentes espécies forrageiras. O campo natural do bioma Pampa, por exemplo, apresenta uma importante quantidade de taninos e tocoferóis (Tontini et al. 2021) e essa avaliação pode auxiliar a determinar o quanto esse campo permite o consumo pelos animais desses compostos bioativos.

Os tocoferóis, conhecidos genericamente como vitamina E, são compostos por oito diferentes tipos de tocoferóis e tocotrienóis (Buettner, 1993). A vitamina E não pode ser sintetizada pelos animais e muitas vezes a presença da vitamina em tecidos animais reflete a disponibilidade na dieta. Sua excreção, em maior parte ocorre pela via fecal e menos de 1% pela via urinária (González e Silva, 2019; Sanguinet, 2019).

Já os taninos são compostos secundários das plantas ligados à sua defesa contra patógenos, fungos, condições ambientais adversas e ao próprio consumo da planta por animais (Tontini et al., 2021). A concentração pode variar nos tecidos vegetais, dependendo da idade, condição fisiológica, tamanho e parte coletada da planta, da época ou do local de coleta (Teixeira, Soares e Scolforo, 1990; Bastianetto e Quirion, 2002). Os taninos são principalmente encontrados nos vacúolos das plantas, interferindo no metabolismo vegetal somente após lesão ou morte das mesmas (Cannas, 2003).

Como essas substâncias estão presentes nas plantas, hipotetizou-se que seria possível estimar o consumo de compostos secundário de plantas por ovinos a partir da

excreção fecal de fenóis, taninos e tocoferol. Portanto, objetivou-se avaliar o uso de fenólicos, taninos e tocoferóis presentes nas fezes como estimadores de consumo de compostos secundários por ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas instalações da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), campus Dom Pedrito (Latitude: 30° 58' 54" Sul, Longitude: 54° 40' 39" Oeste.) entre os meses de dezembro de 2019 e março de 2020. Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CEUA-UFRGS), sob o protocolo nº 39705 (Anexo 1).

Procedimentos experimentais

Para realização desse estudo, foram utilizados 39 cordeiros, machos, castrados, da raça Crioula Lanada, com idade aproximada de 150 dias e peso inicial de $22,53 \pm 3,77$ kg. Os animais permaneceram distribuídos de forma aleatória em baias individuais de madeira (3m²) e cama de areia, contendo comedouro e bebedouro. Eles foram submetidos a quatro tratamentos dietéticos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com 10 repetições.

Antes do início do experimento, todos os animais receberam anti-helmíntico (albendazol – Albendathon® 10% na dose de 5mg/Kg) e foram vacinados contra clostridioses (Ourovac® 10 TH, 2mL), tosquiados e adaptados as baias e dietas por um período de oito dias com ofertas de ração crescente até atingir 4% do peso vivo em ração. Na sequência, os animais passaram a ser alimentados com as rações dos seus respectivos tratamentos *ad libitum*, duas vezes ao dia.

Todos os tratamentos foram compostos por uma dieta base (Tabela 1), formulada para atender as exigências de crescimento dos animais em 200 g/animal/dia (NRC, 2007),

acrescidas, ou não, das fontes de compostos secundários (tanino ou tocoferol) por meio de uma pré-mistura específica: 1) tratamento controle - dieta base; 2) tratamento tocoferol – dieta base com adição de alfa-tocoferol (400 mg/kg de MS); 3) tratamento tanino – dieta base com extrato taninífero de Acácia negra (40 g/kg de MS) e 4) tratamento tanino + tocoferol – dieta base com alfa-tocoferol (400 mg/kg de MS) e extrato taninífero de Acácia negra (40 g/kg de MS).

A oferta de alimento foi ajustada todos os dias durante o período experimental, que durou 63 dias, de maneira a proporcionar sobras diárias de aproximadamente 20%. As quantidades ofertadas e recusadas de ração eram registradas diariamente para mensurar o consumo de matéria seca real (CMS). Os cordeiros foram pesados em balança digital a cada 14 dias, com jejum prévio de sólidos de 12 horas.

TABELA 1 Ingredientes e composição química das dietas experimentais de ovinos com a presença ou não de α -tocoferol e/ou extrato taninífero de acácia negra.

	Controle	Tocoferol	Tanino	Tanino + tocoferol
<i>Ingredientes (g/kg)</i>				
Casca de soja	75	75	75	75
Farelo de soja	14	14	14	14
Milho	10	10	10	10
Sal mineral	1	1	1	1
Extrato de acácia negra (g/kg)	0	0	40	40
α -tocoferol (mg/kg)	0	400	0	400
<i>Composição química (% MS)</i>				
Matéria seca (%)	91.02	89.82	90.61	89.79
Proteína bruta	15.5	14.5	15.5	14.3
Fibra em detergente neutro	61.73	60.78	64.60	66.54
Fibra em detergente ácido	42.0	45.2	40.5	40.7
Cinzas	5.0	4.9	4.7	4.8
Extrato etéreo	2.5	1.9	2.6	2.3

Coleta e armazenamento das amostras

Foram coletadas ao final do experimento amostras de fezes de todos os animais durante 5 dias para posterior análise quanto aos níveis de fenólicos, taninos e tocoferol consumidos e excretados. As amostras de fezes (± 30 g) foram coletadas diretamente do reto de cada animal e armazenadas individualmente. Após os cinco dias de coleta, foi realizado um pool das amostras de fezes de cada animal. Para a coleta das amostras das diferentes dietas, uma fração da ração foi coletada diretamente do equipamento de mistura a cada 14 dias durante o período experimental E a partir dessa coleta as amostras foram agrupadas por dieta para coleta de subamostras. Todas as amostras foram armazenadas logo após as coletas em freezer a -20°C até o seu processamento. As amostras de ração e fezes foram liofilizadas e moídas antes da quantificação dos fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis. Para a quantificação de tocoferol, apenas as amostras de ração foram liofilizadas, nesse caso, as fezes foram apenas descongeladas. Todos os processos da técnica foram realizados com utilização de papel alumínio em sala escura para evitar o contato das amostras com a luz.

Análises de fenólicos, taninos e tocoferóis

A quantificação de fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis foi feita de acordo com Makkar (2000). A análise da concentração de vitamina E (alfa-tocoferol) foi realizada por meio de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

A análise de alfa-tocoferol foi realizada simultaneamente nas fezes e ração, adaptando-se o procedimento descrito por Prates et al. (2006). As amostras de ração (0,5 g) foram liofilizadas previamente e as de fezes (0,5 g) foram usadas *in natura*. Todas as amostras foram saponificadas em solução de KOH 11%, e em solução de etanol 55% a 80°C por 15 minutos e homogeneizadas com solução de hexano com BHT (0,025

mg/mL). Os tocoferóis foram extraídos com n-hexano e secos sob fluxo de nitrogênio resfriado. Na sequência, a leitura foi realizada usando um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho CBM-20A Prominence HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com desgaseificador (proeminência DGU20A5, Shimadzu, Japão), forno de coluna (proeminência CTO-20A, Shimadzu, Japão) um detector de fluorescência (proeminência RF-20A, Shimadzu, Japão) em série. A separação foi realizada em uma coluna C-18 Agilent Microsorb-MV 100-5 C de fase reversa (tamanho de partícula de 5 µm, 250 mm, 4,6 mm) a 30°C. O volume de injeção foi de 20 µL, e a fase móvel foi uma mistura de acetonitrila/metanol/MTBE (65:25:10 v/v) a uma taxa de fluxo de 0,8 mL/min.

Os cromatogramas foram obtidos usando detecção de fluorescência para tocoferol (excitação em 295 nm e emissão em 325 nm). Curvas de calibração para alfa-tocoferol ($y = 2066141x + 73218$; $r = 0,999$) foram construídos usando padrões de referência da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MI, EUA) (alfa-tocoferol, T3251). O limite de detecção (LoD) e o limite de quantificação (LoQ) para alfa tocoferol foi de 0,052 ppm e 0,005 ppm, respectivamente. O conteúdo de tocoferol foi expresso em mg/kg de matéria seca.

Para as análises de fenólicos totais, taninos totais e taninos condensados foram pesadas 0,2 g de amostra (fezes e ração) liofilizada, para posterior adição de 5 mL de éter etílico acidificado. Essa mistura foi agitada vigorosamente e centrifugada na sequência por 10 minutos a 3000 g a 4°C em centrífuga Avanti® J-E e o sobrenadante descartado. Esse procedimento era repetido por 3 vezes. Após o último descarte de sobrenadante (éter), o resíduo era ressuspenso em acetona 70% e transferido para um béquer onde permanecia por 20 min em ultrassom (UltraCleaner 1450A) com água gelada, sendo transferido posteriormente para um tubo e novamente centrifugado a 3000 g por 10 minutos a 4°C. Após esse procedimento, o sobrenadante era filtrado para um balão

volumétrico de 25 mL. O resíduo do tubo era novamente submetido ao mesmo procedimento (suspensão em acetona 70 %, ultrassom por 20 min com água gelada, nova centrifugação) e o sobrenadante filtrado no balão volumétrico. Ao final das duas coletas do sobrenadante filtrado, o balão era completado com acetona 70 % até a marca dos 25 mL.

Após a extração, as amostras eram preparadas de acordo com o método de quantificação de cada fração (fenólicos totais, taninos totais, taninos condensados) segundo metodologia descrita por Terrill et al. (1992) para posterior leitura em espectrofotômetro (SPECTROPHOTOMETER SP1105).

Análise Estatística

Os pressupostos da análise de variância (ANOVA) foram testados por meio de testes de normalidade, homocedasticidade ($P > 0,05$) e independência de resíduos, por meio dos testes de *Shapiro Wilk*, *Bartlett* e análise visual de resíduos. Após essa etapa, os dados foram submetidos à ANOVA com nível de significância de 5%, utilizando-se um modelo misto utilizando a função *lme* do pacote *nlme* (Pinheiro et al., 2019). Diferentes modelos foram testados, comparados com base no critério AIC (Akaike, 1973). O modelo que melhor se ajustou às variáveis incluiu o tratamento como efeito fixo e, como efeito aleatório o animal ($y \sim \text{tratamento} + (1 | \text{animal})$). Quando diferenças entre as médias foram detectadas, elas foram comparadas por meio do teste t (Student), por meio do pacote *emmeans* (Lenh et al., 2019). Todas as análises foram feitas com a linguagem de programação R, versão 4.1.1.

O consumo dos taninos e tocoferóis foram obtidos por cálculo baseado no consumo total de ração por animal e mensuração de cada composto avaliado nas amostras de ração. Os dados foram submetidos à análise de regressão linear com os níveis de oferta

com 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se o coeficiente de determinação r^2 como um indicador para medir a qualidade do ajustamento de uma linha de regressão.

RESULTADOS

Observou-se que houve diferença significativa entre a quantidade de tanino e tocoferol nas dietas e nas fezes. Como era de se esperar, houve uma maior presença de taninos e tocoferol nas fezes dos tratamentos em que esses foram acrescidos de forma exógena a dieta.

Em relação ao alfa-tocoferol, sua concentração nas fezes foi maior nos dois grupos que receberam rações com adição de alfa-tocoferol. O mesmo padrão pôde ser observado em relação aos taninos, tendo uma maior concentração de fenóis totais, taninos totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis na dieta e nas fezes dos grupos suplementados com extrato taninífero de *Acácia negra* (*Acacia mearnsii*).

É possível verificar nas Figuras de 1 a 5 os resultados das equações de regressão linear e seus respectivos coeficientes de regressão (r^2). As figuras mostram os pontos de distribuição do consumo e da excreção de cada composto, bem como a previsão calculada de excreção caso o consumo aumente. Nota-se também que dentre os compostos, os fenóis totais foi o que apresentou o melhor ajuste da variância dos dados distribuídos na regressão linear (Figura 2). Essa figura mostra o maior coeficiente de determinação (r^2) e foi criada a partir do consumo e excreção dos fenóis totais. A equação de regressão linear ($P < 0,0001$) entre consumo (CFT) e excreção fecal (EFT) de fenóis totais foi determinada, sendo a relação descrita por $CFT = 0,5353EFT + 15,12$ e apresentando coeficiente de determinação de 0,59.

Em relação ao ajuste dos modelos lineares, a medida de consumo e excreção de taninos totais (Figura 3) mostrou-se semelhante ao modelo de consumo e excreção de fenóis totais. O modelo linear que menos explica a variância dos dados foi a que relaciona o consumo e excreção de alfa-tocoferol (Figura 1). As regressões lineares entre consumo e excreção dos taninos condensados (Figura 4) e hidrolisável (Figura 5) apresentaram coeficientes de determinação intermediários.

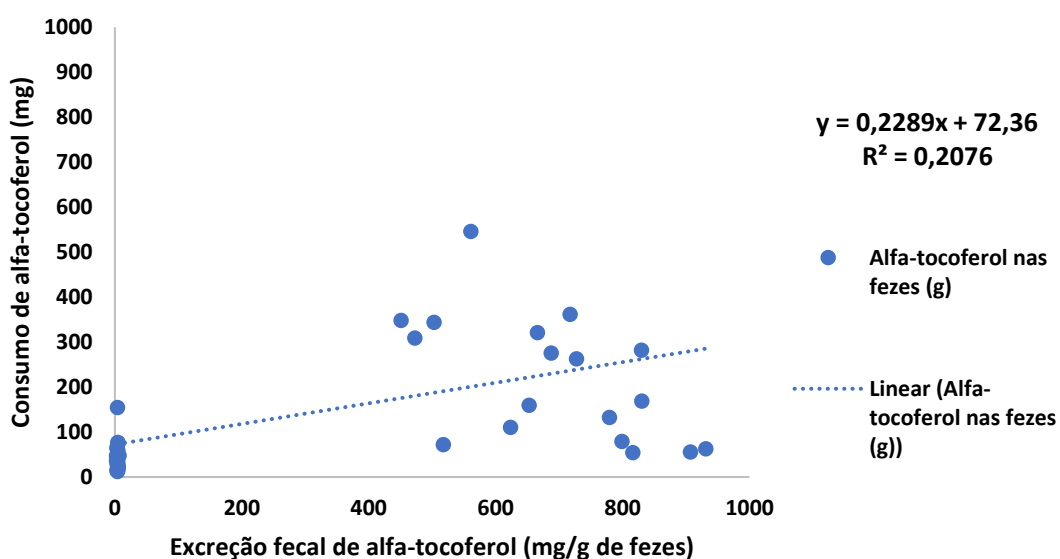


FIGURA 1 Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de alfa-tocoferol por ovinos em sistema de confinamento.

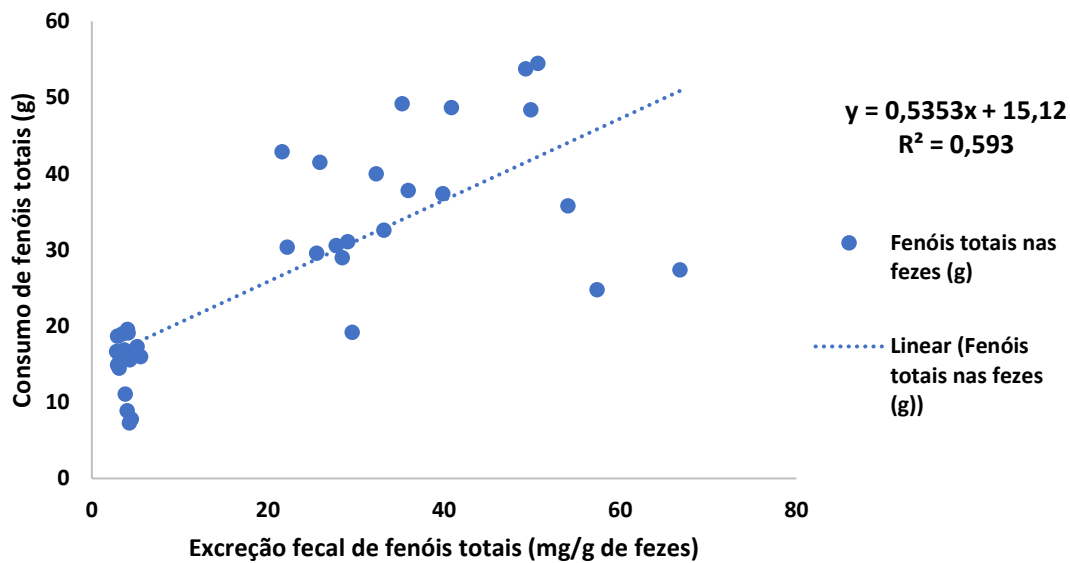


FIGURA 2 Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de fenóis totais por ovinos em sistema de confinamento.

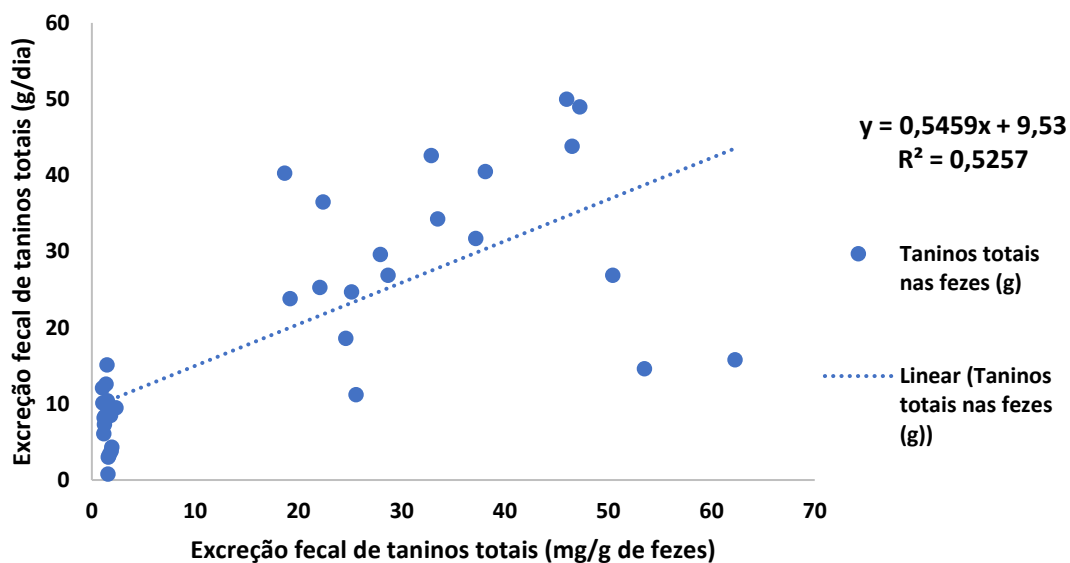


FIGURA 3 Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos totais por ovinos em sistema de confinamento.

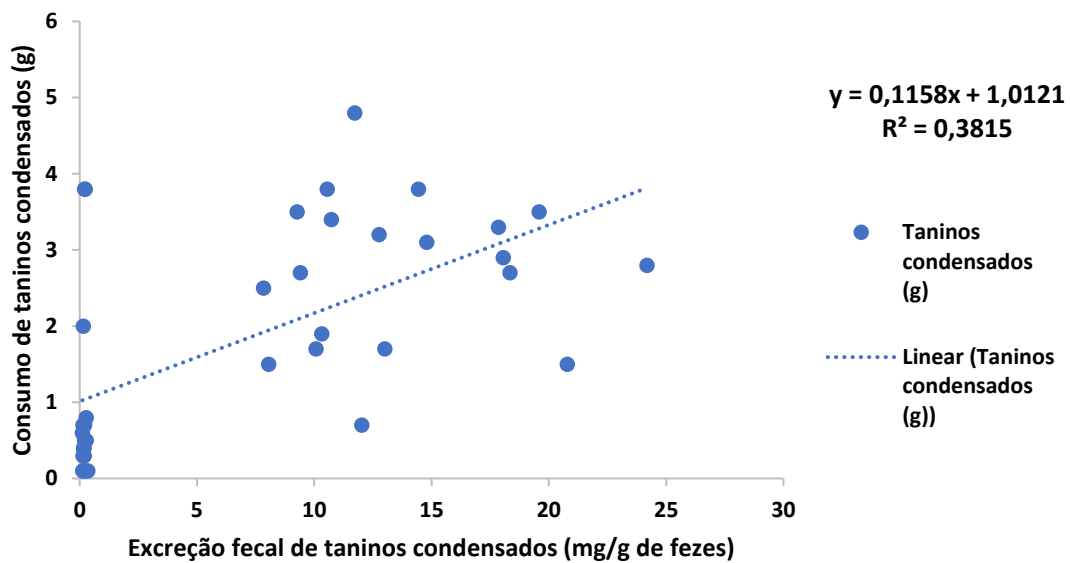


FIGURA 4 Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos condensados por ovinos em sistema de confinamento.

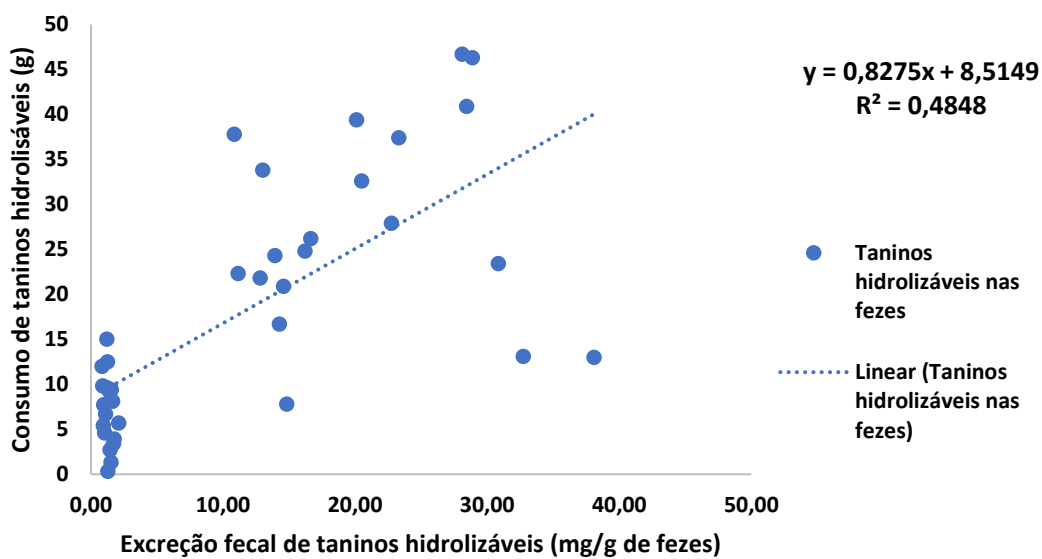


FIGURA 5 Representação gráfica da equação linear de consumo e excreção fecal de taninos hidrolizáveis por ovinos em sistema de confinamento.

DISCUSSÃO

Acredita-se que ainda não foram realizados estudos testando o uso dos taninos e tocoferóis nas fezes como estimadores do consumo dessas substâncias em ruminantes. A regressão linear encontrada nesse trabalho foi condizente com estudos em que se analisou algum composto nas fezes e na dieta. Diversos estudos (Boval, 1996; Azevedo, 2011; Peripolli et al., 2011) mostram que a quantidade de nitrogênio nas fezes, por exemplo, apresenta correlação positiva com o consumo de matéria orgânica. Entretanto os coeficientes de regressão verificados no presente estudo são menores. Em estudo realizado por Peripolli et al. (2011) chegou-se ao resultado de coeficiente de correlação de 0,71.

Pode-se considerar justificável que a equação de mensuração de consumo de alfa-tocoferol tenha sido menos precisa, já que esse é bastante absorvido e tem um grande potencial de ser modificado devido a importante ação antioxidante (Masuchi et al., 2008). Dentre todos os tocoferóis conhecidos, o alfa-tocoferol tem sido considerado o biologicamente mais ativo, inclusive no que diz respeito a sua atividade como antioxidante, sendo o principal antioxidante lipossolúvel nas membranas celulares (Olson, 1973). Uma vez ingerida, a vitamina E é absorvida no intestino delgado, incorporada a quilomícrons para a circulação linfática intestinal, chegando até o fígado via receptor específico para a apolipoproteína-E, localizado nas células parênquimas. Além disso, também pode ser armazenado no tecido adiposo e musculatura. Quanto menos absorvida é uma substância, mais precisa será a sua estimativa de consumo através da sua avaliação nas fezes (Pond et al., 1989). A absorção do alfa-tocoferol pode explicar o mais baixo coeficiente de determinação na regressão linear entre excreção e consumo dessa substância nesse experimento.

Por outro lado, observa-se por esse estudo que a absorção de alfa-tocopherol não apresenta um padrão pré-determinado, variando a sua concentração nas fezes, independente da quantidade ingerida. Conforme revisão realizada por Metre & Callan (2001), o alfa-tocopherol é muito pouco destruído no rúmen e a sua absorção apresenta variações conforme o processo digestivo de um lipídio. A eficiência de absorção dessa substância parece não ser alterada conforme o estágio fisiológico do animal (Frye et al. 1991), mas pode haver variações na absorção conforme o estado de saúde do animal. Animais com diarreia ou com parasitas gastrointestinais, por exemplo, podem reduzir a absorção do alfa-tocoferol (Herdt & Stowe, 1991). O presente estudo, com animais confinados, demonstra que há a necessidade de mais estudos para determinar essa variação na absorção uma vez que os animais eram bastante semelhantes e a absorção da vitamina E é essencial para os animais.

Potencialmente os taninos são moléculas que podem, através da sua concentração nas fezes, serem utilizados para estimar a sua ingestão, pois são polímeros de polifenóis com relativo elevado peso molecular e pouco degradados no trato gastrointestinal dos animais, principalmente no rúmen (Patria & Saxena, 2011). Esperava-se, então, que grande parte do tanino ingerido fosse recuperado nas fezes e que essa relação fosse aproximadamente linear. Os resultados mostram que nem todo tanino consumido é de fato eliminado nas fezes dos ovinos. Fato esse observado também por Bravo et al. (1992) que notou que os compostos fenólicos, nos quais os taninos se enquadram, foram parcialmente degradados no trato intestinal. Além disso, a estimativa através da regressão linear é ainda menos precisa quando se avalia os taninos condensados e hidrolisáveis separados dos taninos totais. Encontrou-se uma importante quantidade de tanino totais ingeridos que foram recuperados nas fezes, em torno de 69%. Esse dado mostra que os taninos totais têm potencial para serem usados como estimadores de consumo dessa

substância. Contudo, para usar o tanino nas fezes como estimador de consumo desse composto, deve-se levar em consideração que existe uma enorme variedade de moléculas (Mueller-Harvey et al., 2019) e possivelmente será importante caracterizar as moléculas de interesse. Portanto, há a necessidade de aumentar o número de estudos, principalmente relacionados ao metabolismo do tanino em ruminantes, incluindo diferentes alimentos e tipos de taninos.

A estimativa de consumo de fenóis totais através da quantidade desses fenóis eliminado nas fezes foi o modelo linear que apresentou o maior ajuste. Os compostos fenólicos de plantas são diversos em estrutura, mas são caracterizados por apresentarem anéis aromáticos hidroxilados. Muitos desses compostos são polimerizados em grandes moléculas como lignina e que são pouco absorvidos (Waghorn e McNabb, 2003). O resultado do presente estudo mostra, então, que há fenóis no alimento dado aos animais que são menos absorvidas que os taninos, contribuindo para que na regressão linear se tenha um coeficiente de determinação maior que quando se analisa os taninos isoladamente. Esse resultado leva a pensar que a estimativa de consumo de fenóis totais através da concentração desses compostos nas fezes pode ser mais precisa em pastagens tropicais que muitas vezes apresentam uma elevada quantidade de lignina.

CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou que há um importante potencial para estimar o consumo de fenóis e taninos totais através da concentração desses compostos nas fezes. Apesar da grande quantidade de alfa-tocoferol presente nas pastagens, ele demonstrou ser o composto com baixo potencial de ser utilizado para estimar o seu consumo através da sua concentração nas fezes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akaike, H., 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, in: B. N. Petrov, Csaki, B.F. (Eds.), Second International Symposium on Information Theory. Budapest, pp. 267–281.

Azevedo, e. B. Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual. 2011. 182 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

Bastineanetto, S.; Quirion, R. Natural extracts as possible protective agent of brain aging. *Neurobiology of Aging*, v. 23, p. 891-897, 2002.

BOVAL, M. et al. Evaluation of faecal indicators to predict digestibility and voluntary intake of *Dichanthium spp.* by cattle. *Annales de Zootechnie*, Versailles, v. 45, p. 121-134, 1996

Bravo, L, Saura-Calixto, F, Goni, I, 1992. Effects of dietary fibre and tannins from apple pulp on the composition of faeces in rats. *British Journal of Nutrition*, London, 67, 3, 463-473.

Buettner, GR (1993) A hierarquia dos radicais livres e antioxidantes: peroxidação lipídica, α -tocoferol e ascorbato. *Arquivos de Bioquímica e Biofísica*, 300, 535-543.

Cannas, A., Van Soest, P. J. & Pell, A. N. (2003). Use of animal and dietary information to predict rumen turnover. *Animal Feed Science and Technology*, 106(1–4):95-117.

Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Mantecón AR. 2004. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 191–202. DOI: 10.5424/sjar/2004022-73

González, F. & Silva, C. S. (2019). Minerais e vitaminas no metabolismo animal. p. 69-103.

Huang, Q, Liu, X, Zhao, G, Hu, T, Wang, Y, 2018. Potential and challenges of tannins as na alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition*, 4(2), 137–150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>

Kyriazakis, I, Athanasiadou, S, Giannenas, I, 2010. Nutritional strategies to control gastrointestinal parasitism in small ruminants. *Advances in Animal Biosciences*, 1(2), 390–391. DOI: <https://doi.org/10.1017/s204047001000018x>

Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., Herve, M., 2019. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R Packag. version 1.15-15.

Makkar, HPS, 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. Vienna: FAO/IAEA, 26.

Masuchi, M. H.; Celeghini, R. M. S.; Gonçalves, L. A. G.; Grimaldi, R. Quantificação de TBHQ (Terc Butil Hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. *Química Nova*, v.31, 2008.

Mueller-Harvey I, Bee G, Dohme-Meier F, Hoste H, Karonen M, Kölliker R, Lüscher A, Niderkorn V, Pellikaan WF, Salminen JP, Skøt L, Smith LMJ, Thamsborg SM, Totterdell PI, Wilkinson I, Williams AR, Azuhwi BN, Baert N, Brinkhaus AGR, Copani G, Desrues O, Drake C, Engström M, Ganas CF, Girard M, Huyen NY, Kempf K, Malisch C, Mora-Ortiz M, Quijada J, Ramsay A, Ropiak HM, Waghorn GC. 2019. Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: importance of structure, concentration and diet composition. *Crop Science* 59: 861–885.

Muir, JP, 2011. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. *Small Ruminant Research*, 98 (1–3), 115–120.

NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, (National Academy of Science, Washington, DC), 347

Olson, RE. Vitamin E and its relation to heart disease. *Circulation* 48: 179-184, 1973.

Osawa, CC, Felício, PE, Gonçalves, LAG, 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química nova*, 28, 655-663.

Peripolli, V, Prates, ÊR, Barcellos, JOJ, Neto, JB, 2011. Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 163(2-4), 170-176.

Piaggio, L. M. et al. Avaliação de cinzas insolúveis em ácidos indigestíveis e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., 2019. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.

Pond, KR, Ellis, WC, Matis, JH, Deswysen, AG, 1989. Passage of Chromium-Mordanted and Rare Earth-Labeled Fiber: Time of Dosing Kinetics 1. *Journal of Animal Science*, 67, 1020-1028.

Prates, J. A. M., Quaresma, M. A. G., Bessa, R. J. B., Fontes, C. M. G. A., & Alfaia, C. M. P. M. (2006). Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and β -carotene in Barrosã-PDO veal. *Food Chemistry*, 94(3), 469–477.

Sanguinet, E, 2019. Aspectos diferenciais do metabolismo das vitaminas nas diferentes espécies animais. *Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos*, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019. 18 p

Teixeira, M. L.; Soares, A. R.; Scolforo, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. *Ciência Prática de Lavras*, v. 14, n. 2, p. 229 - 232. 1990.

Terrill TH, Rowan AM, Douglas GB, Barry TN. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58: 321–329.

Tontini, JF, Silva, JA, Farias, MS, Poli, CEHC, 2021. Respostas na fisiologia da digestão ruminal ao uso de taninos na alimentação de ruminantes. *Pubvet* 15, 03, 1-14.

Waghorn, G.C.; McNabb, W.C. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.62, p.383-392, 2003.

Frye TM, Williams SN, Graham TW: Vitamin deficiencies of cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 7:217-275, 19.

Herdt TH, Stowe HD: Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 7:391-415, 19.

Patra, A.K. and Saxena, J., 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), pp.24-37.

ANEXO 1



UFRGS

UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 39705

Título: Ingestão voluntária de tanino condensado por ovinos

Vigência: 01/10/2020 à 31/07/2024

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

CESAR HENRIQUE ESPIRITO CANDAL POLI - coordenador desde 01/10/2020

Henrique Jonatha Tavares - desde 01/10/2020

MARINA TERRA BRAGA - desde 01/10/2020

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 36 cordeiros, 20 ovinos machos castrados e 16 ovinos fêmeas, provenientes de Estação Experimental Agronômica da UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 22 de Janeiro de 2021

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Coordenador da comissão de ética

CAPÍTULO III

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Métodos auxiliares e mais precisos se fazem cada vez mais necessários para a quantificação da ingestão alimentar de ovinos, principalmente no que se refere a criação a campo. A partir dessa quantificação será possível fornecer aos animais um volume de MS mais condizente com as reais necessidades dos animais, além de possibilitar uma estimativa real de consumo para avaliação da possível necessidade de suplementação.

Alguns métodos já foram desenvolvidos e atualmente são usados como ferramentas na quantificação de ingestão alimentar de ovinos, entretanto, espera-se que os resultados desse trabalho possam contribuir positivamente com a possibilidade da mensuração por compostos presentes nas plantas, sem a necessidade de acrescentar na alimentação produtos que possam funcionar como marcadores de consumo.

5. REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, E. B. **Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual**. 2011. 182 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- BARRY, T. N.; MANLEY, T. R. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 51, n. 3, p. 493–504, 1984.
- BOVAL, M. *et al.* Effect of nitrogen on intake and digestibility of a tropical grass grazed by creole heifers. **The Journal of Agricultural Science**, London, v. 138, n. 1, p. 73-84, 2002.
- BRANDES, D.; FREITAS, E. A. G. Taninos condensados-uma ferramenta para melhorar o desempenho de ruminantes. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 5, n. 3, p. 44-48, 1992.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Madrid: Acribia, 1991. 594 p.
- BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Amsterdam, v. 300, n. 2, p. 535-543, 1993.
- CANNAS, A.; VAN SOEST, P. J.; PELL, A. N. Use of animal and dietary information to predict rumen turnover. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 106, n. 1/4, p. 95-117, 2003.
- CARVALHO, P. C. F. *et al.* Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 151-170, 2007.
- COLOMBO, M. L. An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol – perspectives. **Molecules**, Basel, v. 15, p. 2103-2113, 2010.
- CORDÃO, M. A. *et al.* Taninos e seus efeitos na alimentação animal: revisão bibliográfica. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 32, p. 924-930, 2010.
- FERREIRA, M. A. *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009.
- FERRI, C. M. *et al.* Comparison of four techniques to estimate forage intake by rams grazing on a *Panicum coloratum* L. pasture. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 68, n. 3, p. 248-256, 2008.

- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, C. S. **Minerais e vitaminas no metabolismo animal**. Porto Alegre: Laboratório de Análises Clínicas, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019. 135 p.
- LAGES, A. S. C. **Suplementação nutricional de novilhos nelore com alfa-tocoferol (vitamina E) e seus efeitos na qualidade da carne**. 2004. 103 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas, 2004.
- LANCASTER, R. J. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. **Nature**, London, v. 163, p. 330-331, 1949.
- LEINMÜLLER, H. S.; KARL-HEINZ, M. Tannins in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**, Tübingen, v. 33, p. 9-62, 1991.
- LIPPKE, H. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 3, p. 869-872, 2002.
- LIU, S. M. *et al.* Phenotypic blood glutathione concentration and selenium supplementation interactions on meat colour stability and fatty acid concentrations in Merino lambs. **Meat Science**, Oxford, v. 87, p. 130-139, 2011.
- MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 73, n. 6, p. 897–913, 1995.
- MAYES, R. W.; DOVE, H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 13, p. 107-138, 2000.
- MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, p. 892-896, 2005.
- NAUMANN, H. D. *et al.* The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, n. 12, p. 929–949, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017001200009>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- PEARCE, K. L. *et al.* Plasma and tissue -tocopherol concentrations and meat colour stability in sheep grazing saltbush (*Atriplex* spp.). **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v. 56, p. 663-672, 2005.
- PENNING, P. D. Animal-based techniques for estimating herbage intake. *In*: PENNING, P. D. (ed.). **Herbage intake handbook**. 2nd ed. Reading: British Grassland Society, 2004. p. 1-10.
- PEREIRA, A. S. C. **Qualidade da carne de bovinos nelore suplementados (*Bos taurus indicus*) com vitamina E**. 2002. 100 f. Dissertação (Mestrado em

Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2002.

PERIPOLLI, V. *et al.* Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 163, n. 2/4, p.170-176, 2011.

PIAGGIO, L. M. *et al.* Avaliação de cinzas insolúveis em ácidos indigestíveis e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.

PIECHULLA, B.; HELDT, H-W. **Plant biochemistry**. London: Academic Press, 2010.

POLI, C. H. E. C. *et al.* The effect of secondary compounds of birds foot trefoil and red clover on dairy cow grazing preferences. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Adelaide, v. 58, p. 110–112, 1998.

POND, K. R. *et al.* Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, p. 1020-1028, 1989.

PONNAMPALAM, E. N. *et al.* Effect of diets containing n-3 fatty acids on muscle long-chain n-3 fatty acid content in lambs fed low- and medium-quality roughage diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 698–706, 2001.

QUIROZ, R. A. *et al.* Selection among nonlinear models for rate of passage studies in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 11, p. 2977-2986, 1988.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 5, p. 1516–1528, 1955. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2527/1995.7351516x>. Acesso em: 18 jun. 2022.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. *In*: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: SBZ, 2006. p. 323 – 352.

SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S. **Dietary tannins: consequences and remedies**. Boca Raton: CRC Press, 1990.

SANGUINET, E. **Aspectos diferenciais do metabolismo das vitaminas nas diferentes espécies animais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2019. 18 p. Apostila da Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos.

TONTINI, J. F. *et al.* Nutritional values and chemical composition of tropical pastures as potential sources of α -tocopherol and condensed tannin. **African Journal of Range & Forage Science**, Grahamstown, v. 36, n. 4, p. 181-189, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2989/10220119.2019.1679883>. Acesso em: 15 maio 2022.

6. APÊNDICES

Apêndice 1_ Normas para a submissão de trabalhos científicos no Periódico Tropical Animal Health and Production.

Instruções aos Autores

TIPOS DE ARTIGOS

Os trabalhos devem ser apresentados de preferência em fonte Times New Roman, espaço duplo, utilizando tamanho de papel A4. Os números de linha será inserida quando o pdf é gerado.

Artigos regulares: Os artigos devem ser o mais conciso possível e não deve normalmente exceder cerca de 4000 palavras ou cerca de 8 páginas do Jornal incluindo ilustrações e tabelas. Os artigos devem ser estruturado nas seguintes seções;

- (A) Resumo de cerca de 150-250 palavras, dando uma sinopse dos resultados apresentados e as conclusões alcançadas
- (B) Introdução indicando finalidade da obra
- (C) Materiais e Métodos
- (D) Os resultados
- (E) Discussão
- (F) Agradecimentos
- (G) Referências

SUBMISSÃO DO MANUSCRITO

Submissão Manuscrito

Apresentação de um manuscrito implica: que o trabalho descrito não tenha sido publicado antes, que ela não está sob consideração para publicação em qualquer outro lugar, para que a sua publicação foi aprovada por todos os co-autores, se houver, bem como pelas autoridades responsáveis - tácita ou explicitamente - no instituto onde o trabalho foi realizado. A editora não será considerado legalmente responsável deve haver nenhum pedido de indenização.

Submissão Online

Os autores devem submeter seus manuscritos online. Submissão eletrônica reduz substancialmente o processamento editorial e os tempos de revisão e reduz os tempos totais de publicação. Por favor, siga o link "Submeter online" à direita e fazer upload de todos os seus arquivos manuscrito seguindo as instruções dadas na tela.

FOLHA DE ROSTO

Título da página

O título da página deve incluir:

- O nome do (s) autor (s)
- A título conciso e informativo
- A afiliação (s) e endereço (s) autor (s)
- Os números do endereço de e-mail, telefone e fax do autor correspondente

Abstract

Por favor, forneça um resumo estruturado de 150 a 250 palavras.

Palavras-chave

Fornecer 4-6 expressões que podem ser utilizados para fins de indexação.

Por favor, note:

O resumo deve ser apresentado como um único parágrafo contínuo.

TEXTO

Formatação de Texto

Os trabalhos devem ser apresentados em Word.

- Use uma fonte normal, simples (por exemplo, 10 pontos Times Roman) para o texto.
- Use itálico para dar ênfase.
- Use a página de numeração automática de função para numerar as páginas.
- Não use funções de campo.
- Use tabulações ou outros comandos para travessões, e não a barra de espaço.
- Use a função de tabela, e não planilhas, fazer tabelas.
- Use o editor de equações ou MathType para equações.
- Salve o arquivo em formato docx (Word 2007 ou superior) ou no formato doc (versões mais antigas do Word).

Agradecimentos

Reconhecimentos de pessoas, subsídios, fundos, etc, devem ser colocadas em uma seção separada antes da lista de referências. Os nomes de organizações de financiamento devem ser escritos por extenso.

REFERÊNCIAS

- Todas as publicações citadas no texto devem ser apresentados na lista de referências. O transcrito devem ser cuidadosamente verificados para garantir que a grafia dos nomes e datas dos autores são exatamente o mesmo que na lista de referência.
- No texto, referem-se o nome do autor (sem iniciais) e ano de publicação, seguido, se necessário, por uma breve referência às páginas apropriadas. Exemplos: "Peters (1985) mostrou que. . . ." Isto está de acordo com os resultados obtidos depois (Kramer, 1984, pp 12 - 16) "
- Se for feita referência no texto a uma publicação por três ou mais autores, a abreviatura et al. devem ser utilizadas. Todos os nomes devem ser dadas na lista de referências.
- Referências citadas em conjunto no texto devem ser organizadas em ordem cronológica. A lista de referências devem ser organizadas em ordem alfabética pelo sobrenome dos autores (s) e cronologicamente pelo autor. Se um autor na lista é mencionado também com co-autores a seguinte ordem deve ser usado: publicações do autor único, organizado de acordo com as datas de publicação; publicações do mesmo autor, com co-autores. Publicações do mesmo autor (s) no mesmo ano, devem ser listados como 1986a, 1986b, etc
- Não abrevie os títulos dos periódicos citados na lista de referências.
- Títulos de referências deve ser dada na língua original, com exceção dos títulos de publicações em alfabetos não-latinos, o que deve ser transliterado, e uma notação como "(em russo)" ou "(em grego, com o Inglês abstract) ' adicionado.

VITA

Henrique Jonatha Tavares, filho de Lazaro Donizete Tavares e Neuza Moreira de Melo Tavares, nascido em 18 de dezembro de 1991 em Patos de Minas – MG. Em 2011 ingressou na faculdade de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Piauí, se transferindo em 2013 para a Universidade Federal de Uberlândia, onde concluiu a graduação em 2015. De 2016 a 2018 realizou residência multiprofissional em área de saúde, com ênfase em clínica de ruminantes, na Universidade Federal de Santa Maria. Em fevereiro de 2018 ingressou como professor das disciplinas de clínica e cirurgia de grandes animais e fisiologia veterinária no Centro Universitário Ritter dos Reis – UniRitter – Porto Alegre. Na mesma instituição lecionou também as disciplinas de produção de ruminantes e patologia veterinária. Em 2020 ingressou no mestrado no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, vinculado a Faculdade de Agronomia da UFRGS, sob orientação do professor César Henrique Espírito Candal Poli. Em 2021 ingressou também como docente no Centro Universitário CESUCA – Cachoeirinha ministrando as disciplinas de anatomia animal I e II, patologia geral, patologia animal, semiologia e laboratório clínico veterinário. Na mesma instituição participa ainda do NDE do curso de Medicina Veterinária, sendo também professor orientador da Liga Acadêmica de Animais Selvagens, Silvestres e Exóticos e comandando um projeto de pesquisa relacionado a impressão de órgãos em impressora 3D para o estudo da anatomia, e atua no preparo de peças dissecadas para aulas práticas bem como gerenciamento dos laboratórios de patologia veterinária e patologia clínica veterinária. Atualmente leciona ainda nas duas instituições de ensino superior e é responsável também pela orientação de 6 alunos de TCC, além de ministrar aulas em um curso de pós-graduação no IBM Vet em Caxias do sul - RS.