

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAROLINA MOREIRA ARÚJO

AMINOÁCIDOS PROTEGIDOS EM RAÇÃO PARA BORREGAS
MISTIÇAS

UBERLÂNDIA

2018

CAROLINA MOREIRA ARAÚJO

AMINOÁCIDOS PROTEGIDOS EM RAÇÃO PARA BORREGAS MISTIÇAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal).

Área de concentração: Nutrição de Ruminantes.

Orientador: Gilberto de Lima Macedo Junior

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A663a Araújo, Carolina Moreira, 1991
2018 Aminoácidos protegidos em ração para borregas mestiças / Carolina
Moreira Araújo. - 2018.
78 f. : il.

Orientador: Gilberto de Lima Macedo Junior.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.782>
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Ruminantes - Metabolismo - Teses. 3.
Lisina na nutrição animal - Teses. 4. Metionina - Teses. I. Macedo
Junior, Gilberto de Lima. II. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Ata da defesa de Dissertação de **MESTRADO ACADÊMICO** junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de mestrado acadêmico nº **PPGCV/006/2018**

Data: 18/04/2018

Discente: **Carolina Moreira Araújo** – Matrícula – 11612MEV005

Título da Dissertação: **AMINOÁCIDOS PROTEGIDOS EM RAÇÃO PARA BORREGAS MESTIÇAS**

Área de concentração: **PRODUÇÃO ANIMAL**

Linha de pesquisa: **PRODUÇÃO DE FORRAGENS, NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO ANIMAL**

Projeto de Pesquisa de vinculação: **APLICAÇÃO DE DIFERENTES FONTES NITROGENADAS E ENERGÉTICAS PARA OVINOS EM DIFERENTES CATEGORIAS**

No dia 18 de abril do ano de 2018 às 14:00 horas no Auditório do Bloco 4K - Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores(as)/Doutores(as): **Simone Pedro Silva** – UNIVERSIDADE DE UBERLÂNDIA; **Iran Borges** – UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS e **Gilberto de Lima Macedo Júnior** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. Gilberto de Lima Macedo Júnior concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para uma exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) **APROVADA**.

Esta defesa de dissertação de mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou os trabalhos às 17 horas e 30 minutos, lavrou esta ata que será assinada por todos os membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 18 de Abril de 2018.

Profa. Dra. Simone Pedro Silva
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Prof. Dr. Iran Borges
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Prof. Dr. Gilberto de Lima Macedo Júnior
ORIENTADOR

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial aos meus pais, Marta e Sérgio, pelo apoio, compreensão, carinho e amor incondicional.

Ao professor Gilberto de Lima Macedo Junior, pela orientação, confiança e oportunidades concedidas.

Aos membros do Grupo de Estudo e Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, que auxiliaram na condução dos experimentos, compartilhando conhecimentos.

Ao Jhone, que auxiliou e aconselhou durante a condução dos experimentos.

Aos meus amigos Karla, Adriana, Marco que estiveram presentes em todos os momentos durante esta etapa e foram fundamentais para sua conclusão.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Capim Branco.

Ao professor Flávio Moreno, por contribuir com as análises laboratoriais.

Aos membros da banca examinadora, Iran Borges e Simone Pedro, pelas considerações feitas.

À todos que de algum forma contribuíram para minha formação.

RESUMO

A utilização de aminoácidos protegidos da degradação ruminal tem como função atender a demanda de proteína metabolizável dos ruminantes. Objetivou-se avaliar a inclusão de lisina e metionina protegidas na dieta de borregas. Utilizou-se cinco borregas mestiças Dorper/Santa Inês, com média de oito meses de idade e 50kg, alocadas em gaiolas metabólicas e distribuídas em quadrado latino 5x5. Os tratamentos consistiram na inclusão de lisina e metionina protegidas nas doses de 0g, 8g, 16g, 24g e 32g. Foi realizado um ensaio de digestibilidade possibilitando a obtenção dos consumos de matéria seca e nutrientes e suas respectivas digestibilidades. Avaliou-se o consumo, excreção e balanço do nitrogênio. Foram analisados os metabólitos proteicos, energéticos, enzimas hepáticas e minerais e estudo do comportamento ingestivo. Os consumos de matéria seca, proteína bruta, nutrientes digestíveis totais e fibra em detergente neutro aumentaram com a inclusão dos aminoácidos. O consumo de nitrogênio foi elevado em todos os tratamentos, aumentando sua excreção urinária. O comportamento ingestivo não foi afetado. As concentrações séricas de proteínas totais, ureia, frutamina e gama glutamiltransferase foram elevadas para a espécie, enquanto o colesterol e lipoproteínas foram reduzidos. A inclusão de lisina e metionina até 32 g aumentou os consumos de MS e nutrientes, assim como a excreção de N, causando possíveis perdas energéticas. O metabolismo foi alterado sem causar danos para a saúde dos animais.

Palavras-chave: Lisina. Metionina. *Ovis Aries*. Proteína não degradável no rumen.

ABSTRACT

The use of amino acids protected from ruminal degradation is to meet the demand for metabolizable protein of ruminants. The objective of this study was to evaluate the inclusion of protected lysine and methionine in the diet of lambs. Five Dorper/Santa Inês crossbred lambs, averaging eight months of age and 50kg, were used in metabolic cages and distributed in a 5x5 latin square. The treatments consisted in the inclusion of lysine and methionine protected in doses of 0g, 8g, 16g, 24g and 32g. A digestibility test was carried out to obtain the dry matter and nutrient intakes and their digestibility. The consumption, excretion and nitrogen balance were evaluated. Protein, energy metabolites, liver and mineral enzymes and ingestion behavior were analyzed. Consumption of dry matter, crude protein, total digestible nutrients and neutral detergent fiber increased with the inclusion of amino acids. Nitrogen consumption was high in all treatments, increasing their urinary excretion. Ingestive behavior was not affected. Serum concentrations of total proteins, urea, fructosamine and gamma glutamyltransferase were high for the species, while cholesterol and lipoproteins were reduced. The inclusion of lysine and methionine up to 32 g increased MS intake and nutrients, as well as N excretion, causing possible energy losses. The metabolism was altered without causing damage to the health of the animals.

Keywords: Lysine. Methionine. *Ovis Aries*. Rumen undegradable protein.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Composição centesimal e bromatológica (%) do concentrado e silagem de milho.

Tabela 2 - Especificações de qualidade do MicroPEARLS LM[®].

Tabela 3 - Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em ao peso metabólico (CMS PM) e em relação com peso corporal (CMS PC) e digestibilidade de matéria seca por borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Tabela 4 - Consumos de proteína bruta (CPB), nutriente digestível total (CNDT), fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (CFDA), hemicelulose (CHEM), expressos em kg/dia/animal, digestibilidades da proteína bruta (DGPB) e da fibra em detergente ácido (DFDA), expressos em porcentagem, por borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Tabela 5 - Nitrogênio ingerido (N ingerido), nitrogênio fecal (N fecal), nitrogênio urinário (N urinário), balanço de nitrogênio (BN) e relação entre nitrogênio retido e ingerido (NR/NI) em função aos tratamentos. Valores expressos em g/dia/animal, exceto (NR/NI).

Tabela 6 - Consumo de água no balde (CH₂O) e consumo de água total (CH₂O total) em litros, consumo de água em relação ao consumo de matéria seca (CH₂O/CMS) litros/kg, volume de urina (VU) em litros, densidade de urina (DU) mg/dL, peso das fezes na matéria natural (PFMN) e na matéria seca (PFMS) em gramas e matéria seca fecal (%) e escore fecal (EF) de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Tabela 7 - Efeito da utilização de diferentes níveis de aminoácidos protegidos sobre o comportamento ingestivo (minutos/dia e porcentagem do dia) de borregas durante 24 horas.

Tabela 8 - Eficiências de ingestão, ruminação e mastigação de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Composição centesimal e bromatológica (%) do concentrado e silagem de milho.

Tabela 2 - Especificações de qualidade do MicroPEARLS LM®.

Tabela 3 - Consumo de matéria seca (CMS), e em relação ao peso metabólico (CMS PM), consumo de proteína bruta (CPB), digestibilidade da matéria seca (DMS) e digestibilidade da proteína bruta (DGPB), de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Tabela 4 - Nitrogênio ingerido (N ingerido), nitrogênio fecal (N fecal), nitrogênio urinário (N urinário), balanço de nitrogênio (BN) e relação entre nitrogênio retido e ingerido (NR/NI) em função aos tratamentos. Valores expressos em g dia animal, exceto (NR NI).

Tabela 5 - Consumo de água no balde (CH₂O) e consumo de água total (CH₂O total) em litros, consumo de água em relação ao consumo de matéria seca (CH₂O CMS) litros kg⁻¹, e volume de urina (VU) em litros, de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Tabela 6 - Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo proteico.

Tabela 7 - Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo energético.

Tabela 8 - Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre a curva glicêmica.

Tabela 9 - Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo enzimático e mineral.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAE – Aminoácidos Essenciais

AAs – Aminoácidos

ALB – Albumina

ALT – Alanina Aminotransferase

AST – Aspartato Aminotransferase

AU – Ácido Úrico

BN – Balanço de Nitrogênio

CFDA – Consumo de Fibra em Detergente Ácido

CFDN – Consumo de Fibra em Detergente Neutro

CH₂O – Consumo de água

CHEMI – Consumo de Hemicelulose

CMS – Consumo de Matéria Seca

CMS/PC - Consumo de Matéria Seca em Relação ao Peso Corporal

CMS/PM – Consumo de Matéria Seca em Relação ao Peso Metabólico

CN – Consumo de Nutrientes

CNDT – Consumo de Nutrientes Digestíveis Totais

COL – Colesterol

CPB – Consumo de Proteína Bruta

CREAT – Creatinina

DA – Digestibilidade Aparente

DFDN – Digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro

DGPB – Digestibilidade da Proteína Bruta

DMS – Digestibilidade da Matéria Seca

DSD – Densidade de Urina

EE – Extrato Etéreo

EF – Escore Fecal

FDA – Fibra em Detergente Ácido
FDN – Fibra em Detergente Neutro
FRUT – Frutosamina
GGT – Gama Glutamiltransferase
GLOB – Globulina
HDL – Lipoproteínas de alta densidade
ING – Ingestão
LDL – Lipoproteínas de baixa densidade
Mg - Magnésio
MS – Matéria Seca
MSF – Matéria Seca Fecal
N – Nitrogênio
NDT – Nutrientes Digestíveis Totais
NI – Nitrogênio Ingerido
NH₃ – Amônia
NIDA – Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido
NNP – Nitrogênio não proteico
NR – Nitrogênio Retido
P – Fósforo
PB – Proteína Bruta
PDR – Proteína Degradável no Rumen
PFMN – Peso das Fezes na Matéria Natural
PFMS – Peso das Fezes na Matéria Seca
PNDR – Proteína Não Degradável no Rumen
PT – Proteína total
RUM – Ruminação
TRIGL – Triglicerídeos
VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade
VU – Volume de urina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	11
1. Introdução	11
2. OBJETIVO GERAL.....	12
3. HIPÓTESE.....	12
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
4.1. Metabolismo ruminal	13
4.2. Proteína e compostos nitrogenados na alimentação de ruminantes.....	14
4.3. Aminoácidos protegidos.....	18
4.4. Consumo, digestibilidade e metabolismo como ferramenta determinante dos parâmetros nutricionais e bioquímicos	20
REFERENCIAS.....	21
CAPÍTULO 2 – EFEITO DA INCLUSÃO DE LISINA E METIONINA PROTEGIDAS SOBRE O DESEMPENHO NUTRICIONAL E COMPORTAMENTO INGESTIVO DE BORREGAS	24
Resumo	24
Abstract	25
Introdução	26
Material e métodos	27
Resultados e discussão.....	32
CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS NUTRICIONAIS E PERFIL METABÓLICO DE BORREGAS SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE LISINA E METIONINA PROTEGIDAS DA DEGRADAÇÃO RUMINAL.....	47
Resumo	47
Abstract	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	50
Resultados e discussão.....	55
CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS.....	70
ANEXO A – Matriz nutricional do MicroPEARLS ^{LM}	74

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

Além do genótipo e manejo, a alimentação é o principal fator responsável pelo aumento do desempenho animal, e conseqüentemente, da produtividade e lucro nos sistemas de criação animal. Segundo Restle et al., (1999), alimentação pode representar 40% do custo total em um sistema de produção. Investimentos relacionados à dieta e os nutrientes que a compõem podem contribuir para o aumento no desempenho dos animais no atual cenário brasileiro, contribuindo para obtenção de animais mais precoces e com maior aceitação por parte dos consumidores.

Dentre os nutrientes presentes na dieta de ruminantes, a proteína é considerada um dos mais caros, e é requerida para a formação de tecidos, leite, enzimas e hormônios (LEHNINGER, et al., 1999). Por isso, utilizá-la de forma adequada é fundamental para que possa maximizar o crescimento microbiano ruminal e seu aproveitamento.

As exigências de proteína dos ruminantes são atendidas pelos aminoácidos absorvidos no intestino delgado, denominadas de exigências de proteína metabolizável (NRC, 1985).

Lisina e metionina são os aminoácidos mais limitantes para a produção de ruminantes, pois não estão presentes em quantidades satisfatórias nos ingredientes que compõem as dietas (STIEVEN et al. 2011), sendo necessário sua inclusão na forma sintética.

Os micro-organismos presentes no rúmen, retículo e omaso degradam parcialmente os ingredientes presentes na dieta e os reutilizam para seu crescimento. Desta forma, os nutrientes disponíveis para absorção podem diferir daqueles fornecidos na dieta, o que não possibilita a simples adição de um aminoácido na dieta ser opção eficiente para aumentar o fluxo de aminoácidos para o duodeno (LAPIERRE et al., 2006). Rulquin e Verité (1993) observaram melhores

resultados em seus estudos com infusão abomasal quando a lisina e metionina eram fornecidas conjuntamente, principalmente em dietas a base de milho.

Desta forma, uma alternativa para atender demanda de aminoácidos no intestino delgado está baseada no balanceamento com os aminoácidos protegidos da degradação ruminal (ALVES, 2004).

2. OBJETIVO GERAL

Objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes níveis de lisina e metionina protegidas da degradação ruminal sobre o consumo, digestibilidade, comportamento ingestivo e bioquímica do sangue em borregas em fase de crescimento.

3. HIPÓTESE

A inclusão de lisina e metionina protegidas da degradação ruminal melhora os parâmetros nutricionais, metabólicos e comportamento ingestivo de borregas em fase de crescimento.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Metabolismo ruminal

O ambiente ruminal é extremamente complexo e dinâmico. O rúmen apresenta características específicas como, ambiente anaeróbico, temperatura que varia entre 39 e 42°C e pH entre 6,0 e 7,0, ambiente este propício para o desenvolvimento de bactérias, protozoários e fungos. As bactérias constituem a maior parte da biomassa microbiana ruminal, variando de 60 a 90% (KOZLOSKI, 2002) e são consideradas as mais importantes nutricionalmente, pois são mais ativas.

Os alimentos ingeridos pelos ruminantes são submetidos à fermentação ruminal e posteriormente à digestão gástrica e intestinal. A proteína presente na dieta é degradada pelos micro-organismos, resultando em peptídeos, aminoácidos livres e amônia que posteriormente serão utilizados na produção de proteína microbiana (SANTOS e PREDROSO, 2011) e irão compor a principal fonte de aminoácidos que chega ao intestino delgado.

A exigência por aminoácidos nos ruminantes é suprida pela síntese de proteína microbiana no rúmen, pela proteína não degradada no rúmen (digerida no intestino) e pela proteína endógena (VALADARES FILHO, 1997). Atender as exigências de aminoácidos em ruminantes não é tão simples como nos não ruminantes. Ambos precisam de quantidades suficientes de aminoácidos essenciais para atender às suas exigências de manutenção e produção, entretanto, nos ruminantes os alimentos ingeridos sofrem transformações pelos micro-organismos ruminais durante o processo de fermentação, o que dificulta o conhecimento dos aminoácidos que chegarão ao duodeno, podendo ser de origem da proteína microbiana, dietética e/ou endógena (RODRIGUEZ, 1996). Moscardini et al. (1998) enfatizaram que, na nutrição proteica de ruminantes é fundamental conhecer a síntese de proteína microbiana ruminal e a digestibilidade dos aminoácidos no pós-rúmen.

Para compreender a cinética de degradação da proteína no rúmen alguns modelos foram criados com o objetivo de dividir a proteína em frações de acordo com sua taxa de degradação. O CNCPS, modelo criado por Sniffen et al. (1992) divide a proteína presente no alimento em cinco frações distintas: A, B₁, B₂, B₃ e C. De acordo com este modelo a fração A (nitrogênio não-proteico) é a parte da proteína instantaneamente solubilizada, considerando sua taxa de degradação infinita. A fração C, é considerada a parte não degradável, ou seja, possui uma taxa de degradação zero. É também conhecida como nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA). Já a fração B é a proteína verdadeira potencialmente degradável no rúmen, e é subdividida em função de suas diferentes taxas de degradação. B₁ é a fração solúvel em tampão de borato-fosfato, mas precipitada em TCA. A fração B₃ é resultado da diferença entre a fração recuperada com a FDN e FDA. Já a fração B₂ é calculada por diferença entre o valor da proteína total do alimento e a soma das demais frações (SANTOS e PEDROSO, 2011).

4.2. Proteína e compostos nitrogenados na alimentação de ruminantes

A palavra proteína deriva do grego “*prótos*” que significa “a primeira” ou a “mais importante”. São as macromoléculas mais abundantes nas células vivas e apresentam diversas formas e tamanhos, além de uma vasta diversidade de funções biológicas, como componentes estruturais, funções enzimáticas e hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas (NELSON, 2002).

A proteína bruta (PB) contida nos alimentos consumidos por ruminantes, calculada como $N \times 6,25$ (assume teor de N na proteína de 16%), contém N na forma proteica (AA unidos por meio de ligações peptídicas que formam uma molécula de proteína) e N na forma não proteica (NNP), representado por AA livres, peptídeos, ácidos nucleicos, amidas, aminas e amônia (SANTOS, 2017).

Os aminoácidos encontrados nas proteínas são formados por um grupo carboxila e um grupo amino, e são ligados ao mesmo átomo de carbono. O que difere um aminoácido do outro é sua cadeia lateral, também chamada de “grupo R”.

O grupo R varia de tamanho, estrutura e carga elétrica, influenciando na sua solubilidade em água (NELSON, 2002).

São encontrados na natureza aproximadamente 300 aminoácidos distintos, e deste total apenas 20 estão presentes nas proteínas de micro-organismos, plantas e animais (MELO, 2011). Destes 20 aminoácidos, dez são considerados como “essenciais” ou “indispensáveis” (NRC, 2007). Eles recebem este nome porque não são sintetizados pelo organismo dos animais, ou são, porém em quantidades insuficientes para atender suas exigências e por isso, devem ser fornecidos nas dietas. São eles: histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, arginina, fenilalanina, triptofano, treonina e valina (STIEVEN et al., 2011).

Já os aminoácidos “não essenciais”, são sintetizados pelos tecidos a partir de fontes de carbono e grupos amino de outros aminoácidos ou de compostos mais simples em quantidades que satisfazem as exigências do metabolismo, e, portanto não necessitam constar nas dietas (ALVES, 2004). Dentre os aminoácidos essenciais, lisina e metionina são considerados os mais limitantes para a produção de ruminantes (MELO, 2011), pois os ingredientes das dietas não são capazes de suprir as exigências dos animais (STIEVEN et al., 2011). Storm e Orskov (1984) trabalhando com carneiros recebendo infusões gástricas, concluíram que a lisina e metionina foram responsáveis por limitar a retenção de nitrogênio quando a proteína microbiana foi a única fonte de proteína.

Os aminoácidos são obtidos através da degradação das moléculas proteicas. A degradação se inicia através de sua hidrólise em oligopeptídeos (pequeno grupo de aminoácidos unidos), nos pontos contendo serina, cisteína ou aspartato. Os oligopeptídeos são hidrolisados liberando dipeptídeos (duas moléculas de aminoácidos unidas) que também sofrem hidrólise liberando os aminoácidos. Os aminoácidos e peptídeos formados são captados pelas células bacterianas do rúmen. Os peptídeos que entram na célula são hidrolisados no citoplasma liberando aminoácidos, os quais são metabolizados. Já os aminoácidos que entram na célula são incorporados em proteínas ou desaminados e metabolizados a ácidos graxos voláteis (NELSON, 2002), sendo esta a principal fonte energética para os ruminantes.

Além da quantidade, a qualidade da proteína presente na dieta podem alterar os mecanismos de consumo pelos ruminantes. Dietas com teores de proteína abaixo de 7% pode reduzir a digestão da fibra, o que causa queda no consumo de alimento.

Da mesma forma, níveis elevados de proteína na dieta podem causar toxidez pelo excesso de amônia no rúmen, o que também irá reduzir o consumo (SILVA, 2001).

Os atuais sistemas nutricionais utilizam modelos de proteína metabolizável para a determinação das exigências nutricionais, e não mais utilizam os modelos de proteína bruta, como feito antigamente. Os atuais modelos permitem adequar as exigências da população microbiana em compostos nitrogenados e permitem avanços no conhecimento das exigências de aminoácidos e no balanceamento do perfil de aminoácidos essenciais da proteína metabolizável (SANTOS e PEDROSO, 2017).

A proteína bruta contida nos alimentos dos ruminantes é formada por duas frações distintas: proteína degradável no rúmen (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR), sendo que a primeira dá origem a peptídeos, aminoácidos e amônia, e é utilizada pelos micro-organismos ruminas para a síntese de proteína microbiana no rúmen. Já a PNDR passa pelo rúmen sem sofrer ação pelos micro-organismos e será utilizada diretamente pelo animal no intestino delgado, onde dará origem à aminoácidos e peptídeos (SANTOS, 2011). O suprimento adequado destas frações é fundamental para a otimização da produção de proteína microbiana (principal fonte de proteína metabolizável), e complementá-la com PNDR, suprimindo assim, a exigência de proteína metabolizável dos ruminantes.

Em sistemas de produção que levam em consideração a exigência de proteína metabolizável para ajustes no fornecimento de proteína bruta nas dietas, a precisão nas informações referentes às frações degradáveis e não degradáveis no rúmen são de suma importância. A proteína microbiana é considerada de excelente qualidade no que se refere ao seu perfil de aminoácidos e a sua digestibilidade intestinal, que pode variar de 80 a 85% (NRC, 2000). Seu perfil aminoacídico é semelhante ao da proteína dos tecidos do corpo do animal e da proteína encontrada no leite (SCHWAB, 1996).

As exigências de proteína dos animais ruminantes são atendidas pelos aminoácidos absorvidos no intestino delgado, denominadas de exigências de proteína metabolizável. A proteína que chega ao intestino delgado consiste da fração microbiana, da proteína não degradada no rúmen e da proteína endógena (PEREIRA et al., 2005). O teor e a proporção entre os AAs essenciais na proteína metabolizável determinam a eficiência de utilização dela pelo ruminante (MELO, 2011). De acordo com Santos (2011), a proteína microbiana é a principal fonte de

proteína metabolizável para os ruminantes, podendo representar de 50% a 90% dos AAs que chegam no intestino delgado. Além disso, a proteína microbiana é altamente digestível e possui perfil de aminoácidos semelhante à proteína da carne e leite. A PNDR é a segunda maior fonte de AAs no intestino delgado, seguida pela proteína endógena.

A síntese de proteína microbiana no rúmen é dependente de dois principais elementos: o nitrogênio e hidratos de carbono. As bactérias são capazes de utilizar a maioria dos compostos amoníacos liberados no rúmen após a deaminação dos aminoácidos e hidrólise do NNP (NRC, 2001). Entretanto, em dietas com elevados níveis de PDR ou escassez de energética, a produção de amônia pode exceder sua captura, ocasionando a redução da síntese de proteína microbiana.

De acordo com Stieven et al., (2011) a proporção de lisina e metionina na proteína microbiana normalmente atende as exigências dos animais. Há maior preocupação do perfil de aminoácidos da proteína não degradável no rúmen (PNDR), principalmente para animais de alta exigência e alta produção.

Além dos fatores que influenciam na exigência de aminoácidos (idade, sexo, taxa de crescimento, raças, entre outros), a proteína fornecida na dieta é intensamente modificada pelos micro-organismos e ambiente ruminais. Neste ambiente ocorre produção de amônia (NH₃), captura dos substratos pelos micro-organismos, síntese de proteína microbiana a partir dos compostos nitrogenados, alterando o perfil de aminoácidos da dieta (STIEVEN et al., 2011). Os micro-organismos presentes no rúmen, retículo e omaso degradam parcialmente os ingredientes presentes na dieta e os reutilizam para seu crescimento. Desta forma, os nutrientes disponíveis para absorção podem diferir daqueles fornecidos na dieta, o que não possibilita a simples adição de um aminoácido na dieta ser opção eficiente para aumentar o fluxo de aminoácidos para o duodeno (LAPIERRE et al., 2006). Desta forma, uma alternativa para atender a demanda de aminoácidos no intestino delgado está baseada no balanceamento com os aminoácidos protegidos da degradação ruminal (ALVES, 2004).

Santos (2011) explica que a digestão da proteína que deixa o rúmen tem início no abomaso, com a ação da pepsina, que age sobre as moléculas de proteínas produzindo peptídeos, esta ação se estende até o duodeno devido a lenta neutralização da digesta. No jejuno médio ocorre a maior parte da digestão, onde as enzimas pancreáticas, tripsina, quimiotripsina e carboxipetidases apresentam

atividade máxima. Neste momento, a tripsina e quimiotripsina agem sobre as proteínas e peptídeos produzindo dipeptídeos e polipeptídios; as carboxipeptidases, por sua vez, agem sobre os polipeptídeos e produzem aminoácidos livres e pequenos peptídeos. No íleo médio ocorre a ação das aminopeptidases, que agem sobre os polipeptídeos, produzindo também AA livres e pequenos peptídeos. Há também a ação das dipeptidases que são responsáveis por transformar os dipeptídeos em AA livre. Estas duas ultimas enzimas são secretadas pelo intestino.

A ureia é a fonte de NNP mais comumente utilizada. Russel et al. (1992) destaca que ela é prontamente utilizada para a síntese de proteína microbiana no ambiente ruminal. Entretanto, sua utilização é limitada devido a sua solubilidade total no rúmen e baixa aceitação por parte dos animais, devido a sua baixa palatabilidade e toxidez causada quando utilizada em níveis elevados. Segundo Ezequiel et al., (2001) o excesso de nitrogênio amoniacal formado no rúmen causa a toxidez e pode ser considerado também um desperdício, visto que os organismos animal requer energia para eliminar esse excesso do sangue.

4.3. Aminoácidos protegidos

A suplementação de dietas para ruminantes com aminoácidos livres não é eficaz, uma vez que, são rapidamente degradados no rúmen e não chegam quantidades suficientes ao intestino delgado para suprir as exigências de proteína metabolizável. Kung e Rode (1996) sugerem que uma alteração química ou uma proteção física deve ser aplicada aos aminoácidos para protegê-los da degradação ruminal, aumentando sua disponibilidade no intestino delgado.

Após a proibição do uso de alimentos de origem animal para ruminantes no Brasil, a proteína microbiana passou a ser a fonte que melhor atende os requerimentos de aminoácidos dos animais, contendo maior proporção de lisina e metionina (VERBIC, 2002). De acordo com Stieven et al., (2011) a proporção de lisina e metionina na proteína microbiana normalmente atende as exigências dos animais. Há maior preocupação do perfil de aminoácidos da proteína não degradável no rúmen (PNDR), principalmente para animais de alta exigência e alta produção.

No início da década de 70, ocorreram os primeiros estudos que evidenciaram que o perfil de metionina absorvida no intestino delgado não era adequado para os ruminantes. Esses estudos foram realizados através de perfusão intravenosa do abomaso e intestino, e indicaram que os aminoácidos sulfurados eram os primeiros limitantes para o crescimento de lã e ganho de peso em ovinos. Logo depois, descobriu-se que a lisina era o segundo aminoácidos limitante para o crescimento de cordeiros, bovinos e produção de vacas leiteiras, iniciando-se assim, o interesse em proteger os aminoácidos da degradação ruminal (CHAPULA, 1975).

De acordo com Santos (2011) quando a proteína metabolizável é de alta qualidade, ou seja, com um perfil adequado de aminoácidos essenciais, o teor de proteína bruta que compõem a ração pode ser reduzido. Ao mesmo tempo, a eficiência de utilização da proteína metabolizável é otimizada e a excreção de ureia e compostos nitrogenados é reduzida, e consequentemente reduz os gastos energéticos envolvidos neste processo, desta forma o desempenho animal é maximizado.

Diversos métodos foram desenvolvidos para proteger os aminoácidos da degradação ruminal. O método deve garantir proteção ruminal, mas também, garantir que o produto seja digerido no intestino delgado. De acordo com o NRC (2001) os métodos mais utilizados são: o polimento de ácidos graxos sensíveis ao pH; análogos de metionina de baixa degradação ruminal; revestimento ou matrizes contendo ácidos graxos saturados e minerais.

O balanceamento de lisina e metionina podem aumentar a produção e teor de gordura do leite, maior produção de proteína do leite, melhora a saúde e eficiência reprodutiva (SCHWAB et al., 2007; SCHWAB, 2010).

O MicroPEARLS® é a uma fonte de aminoácidos encapsulados. Ele é submetido ao “*Spray-Freezing*” que é um processo de encapsulamento capaz de incorporar a matriz do nutriente junto ao agente de proteção, proporcionando maior proteção. A primeira fase do processo “*Spray-Freezing*” consiste no aquecimento de uma matriz de revestimento seguido pela mistura de ingredientes ativos em conjunto com a mesma matriz. Para completar esse processo é utilizado o nitrogênio líquido (-60°C) para resfriar a câmara onde a mistura é pulverizada. A temperatura extremamente baixa é fundamental para incorporar ativamente os nutrientes junto a matriz de revestimento, formando pequenos grânulos congelados. O rápido resfriamento permite a cristalização homogênea de toda estrutura da mistura

matriz/nutriente, criando um produto íntegro e resistente.

4.4. Consumo, digestibilidade e metabolismo como ferramenta determinante dos parâmetros nutricionais e bioquímicos

A ingestão de matéria seca é o fator que mais influencia o desempenho animal, pois determina o ingresso de nutrientes, principalmente energia e proteína, indispensáveis ao atendimento das exigências de manutenção e produção animal. O consumo voluntário de alimento é responsável por 70% da variação no potencial de produção animal, enquanto os 30% restantes ficam por conta da digestibilidade e eficiência de utilização dos alimentos (MERTENS, 1994).

O consumo voluntário é a quantidade de alimento ingerida por um animal durante determinado período em que tem livre acesso ao alimento (FORBES, 1995). É uma das variáveis mais importantes que afetam o desempenho animal, e pode ser influenciada por características do animal, alimento, e condições de alimentação (MERTENS, 1994). A quantidade de nutrientes absorvidos vai depender da interação entre consumo e digestibilidade (BERCHIELLI et al., (2006).

A avaliação bioquímica é um meio de detecção dos possíveis efeitos nutricionais diretamente no organismo do animal. Em alguns casos, após serem submetidos a dietas alternativas os animais podem apresentar distúrbios metabólicos, os quais seriam dificilmente detectados com exatidão, sendo possível essa detecção através das análises bioquímicas (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

Quando a dieta possui quantidade excessiva de nutrientes ultrapassando as necessidades produtivas dos animais, tal excesso pode causar alterações no metabolismo, visto que distúrbios metabólicos ocorrem devido ao desbalanço entre o ingresso de nutrientes e sua metabolização e excreção, causando queda na eficiência produtiva (WITTWER, 2000).

O estudo destas variáveis em conjunto permite corrigir possíveis erros causados pela inclusão de novos alimentos na dieta dos animais, diminuindo assim os riscos de queda na lucratividade da produção.

REFERENCIAS

- ALVES, D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n. 3, p. 265-271, 2004.
- BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. FAPESP: Jaboticabal, SP, p.397-421, 2006.
- CHALUPA, W. Rúmen bypass and protection of proteins and amino acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1198-1218, 1975.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(75\)84697-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(75)84697-2)
- EZEQUIEL, M.B.; MATARAZZO, S.V.; SALMAN, A.K.D; MARTINS JUNIOR, A.P.; SOARES, W.V.B.;SEIXAS, J.R.C. Digestibilidade Aparente da Energia e da Fibra de Dietas para Ovinos Contendo Uréia, Amiréia ou Farelo de Algodão. **Rev. bras. zootec.** V.30, n.1, p.231-235, 2001. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000100032>
- FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P.; TEDESCHI, L. O.; VAN AMBURGH, M. E.; CHASE, L. E.; PELL, A. N.; OVERTON, T. R.; RUSSELL, J. B. **Sistema de carboidratos e proteínas “líquidos” para avaliação da nutrição de rebanhos e excreção de nutrientes** (CNCPS, versão 5.0): documentação do Modelo CNCPS./ Danny Gene Fox... [et al.]; tradução de Fernando César Ferraz Lopes...[et al] - Juiz de fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. 202p.
- FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 1.ed. Leeds: CAB International, 1995. 532p.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. **Anais...** 29º Congresso de Medicina Veterinária: Gramado, Brail, 2002.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 140p.
- KUNG, L.; RODE, L. Amino acid metabolism in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v.59, n.1, p.167-172, 1996. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00897-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00897-7)
- LAPIERRE, H.; PACHECO, D.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D.R.; SCHWAB, D.R.; DUBREUIL, P.; HOLTROP, G.; LOBLEY, G.E. What is the supply of amino acids for a dairy cow?. **Journal of Dairy Sci.**, v.89, p.1–14, 2006.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72359-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72359-1)

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. Tradução de W. R. N. Lodi, e A. A. Simoes. São Paulo: Sarvier, Terceira Edição, 1999. Tradução de: Principles of biochemistry.

MELO, A. H. F. **Suplementação com análogo de metionina HMB (2-hidroxi-4-(metil) ácido butâmico) em dieta de bovinos da raça Nelore terminados em confinamento**. Goiânia, 2011. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G. (Ed.). Forage quality, evaluation, and utilization. Madison: American Society of Agronomy, P. 450-493, 1994.

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T.C.; LUIJMES, P.H.; McBRIDE, B.W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undergradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from Cornell Net Carbohydrate and protein system. **Journal of Dairy Science**, Champignon, v.81, n.9, p.2421-2429, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1985. 138p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. Washington, DC: The National Academies Press, 2000. 248p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. 2007, 362p.

NELSON, D. L.; COX, M. **Princípios de Bioquímica**. 3ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

PEREIRA, E.S.; ARRUDA, A.M.V.; MIRANDA, L.F.; MIZUBUTI, I.Y.; PINTO, A.P. Importância da inter-relação carboidratos e proteína em dietas de ruminantes. *Seminário: Ciências Agrárias*, Londrina, v.26, n.1, p.125-134, 2005. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2005v26n1p125>

RESTLE, J.; ROSO, C.; SOARES, A.B. Produção animal e retorno econômico em misturas de gramíneas anuais de estação fria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.235-243, 1999. <https://doi.org/10.1590/S1516-35981999000200003>

RODRIGUEZ, N.M. Exigências em aminoácidos para vacas de alta produção. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 1996. p.102-37.

RULQUIN, H.; VÉRITÉ, R. Amino acid nutrition of dairy cows: productive effects and animal requirements. In: GARNSWORTHY, P.C., COLE, D.J.A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1993. p.55-77.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. 1. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 70, n. 11, p. 3551- 3561, 1992.

SANTOS, F. A.P.; MACEDO, F.L.; CHAGAS, L.J. Aplicação do conceito de proteína ideal para bovinos leiteiros. In: III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite, 2017, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.301-334. 2017.
SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes** 2.ed. Jaboticabal: Funep, p.265-297, 2011.

SCHWAB, C. G. Amino acid nutrition of the dairy cow: current status. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS II1996, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University. p.184-198, 1996.

SCHWAB, C.G. Balancing Diets for amino acids: Nutritional, environmental, and financial implications. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, Fort Wayne. **Anais...** Fort Wayne, 2010, p. 1-13.

SCHWAB, C.G.; BOUCHER, S.E.; SLOAN, B.K. Metabolizable protein and amino acid nutrition of the cow. Where are we in 2007? In: ANNUAL MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 68, Minnesota. **Anais...** Minnesota, 2007, p. 121 – 138.

SILVA, F.F. **Desempenho, características de carcaça, composição corporal e exigências nutricionais (energia, proteína, aminoácidos e macrominerais) de novilhos nelore, nas fases de recria e engorda, recebendo diferentes níveis de concentrado e proteína.** Viçosa, 2001. 227f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

STIEVEN, I.C.B.; ROSSI JUNIOR, P.; FERNANDES, S.R.; ZANETTI, G.F.; SANTANA, M.H.A. Exigência e absorção de aminoácidos em bovinos. **PUBVET**, Londrina, v.5, n.7, Ed. 154, Art. 1041, 2011.

STORM, E., ORSKOV, E.R. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 4. The limiting amino acids os microbial protein in growing shoop determined by a new approach. **Br. J. Nutr.**, p.52:613-612. 1984.

VALADARES FILHO, S.C. Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para ruminantes In: DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. p.87-113.

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. **Viehwirtschaftliche Fachtagung**, p.24-25, 2002.

WITTEWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico em uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

CAPÍTULO 2 – EFEITO DA INCLUSÃO DE LISINA E METIONINA PROTEGIDAS SOBRE O DESEMPENHO NUTRICIONAL E COMPORTAMENTO INGESTIVO DE BORREGAS

Resumo: Lisina e metionina são os aminoácidos mais limitantes para ruminantes. Sua inclusão na forma livre não é eficaz, visto que os microrganismos ruminais os degradam rapidamente, dificultando o atendimento das exigências de proteína metabolizável. Objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes níveis de lisina e metionina protegidos da degradação ruminal na ração de borregas, sobre o consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio e comportamento ingestivo. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Capim Branco, da Universidade Federal de Uberlândia, no período de setembro à outubro de 2016. O mesmo foi submetido à análise pelo Comitê de Ética na utilização de animais sendo aprovado sob protocolo nº 128/16. Foram utilizadas cinco borregas mestiças Dorper/Santa Inês, com aproximadamente oito meses de idade e peso médio de 50 kg, distribuídas em esquema quadrado latino 5x5, sendo cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram na inclusão de diferentes níveis de lisina e metionina protegidos da degradação ruminal (MicroPEARLS LM[®]) na ração, sendo: 0g, 8g, 16g, 24g e 32g. A dieta era composta por silagem de milho e concentrado, na proporção 30V:70C, sendo ofertadas duas vezes ao dia (8 e 16 horas). O experimento teve duração de 75 dias, sendo dividido em cinco fases. Cada fase teve duração de quinze dias, sendo dez dias de adaptação dos animais e cinco dias de coleta de dados. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, dispostas de comedouro, bebedouros e saleiro. Foi realizado um ensaio de digestibilidade para determinar o consumo e os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CMS), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro e ácido (FDN/FDA). Foram obtidos o volume e densidade de urina, peso das fezes e escore fecal, balanço de nitrogênio e estudo de comportamento ingestivo. O CMS (kg/dia) e em relação ao peso metabólico e corporal apresentaram uma equação linear positiva à inclusão dos aminoácidos, assim com o CPB, CFDN, nitrogênio ingerido e balanço de nitrogênio, que foi positivo em todos os tratamentos. Não houve diferença ($P < 0,05$) para os coeficientes de digestibilidade da MS, PB e FDN. O consumo de água foi elevado em todos os tratamentos e não diferiram entre si ($P > 0,05$). O comportamento ingestivo não foi influenciado ($P < 0,05$). A inclusão de lisina e metionina protegidos até 32g aumenta o CMS e dos nutrientes sem alterar negativamente a digestibilidade. O elevado CPB induziu o aumento na excreção de nitrogênio urinário, e consequentemente o gasto energético.

Palavras-chave: Aminoácidos. Digestibilidade. Nitrogênio. *Ovis Aries*. Proteína.

EFFECT OF THE INCLUSION OF PROTEINED LYSINE AND METHIONINE ON NUTRITIONAL PERFORMANCE AND INGESTIVE BEHAVIOR OF LAMBS

Abstract: Lysine and methionine are the most limiting amino acids for ruminants. Its inclusion in the free form is not effective, since the ruminal microorganisms degrade them quickly, making difficult the fulfillment of the requirements of metabolizable protein. The objective of this study was to evaluate the inclusion of different levels of lysine and methionine protected from ruminal degradation in the diet of lambs, on intake, digestibility, nitrogen balance and feeding behavior. The experiment was carried out at the Experimental Farm Capim Branco, Federal University of Uberlândia, from September to October 2016. It was submitted to analysis by the Ethics Committee on the use of animals and approved under protocol 128/16. Five Dorper / Santa Inês mongrel ewes, with approximately eight months of age and average weight of 50 kg, were distributed in a 5x5 Latin square scheme, with five treatments and five replicates. The treatments consisted in the inclusion of different levels of lysine and methionine protected from ruminal degradation (MicroPEARLS LM[®]) in the diet, being: 0g, 8g, 16g, 24g and 32g. The diet was composed of corn silage and concentrate being offered twice a day (8:00 a.m. and 4:00 p.m.). The experiment lasted 75 days and was divided into five phases. Each phase lasted for fifteen days, with ten days of adaptation of the animals and five days of data collection. The animals were kept in individual metabolic cages, disposed of feeder, drinkers and salt shaker. A digestibility assay was performed to determine the digestibility and apparent digestibility coefficients of dry matter (DMI), crude protein (ICP), neutral detergent fiber and acid (NDF/FDA). Urine volume and density, stool weight and faecal score, nitrogen balance and ingestive behavior study were obtained. The CMS (kg/day) and in relation to the metabolic and corporal weight presented a positive linear equation to the inclusion of the amino acids, as well as ICP, INDF, nitrogen ingested and nitrogen balance, which was positive in all treatments. There was no difference ($P < 0,05$) for the digestibility coefficients of DM, CP and NDF. The water consumption was high in all treatments and did not differ from each other ($P > 0,05$). Feeding behavior was not influenced ($P < 0,05$). The inclusion of protected lysine and methionine up to 32g increases CMS and nutrients without negatively affecting digestibility. High CPB induced an increase in urinary nitrogen excretion and, consequently, energy expenditure.

Keywords: Amino acids. Digestibility. Nitrogen. *Ovis Aries*. Protein.

Introdução

Os sistemas de proteína metabolizável têm estimulado e permitido avanços no conhecimento das exigências em aminoácidos dos ruminantes e o balanceamento do perfil de aminoácidos essenciais (AAE) da proteína metabolizável (SANTOS et al., 20017).

O perfil de AAE na proteína que chega ao intestino é tão importante quanto à quantidade dessa proteína para que se possa maximizar o desempenho animal. Quando a proteína metabolizável possui perfil adequado de aminoácidos essenciais o teor de proteína bruta da ração pode ser reduzido juntamente com a excreção de ureia e outros compostos nitrogenados, otimizando a utilização da proteína metabolizável e maximizando o desempenho animal (SANTOS, 2006).

Os alimentos comumente utilizados na alimentação de ruminantes suprem as exigências de proteína degradável no rúmen, mas, apresentam déficit de proteína não degradável, sendo então necessária sua suplementação através da inclusão de aminoácidos protegidos da degradação ruminal. Esta estratégia permite que os aminoácidos alcancem o intestino delgado, e juntamente com a proteína microbiana e proteína endógena sejam capazes de suprir os requerimentos de proteína metabolizável do ruminante, a fim de maximizar o desempenho produtivo (VALADARES FILHO, 1997).

A suplementação com aminoácidos essenciais pode reduzir a excreção de nitrogênio para o ambiente e, dependendo do custo da dieta, ser mais econômica (ARRIOLA APELO et al., 2014). A excreção de nitrogênio tem um alto custo energético para o animal, visto que, para isso é realizada no fígado a conversão da amônia em ureia. Sua redução permite um redirecionamento desta energia para outras funções, como crescimento e manutenção. Com isso o consumo e a digestibilidade dos alimentos podem ser elevados, de forma a suprir as exigências nutricionais, proporcionando aumento no desempenho dos animais.

O consumo, digestibilidade e o metabolismo dos nutrientes refletem diretamente sobre a resposta produtiva dos animais. Uma vez que o consumo é o responsável por 60 a 90% da variação observada na ingestão de energia digestível entre os animais e dietas, enquanto a digestibilidade representa entre 10 e 40% desta diferença (REID, 1961). A avaliação do comportamento ingestivo auxilia na

determinação da qualidade da dieta e permite a realização de ajustes no manejo alimentar.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes níveis de aminoácidos (lisina e metionina) protegidos da degradação ruminal na ração para borregas sobre o consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio e comportamento ingestivo.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Capim-branco, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em Uberlândia, MG, no período de setembro à outubro de 2016. O experimento foi submetido à análise pelo Comitê de Ética na utilização de animais de (CEUA) obtendo aprovação sob protocolo n° 128/16.

Foram utilizadas cinco borregas $\frac{1}{2}$ sangue Dorper x Santa Inês com aproximadamente oito meses de idade, peso médio de 50 kg. As borregas foram vermifugadas antes do início do período experimental com monepantel via oral. Os animais foram alocados em gaiolas metabólicas individuais (padrão INCT), com piso de madeira ripado, dispostas de comedouro, bebedouro e saleiro. As gaiolas foram mantidas em galpão de piso cimentado e coberto por telhas de barro, com ventilação lateral e protegidas da radiação solar direta.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente, em cinco tratamentos. Os tratamentos consistiram de diferentes níveis de inclusão do produto MicroPEARLS LM[®] (0g, 8g, 16g, 24g e 32g), sendo este suplemento de aminoácidos (lisina e metionina) encapsulados (Tabela 1 e 2). A ração foi balanceada segundo o NRC (2007) para ganhos de 250 g/dia. A mesma foi composta por silagem de milho e concentrado na proporção 70C:30V (Tabela 1).

Tabela 1. Composição centesimal e bromatológica (%) do concentrado e silagem de milho

Ingredientes	Concentrado	Silagem	MicroPEARLS LM [®] *	Ração total
Farelo de milho	60,5 ^{**}	-	-	-
Farelo de soja	36,0 ^{**}	-	-	-
Ureia	1,0 ^{**}	-	-	-
Sal mineral	2,5 ^{**}	-	-	-
MS	90,2 ^{**}	32,2 ^{**}	99,0 [*]	43,56 ^{**}
PB	24,9 ^{**}	6,3 ^{**}	43,75 [*]	19,36 ^{**}
FDN	24,8 ^{**}	54,6 ^{**}	-	33,74 ^{**}
FDA	7,0 ^{**}	32,6 ^{**}	-	14,68 ^{**}
NDT	80,94 ^{**}	62,63 ^{**}	51,23 [*]	65,05 ^{**}
EE	-	-	48,65 [*]	-

*Informações cedidas pelo fabricante; Produto composto por 75% lisina e 25% metionina. ** informações obtidas pelas análises feitas no laboratório de nutrição animal da UFU e do Instituto Federal de Uberaba. MS – matéria seca; PB – proteína bruta; FDN – fibra em detergente neutro; FDA – fibra em detergente ácido; NDT – nitrogênio digestível total; EE – extrato etéreo. NDT = 87,84 – (0,779 x %FDA) (RODRIGUES, 2010).

O experimento teve duração de 75 dias, sendo dividido em cinco fases. Cada fase teve duração de quinze dias, sendo dez dias destinados à adaptação dos animais e cinco dias destinados à coleta de dados.

Tabela 2. Especificações de qualidade do MicroPEARLS LM[®]

Características	*
Aparência	Branco para bege
Granulometria (500 – 2000 microns)	>= 90 <= 100%
Cloridrato de lisina	>= 35 <= 40%
Metionina	>= 12 <= 15%

*Informações cedidas pelo fabricante.

A oferta de alimento foi realizada diariamente às 8 e 16 horas, sendo ofertado 50% do total em cada refeição. Os aminoácidos eram fornecidos integralmente na refeição matinal, sendo ofertados e misturados manualmente ao restante do alimento diretamente no cocho. As quantidades de aminoácidos eram pesadas em balança digital de precisão de 0,0001g da marca Shimadzu[®] e modelo UX420H. Todos os dias as quantidades ofertadas e as sobras de alimento foram pesados com o auxílio de balança eletrônica da marca Filizola[®] modelo CS-15 com precisão de 0,005g para acompanhamento do consumo pelos animais. As rações foram fornecidas de forma que houvesse sobra de 10% do total fornecido. As sobras de alimento foram colhidas e armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e mantidas em congelador a -10 °C. Após o período de coleta as

amostras eram homogeneizadas individualmente e uma alíquota representativa era separada para realização das análises bromatológicas.

O cálculo do consumo de água oferecida no balde foi feito com base na diferença entre o ofertado (6 litros/animal) e as sobras, e, o cálculo do consumo de água total foi feito somando-se a água do balde com a água contida na ração ingerida. Ambos os cálculos foram feitos descontando a quantidade de água evaporada no dia, que foi obtida colocando-se 6 litros de água em um balde e subtraindo a sobra no dia seguinte. O balde utilizado para evaporação era igual aos utilizados como bebedouro pelos animais e alocado na mesma altura.

Abaixo das gaiolas metabólicas era mantido artefato que permitia separação das fezes e urina, possibilitando avaliação da digestibilidade. Para realizar colheita total de fezes, as gaiolas eram limpas todos os dias pela manhã, com o auxílio de espátula e vassoura. As fezes foram pesadas, homogeneizadas e coletada alíquota representativa da amostra uma vez ao dia sempre no período da manhã. As alíquotas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificados e mantidos em congelador a -10°C .

Para avaliação do escore fecal utilizou-se a escala proposta por Gomes (2008): 1- fezes ressecadas e sem brilho, 2- fezes normais, 3- fezes ligeiramente amolecidas, 4- fezes amolecidas, perdendo o formato e coladas umas às outras (cacho de uva), 5- fezes amolecidas e sem formato normal, 6- fezes diarreicas.

Era adicionado 100 mL de ácido sulfúrico a 2 N nos baldes coletoras de urina, evitando assim que houvesse perdas de nitrogênio por volatilização. O volume de urina foi mensurado diariamente pela manhã com o auxílio de proveta graduada (plástico). A densidade da urina foi avaliada no mesmo momento com o auxílio de refratômetro manual Megabrix[®]. Foram retiradas alíquotas representativas deste material uma vez ao dia no período da manhã, e posteriormente foram acondicionadas em garrafas devidamente identificados e armazenadas em congelador a -10°C . Antes de serem armazenadas as amostras foram filtradas com filtro de papel (utilizados para coar café) retirando-se possíveis contaminações. Ao final do período de coleta, as amostras correspondentes a cada animal foram descongeladas, homogeneizadas e filtradas novamente utilizando-se filtro de papel, sendo retirada alíquota de 20% para posteriores análises laboratoriais.

Posteriormente foi feita a primeira secagem das amostras de sobras e fezes em estufa de circulação forçada de ar, a 55°C por 72 horas, até obter peso

constante. Feito isto, as amostras foram moídas, em moinho de facas do tipo Willey, em partículas de 1 mm. Logo após, as amostras foram levadas ao laboratório onde foi realizada a 2ª matéria seca das amostras de sobras e fezes, em estufa a 105 °C por 24 horas, sendo então possível calcular a matéria seca definitiva das mesmas e teor dos nutrientes, e posteriormente, a digestibilidade aparente dos nutrientes e matéria seca através das seguintes fórmulas (MAYNARD et al., 1984):

$$CN = (Cons \times \%Cons) - (Sob \times \%Sob)$$

Onde:

CN = consumo do nutriente (kg); Cons = quantidade de alimento consumido (kg); %Cons = teor do nutriente no alimento fornecido (%); Sob = quantidade de sobra retirada (kg); %Sob = teor do nutriente nas sobras (%).

$$DA = \frac{(CN - (Fez \times \%Fez))}{CN \times 100}$$

Onde:

DA = digestibilidade aparente (%); Fez = quantidade de fezes coletada (kg); %Fez = teor do nutriente nas fezes (%); CN = consumo do nutriente (kg).

Os nutrientes analisados foram: proteína bruta (PB) de acordo com metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002), e fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) fibra em detergente neutro corrigido para cinzas (FDNc) de acordo com metodologia descrita por Van Soest (1991). E através dos teores dos nutrientes, foi possível calcular consumo de proteína bruta (CPB), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de fibra em detergente ácido (CFDA) e consumo de matéria seca (CMS), através da diferença entre ofertado e sobras.

O teor de nutrientes digestíveis totais da silagem foi calculado através da fórmula sugerida por Rodrigues (2010):

$$NDT = 87,84 - (0,779 \times \%FDA)$$

O teor de N na urina foi calculado pelo método Kjeldahl (SILVA e QUEIROZ, 2002), com as seguintes adaptações:

- Foi adicionado 1 mL de amostra de urina, 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) e mistura catalítica em um tubo de ensaio;
- Iniciou-se a digestão das amostras em 50°C e aumentou-se a temperatura bem devagar (de 50 °C em 50 °C), até ocorrer à mudança de cor da amostra;
- Posteriormente, fez-se a destilação das amostras, adicionando um pouco de água destilada à amostra digerida. No aparelho de destilação adicionou-se 25 mL de hidróxido de sódio 50% (NaOH) e 20 mL de ácido bórico (H₃BO₃) em erlenmeyer. O volume de amostra destilada coletada foi de 100 mL;
- Após a destilação, a amostra foi titulada utilizando ácido clorídrico (HCl) a 0,1N, adicionando o ácido até a amostra mudar de cor;
- A quantidade de ácido gasto na titulação é utilizada para calcular o teor de N da amostra, através da fórmula:

$$\%N = \frac{V \times FC \times N \times 0,014}{P} \times 100$$

Onde:

V = volume de HCl 0,1N gasto na titulação; FC = fator de correção do HCl 0,1N; N = normalidade do ácido utilizado na titulação; 0,014 = miliequivalente-grama do nitrogênio; P = peso da amostra em gramas.

O balanço de N, ou nitrogênio retido foi obtido utilizando-se a fórmula proposta por Zeoula et al., (2006):

$$BN = [(N \text{ fornecido g} - N \text{ das sobras g}) - (N \text{ nas fezes g} + N \text{ na urina g})]$$

Consequentemente, foi calculado o consumo de N (CN) e a relação entre N ingerido e N retido (NING/NRET) através das fórmulas:

$$CN = N \text{ fornecido (g)} - N \text{ das sobras (g)}$$

$$NING/NRET = \frac{BN}{CN}$$

Para a mensuração do comportamento ingestivo, os animais foram submetidos à observação visual por pessoas treinadas, em sistema de revezamento, dispostas de maneira a não incomodar os animais, por vinte e quatro horas. No período noturno, o ambiente recebeu iluminação artificial, e as luzes foram mantidas acesas durante cinco dias antes da avaliação para promover a adaptação dos animais. Foram verificados, a cada cinco minutos, se os animais estavam realizando ingestão do alimento e de água (ING), ruminação (RUM) ou ócio (ÓCIO), de acordo com a metodologia proposta por Fischer et al. (1998). Os cálculos das atividades foram feitos em minutos por dia, admitindo que, nos cinco minutos subsequentes a cada observação, o animal permaneceu na mesma atividade. Já o tempo total gasto em mastigação (MAST) foi determinado somando-se os tempos gastos em ingestão (ING) e ruminação (RUM).

O delineamento foi quadrado latino 5x5. As médias de todos os dados foram submetidas à análise pelo estudo de regressão a 5% de probabilidade, com exceção do escore fecal que foi comparado pela estatística não paramétrica (KRUSKAL e WALLIS, 1952). Todas as variáveis tiveram sua normalidade e homogeneidade testadas.

Resultados e discussão

Os consumos de matéria seca, em relação ao peso metabólico e peso corporal apresentaram resposta linear positiva (Tabela 3), ou seja, quanto maior o nível de inclusão de aminoácidos protegidos na dieta, maiores foram os consumos, apresentando diferença de 16,94% entre o menor e maior consumo (0g e 32g). De acordo com o NRC (2007) recomenda-se que borregos nesta categoria consumam 1,39 kg/MS/dia, sendo assim, os animais que receberam 32g de aminoácidos protegidos apresentaram consumo 3,59% acima do recomendado, enquanto aqueles que não receberam os aminoácidos consumiram 13,95% abaixo do recomendado.

Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em ao peso metabólico (CMS PM) e em relação com peso corporal (CMS PC) e digestibilidade de matéria seca por borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos

Tratamento	CMS ¹ (kg/dia)	CMS/PM ² (kg/dia)	CMS/PC ³ (%)	DMS
0g	1,196	60,23	2,22	79,42
8g	1,328	67,17	2,48	82,26
16g	1,324	67,35	2,49	80,78
24g	1,294	65,54	2,43	78,96
32g	1,440	73,96	2,74	81,77
MG	1,31	66,78	2,47	80,64
CV	8,07	8,28	8,47	3,02

MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; ¹Y = 1,225600 + 0,005675x R² = 67,65%; ²Y = 61,74400 + 0,315925x R² = 68,99%; ³Y = 2,28280 + 0,01210x R² = 69,98%

O maior nível de aminoácidos protegidos na dieta pode ter proporcionado melhor atendimento às exigências de proteína metabolizável das borregas, enquanto os ingredientes utilizados no concentrado (farelos de soja e milho, silagem e ureia; Tabela 1) serviram como fonte de proteína degradável no rúmen (PDR), maximizando a síntese de proteína microbiana, uma vez que a síntese de proteína microbiana é dependente da concentração e qualidade das fontes de energia e de nitrogênio dietético no rúmen (RIBEIRO et al. 2001). Esse equilíbrio entre as fontes de proteína podem ter provocado aumento no consumo de alimento.

O suprimento de energia que chega ao intestino para o animal é proveniente, principalmente, da digestão da proteína, carboidrato e ácidos graxos de cadeia longa (BERCHIELLE et al. 2006). Desta forma, os aminoácidos protegidos podem ter promovido elevado aporte energético para o intestino delgado, permitindo que a energia sobrepassante pudesse ser utilizada para o crescimento, incrementando o consumo por parte dos animais. Como a dieta fornecida era altamente palatável, o consumo foi mais uma vez beneficiado.

Segundo Alves (2004) quando a proteína metabolizável é de alta qualidade, ou seja, rica e com o perfil de aminoácidos essenciais adequado, o teor de proteína bruta da ração pode ser reduzido, a eficiência de utilização da proteína metabolizável é otimizada, a excreção de ureia e de outros compostos nitrogenados é reduzida (menor gasto energético) e o desempenho animal é maximizado. Antongiovanni et al., (2002) não observaram melhorias no consumo de matéria seca com a adição de níveis de metionina e lisina protegidas na dieta de cordeiros com dois meses de idade.

Prado (2013) avaliou a inclusão de lisina (48,5% de cloridrato de L-lisina) e metionina (55,3% de metionina) separadamente na dieta de cordeiros machos, não castrados, com aproximadamente 20,57 kg de peso vivo, mestiços Dorper x Santa Inês e observou menor consumo médio diário das rações contendo aminoácidos protegidos quando comparados ao tratamento controle. Os valores encontrados foram de 1,295, 1,228 e 1,153 kg/dia, respectivamente para os tratamentos controle, metionina e lisina.

Em dietas com valores de digestibilidade menores que 66% a ingestão de alimentos é determinada por fatores físicos, ou seja, estão relacionados à distensão física do rúmen-retículo. Já em dietas com valores superiores a 66% de digestibilidade, são os fatores fisiológicos que controlam a ingestão de alimentos, ou seja, pelo balanço energético ou nutricional da dieta (MERTENS, 1994; CONRAD et al., 1964). No presente estudo a média encontrada para a digestibilidade da matéria seca (DMS) foi de 80,64 e não apresentou diferença entre os tratamentos. A alta digestibilidade observada pode ter ocorrido em função de 70% da dieta ser composta por concentrado, ou seja, grãos altamente fermentáveis no rúmen.

De acordo com o NRC (1985) crescimento microbiano é dependente da relação entre tamanho de partícula, volume e taxa de passagem do alimento pelo rúmen, sendo que aumento na taxa de passagem reduz a idade média da população microbiana devido à remoção dos organismos maduros, e consequentemente, reduz a demanda energética da microbiota. Desta forma, há maior eficiência no uso da energia do sistema para o crescimento microbiano (POLAN, 1988). Sendo assim, a digestibilidade manteve-se elevada em todos os tratamentos, mesmo com a mudança observada no CMS (Tabela 3), indicando que o elevado aporte energético da dieta promoveu aumento no crescimento microbiano e na taxa de passagem. Além disso, o concentrado tinha ureia em sua composição (Tabela 1), sendo esta fonte de nitrogênio prontamente degradada no rúmen, e utilizada na formação de proteína microbiana. Han et al., (1996) avaliaram dieta com e sem a inclusão de lisina e metionina protegidas em ovelhas com peso médio de 50 kg e observaram maior DMS com a inclusão dos aminoácidos, passando de $69,4 \pm 1,75$ para $72,6 \pm 2,20\%$.

O consumo de matéria seca em relação ao peso corporal (CMS/PC) ficou abaixo do recomendado pelo NRC (2007) que é de 2,78 %. Esta redução de 11% no

CMS/PC pode ser em função do comitê se basear em animais geneticamente distintos dos utilizados no presente estudo.

Os consumos de proteína bruta (CPB) e fibra em detergente neutro (FDN) apresentaram equação linear positiva ao aumento na inclusão dos aminoácidos (Tabela 4).

Tabela 4. Consumos de proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN) e fibra em detergente ácido (CFDA), expressos em kg/dia/animal, digestibilidades da proteína bruta (DGPB) e da fibra em detergente ácido (DFDA), expressos em porcentagem, em borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos

Tratamento	CPB ¹	DGPB	CFDN ²	CFDA	DFDN
0g	0,268	86,51	0,382	0,149	67,77
8g	0,297	86,97	0,412	0,161	71,21
16g	0,296	86,27	0,401	0,151	67,43
24g	0,293	86,31	0,386	0,152	67,72
32g	0,332	87,11	0,415	0,168	69,46
MG	0,297	86,63	0,406	0,156	68,72
CV	8,30	2,64	9,28	14,00	7,90

MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; ¹Y = 0,272820 + 0,001557x R² = 74,26%; ²Y = 0,384568 + 0,001400x R² = 41,14%;

O consumo de proteína bruta (CPB) recomendado pelo NRC (2007) para borregas em crescimento é de 0,168 kg/dia. No presente estudo o menor consumo de proteína bruta foi verificado no tratamento sem adição de aminoácidos protegidos e ainda assim permaneceu 59% acima do recomendado, enquanto os animais que receberam 32g de aminoácidos consumiram 97% acima do recomendado. Este aumento está relacionado ao fato de que a dieta dos animais foi formulada de forma a atender suas exigências proteicas, sendo a inclusão dos aminoácidos uma suplementação, o que possivelmente fez com que o CPB ficasse acima do recomendado.

Geron et al. (2013) trabalharam com diferentes níveis de concentrado a base de milho grão moído e farelo de soja na dieta de cordeiros com peso médio de 19,3 ± 2,1 kg. Os níveis testados foram 20%, 40%, 60% e 80% com valores médios de PB de 12,80% e obtiveram CPB máximo de 77,37 g/dia. Isso mostra que os dados de CPB do presente estudo estão de fato relacionados com o elevado teor de proteína bruta presente na dieta (Tabela 1), sendo maior à medida que se aumentaram os níveis de aminoácidos protegidos.

A digestibilidade da proteína bruta (DGPB) não foi influenciada ($P < 0,05$) pelos tratamentos, apresentando média de 86,63% (Tabela 4). Além do teor de PB do concentrado outro fator que pode ter contribuído para a elevada DPB é a presença de ureia no concentrado e as fontes de PDR (farelo de soja). A composição do concentrado utilizado pode ter maximizado a síntese de proteína microbiana no rúmen, o que provavelmente também melhorou o perfil de aminoácidos que chegava ao intestino delgado, que juntamente com os aminoácidos protegidos compunham a proteína metabolizável. Este melhor aporte de aminoácidos pode ter contribuído para os altos valores encontrados para DGPB. Segundo Zeoula et al., (2006) quando a disponibilidade de PDR é aumentada na presença de uma fonte de amido de alta degradabilidade ruminal, como o milho, a energia mais rapidamente disponível é suficiente para propiciar sincronização como N liberado, ocasionando aumento na digestibilidade. Geron et al. (2013) encontraram maior DPB ao trabalharem com 40% de concentrado na dieta, com valores de 58,96%. Moreno et al. (2010) trabalhou com cordeiros com peso médio inicial de 15 kg, recebendo dieta contendo concentrado com 19% de proteína bruta a base de farelo de soja e milho moído com e encontrou DPB média de 78,22%.

O consumo da fibra em detergente neutro (CFDN) apresentou resposta linear positiva à inclusão dos aminoácidos (Tabela 4). Esta variável está diretamente relacionada com a ingestão de volumoso, sendo assim, observa-se que o aumento no CFDN está relacionado com aumento no CMS (Tabela 3), uma vez que a relação V:C era mesma em todos tratamentos. Geron et al., (2013) encontraram CFDN de 268,44 e 158,74 g/dia ao trabalhar com 20% e 60% de concentrado na dieta, respectivamente. Macedo Jr. et al., (2006) encontraram CFDN de 604,47 g/dia de em ovelhas Santa Inês com peso médio de $45,01 \pm 2,15$ kg, recebendo dieta com 34,69% de FDN.

Não houve efeitos dos níveis de aminoácidos para a digestibilidade da FDN (Tabela 4). Geron et al. (2013) e Moreno et al. (2010) também não observaram diferença ($P < 0,05$) para a DFDN, encontrando valores de 48,07 e 44,55%, respectivamente. Sun et al., (2007) observaram um aumento na DFDN de cabras de 49,3 para 50,7% ao comparar uma dieta controle e uma com a inclusão de lisina e metionina protegidas, respectivamente.

O balanço de nitrogênio é indicativo do metabolismo proteico e constitui importante parâmetro na avaliação de alimentos, o que permite avaliar se o animal

encontra-se em equilíbrio quanto aos seus compostos nitrogenados (GUIMARÃES JR. et al., 2007). Os valores encontrados para N ingerido apresentaram equação linear positiva (Tabela 5). A recomendação de consumo de N/CMS é de 1%, para manutenção basal da atividade microbiana no rumem. No presente estudo os animais ingeriram em média 3% de N/CMS. Este consumo de nitrogênio do presente estudo está relacionado com o aumento no CMS e consequentemente CPB (Tabela 3 e 4) e com o aumento no nível de inclusão dos aminoácidos protegidos suplementar no concentrado. Moreno et al. (2010) observaram consumo de N de 32,60 g/dia para ovinos alimentados com 60% de concentrado com 19,0% de PB. Geron et al. (2015) encontraram valores de 12,38 g/dia trabalhando com 40% de concentrado com 13,0% de PB. Han et al., (1996) encontraram consumo de N de 30,7 e 28,2 g/dia em ovelhas de 50 kg recebendo dietas sem a inclusão de lisina e metionina protegidas e com a inclusão, respectivamente.

Tabela 5. Nitrogênio ingerido (N ingerido), nitrogênio fecal (N fecal), nitrogênio urinário (N urinário), balanço de nitrogênio (BN) e relação entre nitrogênio retido e ingerido (NR/NI) em função aos tratamentos. Valores expressos em g/dia/animal, exceto (NR/NI)

Tratamento	N ingerido ¹	N fecal	N urinário	BN ²	NR/NI
0g	33,26	6,01	8,87	17,68	0,53
8g	41,70	6,26	8,87	25,14	0,62
16g	42,32	6,29	8,48	27,23	0,67
24g	41,13	6,34	9,87	23,41	0,61
32g	47,48	6,66	8,33	30,52	0,67
MG	41,18	6,31	8,89	24,79	0,62
CV	11,19	16,65	30,09	26,87	16,47

MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; ¹Y = 135,60440 + 0,348475x R² = 74,73%; ²Y = 20,00840 + 0,299325x R² = 62,74%

Como não houve diferença (P<0,05) para a DMS, o aumento na ingestão de N também não influenciou a excreção do N fecal e urinário (Tabela 5). As perdas de N fecal corresponderam a 15,32% do total de N ingerido. Os altos valores encontrados para DMS e DGPB (Tabela 4) proporcionaram melhor aproveitamento do N ingerido diminuindo sua excreção via fezes. Já as perdas de nitrogênio via urina corresponderam a 21,58% do total ingerido. Isso indica que o aumento no CPB e N ingerido vindos do concentrado e silagem resultaram em nitrogênio sobrepassante no rúmen, fazendo com que o animal concentrasse sua eliminação via urina, evitando possíveis intoxicações por amônia. Este mecanismo resulta em

maior gasto de energia pelo fígado, considerando que a síntese da ureia a partir da amônia é processo energeticamente dispendioso, estando calculado em ovinos em aproximadamente $88,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ (MARTIN e BLAXTER, 1965). Moreno et al. (2010) encontrou perdas de 40,74 e 22,20% para N fecal e urinário, respectivamente. Han et al., (1996) observaram diminuição na excreção de N com a inclusão de lisina e metionina na dieta de ovelhas. Eles encontraram valores de $12,1 \pm 1,10$ e $9,6 \pm 0,05$ g/dia para N fecal e $12,9 \pm 0,93$ e $7,8 \pm 0,47$ g/dia para N urinário.

O balanço de nitrogênio (BN) apresentou equação linear positiva em resposta à inclusão dos aminoácidos na dieta (Tabela 5). O fato do BN ter sido positivo indica que os animais não necessitaram deslocar reservas proteicas corporais para suprir suas exigências nutricionais. Segundo Zeoula et al. (2006) maiores valores de BN em dietas com elevado teor de concentrado podem se dar em função do maior consumo e digestibilidade da PB. De fato no presente estudo, observou-se que os animais que receberam maiores níveis de lisina e metionina protegidos apresentaram maior CMS, CPB e BN (Tabelas 3, 4 e 5).

O consumo de água no balde não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$; Tabela 6). De acordo com o NRC (2007) existe correlação entre o consumo de matéria seca e o consumo de água de 1 kg MS para 2,78 litros de água. Os animais deste experimento ingeriram em média 1,72 litros de água a mais para cada kg de MS ingerida. Forbes (1968) propôs uma equação que possibilita calcular o requerimento de ingestão de água diária a partir do CMS, sendo: $\text{CH}_2\text{O} = 3,86 \times \text{CMS} - 0,99$. Utilizando o valor médio de CMS obtido no presente estudo, temos que a recomendação de ingestão de água é de 4,06 litros/dia, ou seja, o consumo de água foi 58% superior à recomendação. Este aumento pode ter sido uma alternativa criada para auxiliar na eliminação do excesso de PB da dieta, como forma de evitar intoxicações pela amônia. Outra explicação está ligada à época do ano em que o experimento foi conduzido, sendo considerada uma estação quente, induzindo ao consumo de água.

Não houve diferença ($P>0,05$) nos valores encontrados para volume e densidade de urina (Tabela 6). Hendrix (2005) sugere variação de 1,020 a 1,040 mg/dL para a densidade da urina em ovinos. Os valores observados para densidade de urina apresentaram média de 1,015, valor este abaixo do recomendado. Entretanto, segundo Carlson, (1993), em animais jovens é normal encontrar densidade de urina abaixo de 1,010 devido a elevada ingestão de líquidos, como

observado no presente estudo. Quanto maior a ingestão de alimentos, proteína e de nitrogênio não-proteico, maior é a produção de urina, consequência de maior ingestão de água, tanto proveniente do alimento quanto da própria água. Sendo assim, os maiores consumos de MS e PB resultaram em aumento na ingestão de água e no volume de urina, sendo esta uma forma de eliminar o excesso de nutrientes proveniente da dieta. Em casos de *déficit* de ingestão de água, o volume de urina é menor, pois há queda na irrigação sanguínea dos rins e maior reabsorção de água nos túbulos renais (OSBALDISTON e MOORE, 1971).

Tabela 6. Consumo de água no balde (CH₂O) e consumo de água total (CH₂O total) em litros, consumo de água em relação ao consumo de matéria seca (CH₂O/CMS) litros/kg, volume de urina (VU) em litros, densidade de urina (DU) mg/dL, peso das fezes na matéria natural (PFMN) e na matéria seca (PFMS) em gramas e matéria seca fecal (%) e escore fecal (EF) de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos

Trat.	CH ₂ O	CH ₂ O total	CH ₂ O/CMS	VU	DSD
0g	5,10	5,63	4,33	2,68	1,0176
8g	5,67	6,30	4,24	2,71	1,0152
16g	6,57	7,19	5,22	3,14	1,0146
24g	5,71	6,33	4,40	3,00	1,0128
32g	6,15	6,81	4,31	3,00	1,0158
MG	5,84	6,45	4,50	2,91	1,0152
CV	18,66	16,90	23,36	26,90	0,40
Trat.	PFMN	PFMS	MSF	EF*	
0g	0,58	0,20	35,43	2,40 B	
8g	0,66	0,21	32,45	3,12 A	
16g	0,58	0,22	37,51	2,36 B	
24g	0,63	0,22	36,28	2,48 B	
32g	0,59	0,22	39,27	2,20 B	
MG	0,61	0,21	36,19	2,51	
CV	21,66	14,89	12,05	-	

Trat. – Tratamento; MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; *Estatística não paramétrica.

Não foram observadas diferenças estatísticas para peso das fezes na matéria natural, na matéria seca e matéria seca fecal (Tabela 6). O peso das fezes pode estar relacionado com a composição da dieta, taxa de passagem do alimento pelo rúmen e sua digestibilidade. Como as dietas continham a mesma relação volumoso:concentrado, não causou efeitos no peso das fezes e na digestibilidade (Tabela 3).

O escore fecal foi maior ($P < 0,05$) para o tratamento 8g. Segundo Gomes (2008) o escore ideal seria 2,0, o que caracteriza as fezes como normais e são um

indicativo da condição de saúde dos animais dentro da normalidade. O tratamento 8g apresentou escore fecal de 3,12, o que pode ser caracterizado como fezes ligeiramente amolecidas, ficando 38% acima do escore recomendando. Escores muito elevados podem indicar dietas com elevada taxa de passagem e são indicativos de algum distúrbio. Entretanto, este não foi o caso, pois não foi observado diferença para a DMS entre os tratamentos (Tabela 3).

Os diferentes níveis de aminoácidos protegidos não influenciaram ($P < 0,05$) as variáveis analisadas para o comportamento ingestivo das borregas quando analisados no período de 24 horas (Tabela 7). O principal motivo para estes resultados podem estar relacionados ao fato das dietas não apresentarem variações nos teores de fibra. Van Soest (1994) estabeleceu que a atividade de ruminação em animais adultos deve ocupar em torno de 8 horas por dia, podendo apresentar variações entre 4 e 9 horas. Esta diferença está relacionada aos componentes da dieta e é proporcional ao teor de parede celular dos alimentos volumosos.

Tabela 7. Efeito da utilização de diferentes níveis de aminoácidos protegidos sobre o comportamento ingestivo (minutos/dia e porcentagem do dia) de borregas durante 24 horas

Trat.	Ing.	Rum.	Ócio	Mast.	Ing(%)	Rum(%)	Ócio(%)	Mast(%)
0g	183,00	241,00	1016,00	424,00	12,71	16,73	70,55	29,44
8g	175,00	250,00	1015,00	425,00	12,15	17,36	70,48	29,51
16g	172,00	281,00	987,00	453,00	11,94	19,51	68,54	31,45
24g	197,00	229,00	1019,00	421,00	13,68	15,90	70,76	29,23
32g	193,00	268,00	979,00	461,00	13,40	18,61	67,98	32,01
MG	184,00	253,80	1003,20	436,80	12,77	17,62	69,66	30,33
CV	18,13	21,06	6,15	14,13	18,13	21,06	6,15	14,13

Trat. – Tratamento; Ing. – Ingestão; Rum. – Ruminação.

No presente estudo os animais permaneceram em média 4 horas e 13 minutos em atividades de ruminação, sendo este o valor mínimo proposto por Van Soest (1994). Este resultado pode estar relacionado à boa qualidade da fibra da dieta, além disso, o fato dos animais permanecerem em gaiolas metabólicas favoreceu o fácil acesso dos animais ao alimento, diminuindo assim o tempo necessário para ingestão e ruminação e aumentando o tempo em ócio. Outro fator importante é que 70% da dieta era composta por concentrado, sendo este mais facilmente ingerido quando comparado à silagem de milho e provoca pouco estímulo ruminatório. Dietas com esta característica são rapidamente digeridas no rúmen, uma vez que possuem elevadas quantidades de carboidratos não fibrosos

(MERTENS, 1987), explicando os valores mínimos achados para tempo de ruminação.

O tempo gasto em ócio pelos animais representou 69,66% do total. Cirne et al. (2014) trabalharam com ovinos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta na ração e observaram que os animais permaneceram em média 78% dia em ócio.

Os animais permaneceram em atividade de mastigação por em média 7 horas durante o período de avaliação. Sabe-se que o processo de mastigação pelos ruminantes é fundamental para a manutenção da saúde ruminal, tendo em vista que durante a mastigação ocorre produção de saliva que é responsável pelo tamponamento, evitando possíveis problemas, como por exemplo, a acidose (VAN SOEST, 1994). O mesmo compreende a soma dos valores de ingestão e ruminação.

Não houve diferença ($P < 0,05$) para as eficiências de ingestão, ruminação e mastigação (Tabela 8). Estes resultados demonstram a capacidade do ruminante em ingerir, ruminar e mastigar o alimento e é expressa em g/minutos. Desta forma, o nível de aminoácidos incluídos nas dietas não prejudicou e nem melhorou a eficiência dos parâmetros de comportamento ingestivo dos animais.

Tabela 8. Eficiências de ingestão, ruminação e mastigação de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos.

Trat.	Ef. ING (g/min)	Ef. RUM (g/min)	Ef. MAST (g/min)
0g	6,56	5,00	2,81
8g	8,03	5,80	3,21
16g	8,58	4,92	3,02
24g	6,90	5,99	3,15
32g	8,25	5,78	3,22
MG	7,66	5,50	3,08
CV	19,65	20,79	11,50

Trat. – Tratamento; Ef. ING. – Eficiência de ingestão; Ef. RUM. – Eficiência de ruminação; Ef. MAST. – Eficiência de mastigação; MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação.

O processo de mastigação pelos ruminantes é fundamental para a manutenção da saúde ruminal, tendo em vista que durante a mastigação ocorre a produção da saliva que é responsável pelo tamponamento, evitando possíveis problemas, como por exemplo, acidose. No presente trabalho, não foram observados distúrbios metabólicos.

CONCLUSÃO

O consumo de matéria seca e dos nutrientes aumenta com a inclusão de lisina e metionina protegidos até 32g sem alterar negativamente a digestibilidade e eleva a excreção de nitrogênio via urina, sem alterar o comportamento ingestivo das borregas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n. 3, 2004, p. 265-271.
- ANTONGIOVANNI, M; ACCIAIOLI, A.; FRANCI, O.; PONZETTA, M. P.; PUGLIESE, C.; BUCCIONI, A.; BADII, M. Field bean (*Vicia faba* var. minor) as a protein feed for growing lambs with and without protected lysine and methionine supplementation. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v.1, n.3, 2002. p.229-238.
<https://doi.org/10.4081/ijas.2002.229>
- ARRIOLA APELO, S.I.; SINGER, L.M.; RAY, W.K.; HELM, R.F.; LIN, X.Y.; MCGILLIARD, M.L.; St-PIERRE, N.R.; HANIGAN, M.D. Casein synthesis is independently and additively related to individual essential amino acid supply. **Journal of Dairy Science**. V.97, n.5, 2014. p.2998-3005.
- BERCHIELLI TT, PIRES AV, OLIVEIRA SG. **Nutrição de ruminantes**. In: Resende KT, Teixeira IAMA, Fernandes MHMR. (Ed.). **Metabolismo de energia**. Jaboticabal: FUNEP; 2006. p. 311-332.
- CARLSON, G.P. Testes bioquímicos. In: SMITH, B.P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 1. ed. São Paulo: Manole, 1993. p.395 – 423.
- CIRNE, L.G.A.; OLIVEIRA, G.J.C.; BAGALDO, A.R.; LEITE, M.C.P.; ROCHA, N.B.; MACEDO JUNIOR, C.M.; OLIVEIRA, P.A. Comportamento ingestivo de cordeiros em confinamento, alimentados com dieta exclusiva de concentrado com diferentes porcentagens de proteína. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.1, 2014. p.229-234.
<https://doi.org/10.1590/S0102-09352014000100031>
- CONRAD, H.R., PRATT, A.D., HIBBS, J.W. Regulation of feed intake in dairy cows. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. **Journal Dairy Sci.**, v.47, 1964. p.54.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(64\)88581-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(64)88581-7)
- FISCHER, V.; DESWYSEN, A. G.; DÈSPRES, L.; DUTILLEUL, P.; LOBATO, J. F. P. Padrões nectemerais do comportamento ingestivo de ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 2, 1998. p. 362-369.
- FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. Guiford: Biddles Ltda., 1995. 532p.
- FORBES, J.M. Water intake of ewes. **British Journal Nutrition**, v.22, 1968. p.33.
- GERON, L.J.V.; COSTA, F.G.; SANTOS, R.H.E.; GARCIA, J.; MACHADO, R.J.T.; SILVA, M.I.L.; ZEOULA, L.M.; SILVA, D.A. **Balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes teores de concentrado** - Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 36, n. 3, 2015. p.1609-1622.
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1609>

GERON, L.J.V.; MEXIA, A.A.; CRISTO, T.L.; GARCIA, J.; CABRAL, L.S.; MACHADO, R.J.T.; MARTINS, O.S.; ZEOULA, L.M. Consumo, digestibilidade dos nutrientes e características ruminiais de cordeiros alimentados com níveis crescentes de concentrado em ambiente tropical no Vale do Alto Guaporé – MT. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 5, 2013. p. 2497-2510.

<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n5p2497>

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA, 1970.

GOMES, S. P. **Tamanho de partícula do volumoso e frequência de alimentação sobre aspectos nutricionais e do metabolismo energético em ovinos**. 2008, 83 f. Tese de Doutorado em Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, L.G.R.; PIRES, D.A. de A.; RODRIGUES, J.A.S.; MIRANDA, K.L.; ARAÚJO, V.L. Balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com silagens de três genótipos de milho *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007. 1 CD-ROM.

HAN, I. K.; HA, J. K.; LEE, S. S.; KO, Y. G.; LEE, H. S. Effect of supplementing rumen-protected lysine and methionine on ruminal 21 characteristics and nutrient digestibility in sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 9, n. 2, 1996. p. 223-229.

HENDRIX, C.M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed. São Paulo: Rocca, 2005. 556p.

HODGSON, J. Grazing management: science into practice. England: Longman Handbooks in Agriculture, 1990.

KRUSKAL, W.H.; WALLIS, W.A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal American Statistical Association**. V.47, 1952. p.583-621.

<https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>

MACEDO JUNIOR, G.L.; PÉREZ, J.R.O.; ALMEIDA, T.R.V.; PAULA, O.J.; FRANÇA, P.M.; ASSIS, R.M. Influência de diferentes níveis de FDN dietético no consumo e digestibilidade aparente de ovelhas Santa Inês. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 3, 2006. p. 547-553.

MARTIN, A.K; BLAXTER, K.L. The energy cost of urea synthesis in sheep. In: BLAXTER, K.L. (Ed.) *Energy metabolism*. London: Academic Press, 1965. p.83-91. MAYNARD, L.A.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. et al. **Nutrição animal**. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 726p.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C., (Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, Amsterdam, v. 64, n. 5, 1987. p.1548-1558. <https://doi.org/10.2527/jas1987.6451548x>

MORENO, G.M.B; SOBRINHO, A.G.S.; LEÃO, A.G.; LOUREIRO, C.M.B.; PEREZ, H.L.; ROSSI, R.C. Desempenho, digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar e dois níveis de concentrado. **Rev. Bras. Zootec.**, v.39, n.4, p.853-860, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000400022>

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. 2007, 362p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D. C.: National Academy Press, 1985. 138p.

OSBALDISTON, G.W., MOORE, W.E. Renal function test in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V.159, 1971. p.292-301.

PRADO, T. F. **Metionina protegida, lisina protegida, enzima amilolítica e lisofosfolípídeos em dieta de alto concentrado para cordeiros confinados**. 2013, 75 f. Dissertação de Mestrado em Escola de Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

POLAN, C. E. Dietary protein and microbial protein contribution. **Journal of Nutrition**, Pennsylvania, v. 18, 1988. p. 242-248. <https://doi.org/10.1093/jn/118.2.242>

REID, J.T. Problems of feed evaluation related to feeding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.11, n.7, p.2122-2133, 1961. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)90030-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)90030-3)

RIBEIRO, K. G.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. de C.; CECON, P. R. Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais em bovinos recebendo dietas contendo feno de capim-Tifton 85 de diferentes idades de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 30, n. 2, 2001. p.581-588. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000200038>

RODRIGUES, R. C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 177 p.

SANTOS, F. A.P.; MACEDO, F.L.; CHAGAS, L.J. Aplicação do conceito de proteína ideal para bovinos leiteiros. In: III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite, 2017, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. p. 301-334.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Telma Teresinha Berchielli, Alexandere Vaz Pires e Simone Gisele de Oliveira, 2006. cap. 10, p. 255-284.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de; **Análise de alimentos** (Métodos químicos e biológicos). Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SUN, Z. H.; TAN, Z. L.; LIU, S. M.; TAYO, G. O.; LIN, B.; TENG, B.; TANG, S. X.; WANG, W. J.; LIAO, Y. P.; PAN, Y. F.; WANG, J. R.; ZHAO, X. G.; HU, Y. Effects of dietary methionine and lysine sources on nutrient digestion, nitrogen utilization, and duodenal amino acid flow in growing goats. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 12, p. 3340-3347, 2007. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-718>

VALADARES FILHO, S.C. Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para ruminantes In: DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. p.87- 113.
VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2^oed. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1994. 476p.

ZEOULA, L.M.; FERELI, F.; PRADO, I.N.; GERON, L.J.V.; NETO, S.F.C.; PRADO, O.P.P.P.; MAEDA, E.M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.5, p.2179-2186, 2006
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000700039>

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS NUTRICIONAIS E PERFIL METABÓLICO DE BORREGAS SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE LISINA E METIONINA PROTEGIDAS DA DEGRADAÇÃO RUMINAL

Resumo: A utilização de aminoácidos protegidos da degradação ruminal permite que os mesmos atinjam o intestino delgado, melhorando o aporte energético e atendendo as exigências de proteína não degradável no rúmen e consequentemente, de proteína metabolizável. Objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na ração de borregas, sobre os parâmetros nutricionais e perfil metabólico. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Capim Branco, da Universidade Federal de Uberlândia, no período de setembro à outubro de 2016. O mesmo foi submetido à análise pelo Comitê de Ética na utilização de animais sob protocolo número 128/16. Utilizou-se cinco borregas ½ sangue Dorper x Santa Inês, com aproximadamente oito meses de idade e peso médio de 50 kg, distribuídas em esquema quadrado latino 5x5, sendo cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram na inclusão de diferentes níveis de lisina e metionina protegidos da degradação ruminal (MicroPEARLS LM®) na ração das borregas, sendo: 0g, 8g, 16g, 24g e 32g. A dieta era composta por silagem de milho e concentrado na relação 30V:70C sendo ofertada duas vezes ao dia (8h e 16h). O experimento foi dividido em cinco fases. Cada fase teve duração de quinze dias, sendo dez dias de adaptação dos animais e cinco dias de coleta de dados. Os animais foram mantidos em gaiola metabólicas individuais, dispostas de comedouro, bebedouros e saleiro. Realizou-se um ensaio de digestibilidade para determinar o consumo e os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CMS/DGMS) e proteína bruta (CPB/DGPB), além de variáveis relacionadas ao balanço de nitrogênio. Avaliou-se os metabólitos proteicos, energéticos, enzimas hepáticas, minerais e curva glicêmica. O CMS (kg/dia) e em relação ao peso metabólico apresentaram equação linear positiva, assim com o CPB, nitrogênio ingerido e balanço de nitrogênio, sendo positivo em todos os tratamentos. Não houve diferença ($P < 0,05$) para os coeficientes de digestibilidade da MS e PB. O consumo de água foi elevado em todos os tratamentos e não diferiram entre si ($P > 0,05$), assim como o volume de urina. As concentrações de PB, ureia, frutamina, gamaglutamiltransferase e magnésio mantiveram-se acima do recomendado, enquanto creatinina, colesterol, lipoproteínas de baixa, muito baixa e de alta densidade mantiveram-se abaixo da recomendação. A curva glicêmica manteve-se dentro da recomendação. A inclusão de aminoácidos protegidos até 32g aumenta o CMS e nutrientes, sem afetar negativamente a digestibilidade, e aumenta a excreção de nitrogênio urinário. O metabolismo dos animais foi alterado, sem causar danos hepáticos.

Palavras-chave: metabólitos proteicos, ovinos, ureia

EVALUATION OF NUTRITIONAL PARAMETERS AND METABOLIC PROFILE OF SUPPLEMENTED BLADES WITH DIFFERENT LEVELS OF LYSINE AND METHIONINE PROTECTED FROM RUMINAL DEGRADATION

Abstract: The use of amino acids protected from ruminal degradation allows them to reach the small intestine, improving the energy supply and meeting the requirements of non-degradable protein in the rumen and consequently of metabolizable protein. The objective of this study was to evaluate the inclusion of different levels of lysine and methionine protected in sheep diet, nutritional parameters and metabolic profile. The experiment was carried out at the Experimental Farm Capim Branco, Federal University of Uberlândia, from September to October 2016. It was submitted to analysis by the Ethics Committee for the use of animals under protocol 128/16. Five Dorper/Santa Inês lambs, with approximately eight months of age and average weight of 50 kg, were distributed in a 5x5 Latin square scheme, with five treatments and five replicates. The treatments consisted in the inclusion of different levels of lysine and methionine protected from ruminal degradation (MicroPEARLS LM ®) in the diet of lambs, being: 0g, 8g, 16g, 24g and 32g. The diet was composed of corn silage and concentrate and offered twice a day (08h00 and 16h00). The experiment was divided into five phases. Each phase lasted for fifteen days, with ten days of adaptation of the animals and five days of data collection. The animals were kept in individual metabolic cage, disposed of feeder, drinkers and salt shaker. A digestibility assay was performed to determine the intake and apparent digestibility coefficients of dry matter (DMI/DDMI), crude protein (ICP/DICP), as well as variables related to nitrogen balance. Protein, energetic metabolites, liver enzymes, minerals and glycemic curve were evaluated. The DMI (kg/day) and in relation to the metabolic weight presented positive linear equation, as well as CPB, ingested nitrogen and nitrogen balance, being positive in all treatments. There was no difference ($P < 0,05$) for the digestibility coefficients of DM and CP. The water consumption was high in all treatments and did not differ between them ($P > 0,05$), as well as the urine volume. Concentrations of PB, urea, fructosamine, gammaglutamyltransferase and magnesium remained above recommended levels, while creatinine, cholesterol, low, very low and high density lipoproteins remained below the recommended level. The glycemic curve remained within the recommendation. The inclusion of protected amino acids up to 32g increases CMS and nutrients, without negatively affecting digestibility, and increases urinary nitrogen excretion. The metabolism of the animals was altered without causing liver damage.

Keywords: protein metabolites, sheep, urea

INTRODUÇÃO

A interação entre as fontes de proteína degradada e não degradada no rúmen possibilita o aumento do fluxo de proteína da dieta e proteína microbiana que chega ao intestino e, conseqüentemente, aumenta a produtividade em ruminantes. Quanto mais semelhante for o perfil dos aminoácidos essenciais disponíveis para absorção no intestino delgado da exigência animal, maior será a eficiência do uso dos aminoácidos para síntese proteica e menores as exigências para aminoácidos totais (NRC, 2001).

Proteger aminoácidos da degradação ruminal faz-se necessário, uma vez que quando fornecidos em sua livre são rapidamente degradados pelos micro-organismos ruminais e não atendem a demanda de proteína metabolizável.

A degradação da proteína é responsável pelo suprimento de energia que chega para o animal no intestino delgado (BERCHIELLE et al., 2006), sendo assim sua inclusão na dieta pode proporcionar incrementos no consumo devido à maior fonte de energia prontamente disponível para o animal.

A maior eficiência de uso da proteína metabolizável quando a dieta é balanceada em lisina e metionina reduz a excreção de nitrogênio e conseqüentemente reduz os gastos energéticos envolvidos nesse processo, aliado a isso, a maior disponibilidade de metionina pode ter efeitos positivos no metabolismo hepático do animal. A combinação desses dois aspectos pode reduzir os riscos de cetose em ruminantes (SANTOS, 2017).

As variações metabólicas não são causadas exclusivamente pelo excesso ou falta de um nutriente isolado, pois há uma inter-relação entre eles, o que pode ocasionar erros de interpretação caso sejam analisados isoladamente. Um bom exemplo é a concentração de ureia sanguínea. Esta depende diretamente do aporte de proteínas degradáveis presente na dieta, representando assim, a via metabólica proteica. Porém, o aporte energético também pode influenciar na sua concentração. Caso o consumo de energia proveniente da dieta não seja o suficiente, ocorre uma alteração no metabolismo dos micro-organismos ruminais, o que promoverá aumento na concentração de amônia e conseqüentemente, aumento da ureia sanguínea (CONTRERAS et al., 2000), podendo ser também uma resposta à inclusão dos aminoácidos protegidos.

Sendo assim, objetivou-se avaliar a influencia da inclusão de diferentes níveis de aminoácidos protegidos (lisina e metionina) na dieta de borregas sobre os parâmetros nutricionais e metabolismo proteico, energético, mineral e enzimático (hepático).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Capim-branco, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em Uberlândia, MG, no período de setembro a outubro de 2016. O experimento foi submetido à análise pelo Comitê de Ética na utilização de animais de (CEUA) obtendo aprovação sob protocolo nº 128/16.

Foram utilizadas cinco borregas $\frac{1}{2}$ sangue Dorper x Santa Inês com aproximadamente oito meses de idade, peso médio de 50 kg. As borregas foram vermifugadas antes do início do período experimental com monepantel via oral. Os animais foram alocados em gaiolas metabólicas individuais (padrão INCT), com piso de madeira ripado, dispostas de comedouro, bebedouro e saleiro. As gaiolas foram mantidas em galpão de piso cimentado e coberto por telhas de barro, com ventilação lateral e protegidas da radiação solar direta.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente, em cinco tratamentos. Os tratamentos consistiram de diferentes níveis de inclusão do produto MicroPEARLS LM[®] (0g, 8g, 16g, 24g e 32g), sendo este suplemento de aminoácidos (lisina e metionina) encapsulados (Tabela 1 e 2). A ração foi balanceada segundo o NRC (2007) para ganhos de 250 g dia⁻¹. A mesma foi composta por silagem de milho e concentrado na proporção 70C:30V (Tabela 1).

Tabela 1. Composição centesimal e bromatológica (%) do concentrado e silagem de milho

Ingredientes	Concentrado	Silagem	MicroPEARLS LM [®] *	Ração total
Farelo de milho	60,5 ^{**}	-	-	-
Farelo de soja	36,0 ^{**}	-	-	-
Ureia	1,0 ^{**}	-	-	-
Sal mineral	2,5 ^{**}	-	-	-
MS	90,2 ^{**}	32,2 ^{**}	99,0 [*]	43,56 ^{**}
PB	24,9 ^{**}	6,3 ^{**}	43,75 [*]	19,36 ^{**}
FDN	24,8 ^{**}	54,6 ^{**}	-	33,74 ^{**}
FDA	7,0 ^{**}	32,6 ^{**}	-	14,68 ^{**}
NDT	80,94 ^{**}	62,63 ^{**}	51,23 [*]	65,05 ^{**}
EE	-	-	48,65 [*]	-

*Informações cedidas pelo fabricante; Produto composto por 75% lisina e 25% metionina. ** informações obtidas pelas análises feitas no laboratório de nutrição animal da UFU e do Instituto Federal de Uberaba. MS – matéria seca; PB – proteína bruta; FDN – fibra em detergente neutro; FDA – fibra em detergente ácido; NDT – nitrogênio digestível total; EE – extrato etéreo. NDT = 87,84 – (0,779 x %FDA) (RODRIGUES, 2010).

O experimento teve duração de 75 dias, sendo dividido em cinco fases. Cada fase teve duração de quinze dias, sendo dez dias destinados à adaptação dos animais e cinco dias destinados à coleta de dados.

Tabela 2. Especificações de qualidade do MicroPEARLS LM[®].

Características	*
Aparência	Branco para bege
Granulometria (500 – 2000 microns)	>= 90 <= 100%
Cloridrato de lisina	>= 35 <= 40%
Metionina	>= 12 <= 15%

*Informações cedidas pelo fabricante.

A oferta de alimento foi realizada diariamente às 8h e 16h, sendo ofertado 50% do total em cada refeição. Os aminoácidos eram fornecidos integralmente refeição matinal, sendo ofertados e misturados manualmente ao restante do alimento diretamente no cocho. As quantidades de aminoácidos eram pesadas em balança digital de precisão de 0,0001g da marca Shimadzu[®] e modelo UX420H. Todos os dias as quantidades ofertadas e as sobras de alimento foram pesados com o auxílio de balança eletrônica da marca Filizola[®] modelo CS-15 com precisão de 0,005g para acompanhamento do consumo pelos animais. As rações foram fornecidas de forma que houvesse sobra de 10% do total fornecido. As sobras de alimento eram colhidas e armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e mantidas em congelador a -10 °C. Após o período de colheita as

amostras eram homogeneizadas individualmente e uma alíquota representativa era separada para realização das análises bromatológicas.

O cálculo do consumo de água oferecida no balde foi feito com base na diferença entre o ofertado (6 litros animal⁻¹) e as sobras, e, o cálculo do consumo de água total foi feito somando-se a água do balde com a água contida na ração ingerida. Ambos os cálculos foram feitos descontando a quantidade de água evaporada no dia, que foi obtida colocando-se 6 litros de água em um balde e subtraindo a sobra no dia seguinte. O balde utilizado para evaporação era igual aos utilizados como bebedouro pelos animais e alocado na mesma altura.

Abaixo das gaiolas metabólicas era mantido artefato que permitia separação das fezes e urina, possibilitando avaliação da digestibilidade. Para realizar colheita total de fezes, as gaiolas eram limpas todos os dias pela manhã, com o auxílio de espátula e vassoura. As fezes foram pesadas, homogeneizadas e coletada alíquota representativa da amostra uma vez ao dia sempre no período da manhã. As alíquotas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificados e mantidos em congelador a -10 °C.

Era adicionado 100 mL de ácido sulfúrico a 2N nos baldes coletoras de urina, evitando assim que houvesse perdas de nitrogênio por volatilização. O volume de urina foi mensurado diariamente pela manhã com o auxílio de proveta graduada (plástico). A densidade da urina foi avaliada no mesmo momento com o auxílio de refratômetro manual Megabrix®. Foram retiradas alíquotas representativas deste material uma vez ao dia no período da manhã, e posteriormente foram acondicionadas em garrafas devidamente identificados e armazenadas em congelador a -10 °C. Antes de serem armazenadas as amostras foram filtradas com filtro de papel (utilizados para coar café) retirando-se possíveis contaminações. Ao final do período de coleta, as amostras correspondentes a cada animal foram descongeladas, homogeneizadas e filtradas novamente utilizando-se filtro de papel, sendo retirada alíquota de 20% para posteriores análises laboratoriais.

Posteriormente foi feita a primeira secagem das amostras de sobras e fezes em estufa de circulação forçada de ar, a 55 °C por 72 horas, até obter peso constante. Feito isto, as amostras foram trituradas, em moinho de facas do tipo Willey, em partículas de 1 mm. Logo após, as amostras foram levadas ao laboratório onde foi realizada a 2ª matéria seca das amostras de sobras e fezes, em estufa a 105 °C por 24 horas, sendo então possível calcular a matéria seca definitiva das

mesmas e teor dos nutrientes, e posteriormente, a digestibilidade aparente dos nutrientes e matéria seca através das seguintes fórmulas (MAYNARD et al., 1984):

$$CN = (Cons \times \%Cons) - (Sob \times \%Sob)$$

Onde:

CN = consumo do nutriente (kg); Cons = quantidade de alimento consumido (kg); %Cons = teor do nutriente no alimento fornecido (%); Sob = quantidade de sobra retirada (kg); %Sob = teor do nutriente nas sobras (%).

$$DA = \frac{(CN - (Fez \times \%Fez))}{CN \times 100}$$

Onde:

DA = digestibilidade aparente (%); Fez = quantidade de fezes coletada (kg); %Fez = teor do nutriente nas fezes (%); CN = consumo do nutriente (kg).

O teor de proteína bruta (PB) foi analisado de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). E através dos teores dos nutrientes, foi possível calcular consumo de proteína bruta (CPB) e consumo de matéria seca (CMS), através da diferença entre ofertado e sobras.

O teor de nutrientes digestíveis totais da silagem foi calculado através da fórmula sugerida por Rodrigues (2010):

$$NDT = 87,84 - (0,779 \times \%FDA)$$

O teor de N na urina foi calculado pelo método Kjeldahl (SILVA; QUEIROZ, 2002), com as seguintes adaptações:

- Foi adicionado 1 mL de amostra de urina, 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) e mistura catalítica em um tubo de ensaio;
- Iniciou-se a digestão das amostras em 50 °C e aumentou-se a temperatura bem devagar (de 50°C em 50°C), até ocorrer à mudança de cor da amostra;
- Posteriormente, fez-se a destilação das amostras, adicionando um pouco de água destilada à amostra digerida. No aparelho de destilação adicionou-se

25 mL de hidróxido de sódio 50% (NaOH) e 20 mL de ácido bórico (H₃BO₃) em erlenmeyer. O volume de amostra destilada coletada foi de 100 mL;

- Após a destilação, a amostra foi titulada utilizando ácido clorídrico (HCl) a 0,1N, adicionando o ácido até a amostra mudar de cor;
- A quantidade de ácido gasto na titulação é utilizada para calcular o teor de N da amostra, através da fórmula:

$$\%N = \frac{V \times FC \times N \times 0,014}{P} \times 100$$

Onde:

V = volume de HCl 0,1N gasto na titulação; FC = fator de correção do HCl 0,1N; N = normalidade do ácido utilizado na titulação; 0,014 = miliequivalente-grama do nitrogênio; P = peso da amostra em gramas.

O balanço de N, ou nitrogênio retido foi obtido utilizando-se a fórmula proposta por Zeoula et al. (2006):

$$BN = [(N \text{ fornecido g} - N \text{ das sobras g}) - (N \text{ nas fezes g} + N \text{ na urina g})]$$

Consequentemente, foi calculado o consumo de N (CN) e a relação entre N ingerido e N retido (NING/NRET) através das fórmulas:

$$CN = N \text{ fornecido (g)} - N \text{ das sobras (g)}$$

$$NING/NRET = \frac{BN}{CN}$$

Para análise bioquímica do sangue foi realizada uma coleta por dia no período da manhã, antes da primeira oferta de alimento, durante três dias alternados de avaliação, totalizando três coletas por fase. As colheitas de sangue para avaliação dos componentes bioquímicos foram realizadas por venopunção jugular com auxílio de tubos Vacutainer[®] sem anti-coagulante. As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos, sendo os soros separados em alíquotas, guardados em microtubos e armazenados em freezer a -5 °C para posterior análise laboratorial. Todas as amostras foram processadas em analisador bioquímico automatizado (Bioplus[®] 2000), usando kit comercial da Biotécnica[®]. Os resultados usados para discussão foram obtidos através da média das três coletas em cada fase.

Os componentes bioquímicos para determinação do metabolismo energético foram: colestreol (COL), triglicerídeos (TRIGL), frutossamina (FRUT), lipoproteínas de

alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), sendo este último calculado subtraindo o triglicerídeo por cinco; para determinação do metabolismo proteico foram: proteína total (PT), albumina (ALB), creatinina (CREAT), ácido úrico (AU), globulina (GLUB) (obtida através da subtração da PT pela ALB) e ureia (UR) e as enzimas analisadas foram: aspartato-aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA); e os minerais: fósforo (P) e magnésio (Mg). O LDL foi obtido pela fórmula proposta por Friedewald et al., (1972); o VLDL dividindo o valor de triglicerídeo por cinco.

$$LDL = CT - HDL - \frac{TG}{5}$$

Onde:

LDL = LDL-colesterol; CT = colesterol total; HDL = HDL-colesterol; TG = triglicerídeos; $\frac{TG}{5}$ = VLDL

A avaliação glicêmica foi feita no último dia de coleta de cada fase. As coletas de sangue foram realizadas às 08h00, 11h00, 14h00, 17h00 e 20h00, sendo as amostras coletadas por venopunção jugular com auxílio de Vacutainer®. A primeira coleta foi realizada antes da oferta de alimento, e a segunda oferta de alimento só foi fornecida após a última coleta de sangue (20h00). Todas as amostras foram processadas em analisador bioquímico automatizado (Bioplus® 2000), usando kit comercial da Lab Test®.

O delineamento foi um quadrado latino 5x5, sendo cinco tratamentos e cinco repetições. As médias de todos os dados foram submetidas à análise pelo estudo de regressão a 5% de probabilidade. A glicemia foi em esquema de parcelas subdivididas, sendo cinco tratamentos e cinco horários de coleta. Todas as variáveis tiveram sua normalidade e homogeneidade testadas.

Resultados e discussão

Os consumos de matéria seca e em relação ao peso corporal apresentaram resposta linear positiva (Tabela 3), ou seja, quanto maior o nível de inclusão de aminoácidos protegidos na dieta, maiores foram os consumos, apresentando

diferença de 16,94% entre o menor e maior consumo (0g e 32g). De acordo com o NRC (2007) recomenda-se que borregas nesta categoria consumam 1,39 kg/MS/dia, sendo assim, os animais que receberam 32g de aminoácidos protegidos apresentaram consumo 3,59% acima do recomendado, enquanto aqueles que não receberam os aminoácidos consumiram 13,95% abaixo do recomendado.

Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS), e em relação ao peso metabólico (CMS PM), consumo de proteína bruta (CPB), digestibilidade da matéria seca (DMS) e digestibilidade da proteína bruta (DGPB) de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos

Tratamento	CMS ¹ (kg dia ⁻¹)	CMSPC ² (%)	CPB ³ (kg dia ⁻¹)	DMS (%)	DGPB (%)
0g	1,192	2,22	0,268	83,16	86,51
8g	1,331	2,49	0,297	83,78	86,97
16g	1,315	2,47	0,296	82,98	86,27
24g	1,293	2,42	0,293	82,80	86,31
32g	1,453	2,76	0,332	84,16	87,11
MG	1,31	2,477	0,297	83,38	86,63
CV	9,14	9,39	8,30	3,00	2,64

MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; ¹Y = 1,220580 + 0,006051x R² = 66,90%; ²Y = 2,273249 + 0,012786x R² = 69,02%; ³Y = 0,272820 + 0,001557x R² = 74,26%;

O maior nível de aminoácidos protegidos na dieta pode ter proporcionado melhor atendimento às exigências de proteína metabolizável das borregas, enquanto os ingredientes utilizados no concentrado (farelos de soja e milho, silagem e ureia; Tabela 1) serviram como fonte de proteína degradável no rúmen (PDR), maximizando a síntese de proteína microbiana, uma vez que a síntese de proteína microbiana é dependente da concentração e qualidade das fontes de energia e de nitrogênio dietético no rúmen (RIBEIRO et al. 2001). Esse equilíbrio entre as fontes de proteína podem ter provocado aumento no consumo de alimento.

O suprimento de energia que chega ao intestino para o animal é proveniente, principalmente, da digestão da proteína, carboidrato e ácidos graxos de cadeia longa (BERCHIELLE et al. 2006). Desta forma, os aminoácidos protegidos podem ter promovido elevado aporte energético para o intestino delgado, permitindo que a energia sobrepassante pudesse ser utilizada para o crescimento, incrementando o consumo por parte dos animais. Como a dieta fornecida era altamente palatável, o consumo foi mais uma vez beneficiado.

Segundo Alves (2004) quando a proteína metabolizável é de alta qualidade, ou seja, rica e com o perfil de aminoácidos essenciais adequado, o teor de proteína bruta da ração pode ser reduzido, a eficiência de utilização da proteína metabolizável é otimizada, a excreção de ureia e de outros compostos nitrogenados é reduzida (menor gasto energético) e o desempenho animal é maximizado. Antongiovanni et al., (2002) não observaram melhorias no consumo de matéria seca com a adição de níveis de metionina e lisina protegidas na dieta de cordeiros com dois meses de idade.

Prado (2013) avaliou a inclusão de lisina (48,5% de cloridrato de L-lisina) e metionina (55,3% de metionina) separadamente na dieta de cordeiros machos, não castrados, com aproximadamente 20,57 kg de peso vivo, mestiços Dorper x Santa Inês e observou menor consumo médio diário das rações contendo aminoácidos protegidos quando comparados ao tratamento controle. Os valores encontrados foram de 1,295, 1,228 e 1,153 kg/dia, respectivamente para os tratamentos controle, metionina e lisina.

Em dietas com valores de digestibilidade menores que 66% a ingestão de alimentos é determinada por fatores físicos, ou seja, estão relacionados à distensão física do rúmen-retículo. Já em dietas com valores superiores a 66% de digestibilidade, são os fatores fisiológicos que controlam a ingestão de alimentos, ou seja, pelo balanço energético ou nutricional da dieta (MERTENS, 1994; CONRAD et al., 1964). No presente estudo a média encontrada para a digestibilidade da matéria seca (DMS) foi de 80,64 e não apresentou diferença entre os tratamentos. A alta digestibilidade observada pode ter ocorrido em função de 70% da dieta ser composta por concentrado, ou seja, grãos altamente fermentáveis no rúmen.

De acordo com o NRC (1985) crescimento microbiano é dependente da relação entre tamanho de partícula, volume e taxa de passagem do alimento pelo rúmen, sendo que aumento na taxa de passagem reduz a idade média da população microbiana devido à remoção dos organismos maduros, e consequentemente, reduz a demanda energética da microbiota. Desta forma, há maior eficiência no uso da energia do sistema para o crescimento microbiano (POLAN, 1988). Sendo assim, a digestibilidade manteve-se elevada em todos os tratamentos, mesmo com a mudança observada no CMS (Tabela 3), indicando que o elevado aporte energético da dieta promoveu aumento no crescimento microbiano e na taxa de passagem. Além disso, o concentrado tinha ureia em sua composição (Tabela 1), sendo esta

fonte de nitrogênio prontamente degradada no rúmen, e utilizada na formação de proteína microbiana. Han et al., (1996) avaliaram dieta com e sem a inclusão de lisina e metionina protegidas em ovelhas com peso médio de 50 kg e observaram maior DMS com a inclusão dos aminoácidos, passando de $69,4 \pm 1,75$ para $72,6 \pm 2,20\%$.

O consumo de matéria seca em relação ao peso corporal (CMS/PC) ficou abaixo do recomendado pelo NRC (2007) que é de 2,78 %. Esta redução de 11% no CMS/PC pode ser em função do comitê se basear em animais geneticamente distintos dos utilizados no presente estudo.

O consumo de proteína bruta apresentou equação linear positiva ao aumento da inclusão dos aminoácidos (Tabela 3).

O consumo de proteína bruta (CPB) recomendado pelo NRC (2007) para borregas em crescimento é de 0,168 kg/dia. No presente estudo o menor consumo de proteína bruta foi verificado no tratamento sem adição de aminoácidos protegidos e ainda assim permaneceu 59% acima do recomendado, enquanto os animais que receberam 32g de aminoácidos consumiram 97% acima do recomendado. Este aumento está relacionado ao fato de que a dieta dos animais foi formulada de forma a atender suas exigências proteicas, sendo a inclusão dos aminoácidos uma suplementação, o que possivelmente fez com que o CPB ficasse acima do recomendado.

Geron et al. (2013) trabalharam com diferentes níveis de concentrado a base de milho grão moído e farelo de soja na dieta de cordeiros com peso médio de $19,3 \pm 2,1$ kg. Os níveis testados foram 20%, 40%, 60% e 80% com valores médios de PB de 12,80% e obtiveram CPB máximo de 77,37 g/dia. Isso mostra que os dados de CPB do presente estudo estão de fato relacionados com o elevado teor de proteína bruta presente na dieta (Tabela 1), sendo maior à medida que se aumentaram os níveis de aminoácidos protegidos.

A digestibilidade da proteína bruta (DGPB) não foi influenciada ($P < 0,05$) pelos tratamentos, apresentando média de 86,63% (Tabela 3). Além do teor de PB do concentrado outro fator que pode ter contribuído para a elevada DPB é a presença de ureia no concentrado e as fontes de PDR (farelo de soja). A composição do concentrado utilizado pode ter maximizado a síntese de proteína microbiana no rúmen, o que provavelmente também melhorou o perfil de aminoácidos que chegava ao intestino delgado, que juntamente com os aminoácidos protegidos compunham a

proteína metabolizável. Este melhor aporte de aminoácidos pode ter contribuído para os altos valores encontrados para DGPB. Segundo Zeoula et al., (2006) quando a disponibilidade de PDR é aumentada na presença de uma fonte de amido de alta degradabilidade ruminal, como o milho, a energia mais rapidamente disponível é suficiente para propiciar sincronização como N liberado, ocasionando aumento na digestibilidade. Geron et al. (2013) encontraram maior DPB ao trabalharem com 40% de concentrado na dieta, com valores de 58,96%. Moreno et al. (2010) trabalhou com cordeiros com peso médio inicial de 15 kg, recebendo dieta contendo concentrado com 19% de proteína bruta a base de farelo de soja e milho moído com e encontrou DPB média de 78,22%.

O balanço de nitrogênio é indicativo do metabolismo proteico e constitui importante parâmetro na avaliação de alimentos, o que permite avaliar se o animal encontra-se em equilíbrio quanto aos seus compostos nitrogenados (GUIMARÃES JR. et al., 2007). Os valores encontrados para N ingerido apresentaram equação linear positiva (Tabela 4). A recomendação de consumo de N/CMS é de 1%, para manutenção basal da atividade microbiana no rumem. No presente estudo os animais ingeriram em média 3% de N/CMS. Este consumo de nitrogênio do presente estudo está relacionado com o aumento no CMS e consequentemente CPB (Tabela 3) e com o aumento no nível de inclusão dos aminoácidos protegidos suplementar no concentrado. Moreno et al. (2010) observaram consumo de N de 32,60 g/dia para ovinos alimentados com 60% de concentrado com 19,0% de PB. Geron et al. (2015) encontraram valores de 12,38 g/dia trabalhando com 40% de concentrado com 13,0% de PB. Han et al., (1996) encontraram consumo de N de 30,7 e 28,2 g/dia em ovelhas de 50 kg recebendo dietas sem a inclusão de lisina e metionina protegidas e com a inclusão, respectivamente.

Tabela 4. Nitrogênio ingerido (N ingerido), nitrogênio fecal (N fecal), nitrogênio urinário (N urinário), balanço de nitrogênio (BN) e relação entre nitrogênio retido e ingerido (NR NI) em função aos tratamentos. Valores expressos em g dia animal, exceto (NR NI)

Tratamento	N ingerido ¹	N fecal	N urinário	BN ²	NR NI
0g	94,02	5,79	17,88	60,80	0,72
8g	111,01	6,26	17,48	87,20	0,77
16g	110,81	6,12	16,12	80,06	0,77
24g	107,37	6,34	19,52	82,92	0,76
32g	132,37	6,66	16,40	109,36	0,81
MG	111,12	6,23	17,48	84,07	0,77
CV	14,20	18,64	39,58	19,57	9,18

MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; ¹Y = 96,507769 + 0,913349x R² = 70,41%; ²Y = 65,508274 + 1,160305x R² = 71,32%

Como não houve diferença (P<0,05) para a DMS, o aumento na ingestão de N também não influenciou a excreção do N fecal e urinário (Tabela 4). As perdas de N fecal corresponderam a 15,32% do total de N ingerido. Os altos valores encontrados para DMS e DGPB (Tabela 3) proporcionaram melhor aproveitamento do N ingerido diminuindo sua excreção via fezes. Já as perdas de nitrogênio via urina corresponderam a 21,58% do total ingerido. Isso indica que o aumento no CPB e N ingerido resultaram em nitrogênio sobrepassante no rúmen, fazendo com que o animal concentrasse sua eliminação via urina, evitando possíveis intoxicações por amônia. Este mecanismo resulta em maior gasto de energia pelo fígado, considerando que a síntese da ureia a partir da amônia é processo energeticamente dispendioso, estando calculado em ovinos em aproximadamente 88,4 kcal mol⁻¹ (MARTIN e BLAXTER, 1965). Moreno et al. (2010) encontrou perdas de 40,74 e 22,20% para N fecal e urinário, respectivamente. Han et al., (1996) observaram diminuição na excreção de N com a inclusão de lisina e metionina na dieta de ovelhas. Eles encontraram valores de 12,1 ± 1,10 e 9,6 ± 0,05 g/dia para N fecal e 12,9 ± 0,93 e 7,8 ± 0,47 g/dia para N urinário.

O balanço de nitrogênio (BN) apresentou equação linear positiva em resposta à inclusão dos aminoácidos na dieta (Tabela 4). O fato do BN ter sido positivo indica que os animais não necessitaram deslocar reservas proteicas corporais para suprir suas exigências nutricionais. Segundo Zeoula et al. (2006) maiores valores de BN em dietas com elevado teor de concentrado podem se dar em função do maior consumo e digestibilidade da PB. De fato no presente estudo, observou-se que os

animais que receberam maiores níveis de lisina e metionina protegidos apresentaram maior CMS, CPB e BN (Tabelas 3 e 4).

O consumo de água no balde não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$; Tabela 5). De acordo com o NRC (2007) existe correlação entre o consumo de matéria seca e o consumo de água de 1 kg MS para 2,78 litros de água. Os animais deste experimento ingeriram em média 1,72 litros de água a mais para cada kg de MS ingerida. Forbes (1968) propôs uma equação que possibilita calcular o requerimento de ingestão de água diária a partir do CMS, sendo: $CH_2O = 3,86 \times CMS - 0,99$. Utilizando o valor médio de CMS obtido no presente estudo, temos que a recomendação de ingestão de água é de 4,06 litros/dia, ou seja, o consumo de água foi 58% superior à recomendação. Este aumento pode ter sido uma alternativa criada para auxiliar na eliminação do excesso de PB da dieta, como forma de evitar intoxicações pela amônia. Outra explicação está ligada à época do ano em que o experimento foi conduzido, sendo considerada uma estação quente, induzindo ao consumo de água.

Tabela 5. Consumo de água no balde (CH_2O) e consumo de água total (CH_2O total) em litros, consumo de água em relação ao consumo de matéria seca (CH_2O CMS) litros kg^{-1} , e volume de urina (VU) em litros, de borregas recebendo diferentes níveis de aminoácidos protegidos

Trat.	CH_2O	CH_2O total	CH_2O CMS	VU
0g	5,10	5,63	4,33	2,68
8g	5,67	6,30	4,24	2,71
16g	6,57	7,19	5,22	3,14
24g	5,71	6,33	4,40	3,00
32g	6,15	6,81	4,31	3,00
MG	5,84	6,45	4,50	2,91
CV	18,66	16,90	23,36	26,90

*Estatística não paramétrica.

Não houve diferença ($P>0,05$) nos valores encontrados para volume de urina (Tabela 5). Quanto maior a ingestão de alimentos, proteína e de nitrogênio não-proteico, maior é a produção de urina, consequência de maior ingestão de água, tanto proveniente do alimento quanto da própria água. Sendo assim, os maiores consumos de MS e PB resultaram em aumento na ingestão de água e no volume de urina, sendo esta uma forma de eliminar o excesso de nutrientes proveniente da dieta. Em casos de *déficit* de ingestão de água, o volume de urina é menor, pois há

queda na irrigação sanguínea dos rins e maior reabsorção de água nos túbulos renais (OSBALDISTON e MOORE, 1971).

Diante do exposto, nota-se que a inclusão de lisina e metionina protegidos até 32g na dieta de borregas aumenta os consumos de MS e PB sem afetar negativamente suas respectivas digestibilidades, além de aumentar a ingestão de nitrogênio. O excesso de N dietético fez com que houvesse aumento na sua excreção via urina, e para isso os animais ingeriram mais água que o recomendado, de forma a evitar possíveis intoxicações. Esta excreção pode ter causado maior gasto energético pelos animais.

Os diferentes níveis de aminoácidos protegidos não influenciaram os metabólitos dos animais (Tabelas 6 e 7). Dentre todos os metabólitos proteicos avaliados apenas a creatinina e ureia apresentaram-se fora dos valores de referência. Essas variáveis apresentam ligação direta com os resultados discutidos anteriormente.

Tabela 6. Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo proteico

Trat.	PT	Alb.	Creat.	AU.	Glob.	Ureia
0g	7,07	2,92	0,71	0,38	4,14	46,73
8g	7,01	2,77	0,65	0,39	4,24	43,93
16g	7,09	3,08	0,63	0,34	4,01	42,66
24g	7,16	2,79	0,54	0,35	4,37	49,93
32g	6,91	3,11	0,65	0,35	3,79	44,12
MG	7,05	2,93	0,63	0,36	4,11	45,47
CV	13,20	29,94	18,72	18,81	24,82	17,65
VR*	6,0-7,9	2,4-3,0	1,2-1,9	0-1,9	3,5-5,7	17,1-42,8

Trat. – Tratamento; PT – Proteína total (mg dL^{-1}); Alb. – Albumina (mg dL^{-1}); Creat. – Creatinina (mg dL^{-1}); AU. – Ácido úrico (mg dL^{-1}); Glob. – Globulina (g dL^{-1}); Ureia (mg dL^{-1}). MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; VR* – Valor de referência segundo Kaneko et al., (2008).

Segundo González e Scheffer (2002) a ureia é indicador sensível e imediato da ingestão de proteína e é sintetizada em quantidades proporcionais a concentração de amônia produzida no rúmen (WITTWER et al., 1993), sendo esta última tóxica para ruminantes quando presente em altas concentrações. Vale ressaltar que mesmo não apresentando diferença entre os tratamentos, observa-se que todos os tratamentos tiveram concentrações de ureia sérica em média de 5,8% acima do limite de referência (Tabela 6). Isto pode implicar em maior produção de amônia no rúmen, e aumento do escape da mesma na parede ruminal, havendo assim maior conversão de amônia em ureia no fígado, o que pode resultar em

desperdício de nitrogênio no ambiente ruminal e maior gasto de energia pelo fígado, considerando que a síntese da ureia a partir da amônia é um processo energeticamente dispendioso, estando estimado em ovinos em $88,4 \text{ kcal mol}^{-1}$, no qual haverá ainda que adicionar o custo da excreção da ureia pelos rins quando este for o seu destino (MARTIN; BLAXTER, 1965).

Cerca de 60% a 80% da proteína é transformada em amônia no rúmen, que é utilizada pelos micro-organismos ruminais para a síntese de outros compostos, sendo que o excedente é absorvido e transportado para o fígado, onde é convertida em ureia e excretada via fezes, urina e, uma fração volta ao rúmen através da saliva (WITTEWER, 2000). De fato, observa-se que o elevado CMS e CPB (Tabela 3) resultaram em excesso de amônia que por sua vez foi convertida em ureia, indicando seu aumento na corrente sanguínea (Tabela 6). Consequentemente, este aumento de ureia ocasionou maior excreção de N urinário (Tabela 4), sendo esta forma de evitar a intoxicação. Logo, uma alternativa criada para que fosse possível elevar a excreção de N urinário, foi o aumento na ingestão de água (Tabela 5).

A excreção de N nas fezes indica que maior conservação dos compostos nitrogenados ocorre quando se utilizam dietas com menos teores proteicos, pois o aumento da PB da dieta pode ocasionar excesso na liberação de ureia, via urina, constituindo desperdício de proteína (AMORIM, 2013).

A creatinina ficou em média 47,5% abaixo do valor mínimo de referência, que é de $1,2 \text{ mg dL}^{-1}$. Este metabólito é formado no músculo, pela remoção irreversível e não-enzimática de água do fosfato de creatina, que por sua vez é originada do metabolismo de aminoácidos (HARPER et al., 1982). Além disso, possui estreita relação com a massa muscular que varia de acordo com o grau de exercício realizado pelos animais. Como os animais eram mantidos em gaiolas metabólicas e não realizam atividades, como andar, pastejar, entre outras, isso explica o fato dos baixos valores de creatinina. Sendo seus níveis sanguíneos poucos afetados pela dieta, a creatinina é usada como referência para corrigir mudanças nas variações de ureia sanguínea (GONZÁLEZ et al., 2000). Sendo assim, o aumento na ingestão de água como estratégia para eliminar o excesso de ureia podem ter influenciado os níveis séricos de creatinina.

O ácido úrico tem correlação com a quantidade de proteína microbiana disponível para a digestão intestinal do animal e seus valores estão dentro da faixa indicada (Tabela 6). O alto teor de PB da dieta associado ao aumento nos consumos

de PB e nitrogênio (Tabelas 1, 3 e 4) influenciaram nos valores de ácido úrico obtidos.

A concentração sérica de globulinas manteve-se dentro dos valores de referência (Tabela 6). As globulinas constituem as principais proteínas plasmáticas, desempenhando uma variedade de funções: manutenção da pressão osmótica e viscosidade do sangue, transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, regulação do pH sanguíneo e coagulação sanguínea (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A proteína total e albumina mantiveram-se dentro do limite máximo dos valores de referência. Estes metabólitos possuem relação direta com concentração proteica da dieta e são sintetizadas principalmente no fígado e a quantidade produzida indica estado nutricional do animal (WITTWER, 2000). Neste sentido, os resultados encontrados são consequência do elevado aporte proteico das dietas (Tabela 1), o que resultou em consumo elevado da proteína bruta e sua digestibilidade, o que também explica a concentração de ureia sanguínea (Tabela 6).

Observa-se que quanto maior a ingestão de proteína bruta dietética, maior são as concentrações dos metabólitos proteicos no sangue, porém o excesso de proteína vindo da dieta ocasiona perdas de nitrogênio urinário com possível gasto energético, podendo prejudicar a produção.

Os níveis de colesterol ficaram 41,42% abaixo do valor mínimo de referência (Tabela 7). Colesterol e ureia utilizam o mesmo substrato para sua formação, o piruvato. O piruvato da origem a Acetil CoA e esta molécula é responsável pelo alongamento da cadeia lipídica, enquanto que para a formação da ureia é utilizado o oxalacetato, que por sua vez também é derivado do piruvato (MOTTA, 2011). Como houve aumento nos níveis de ureia sanguínea devido à necessidade de excretar a amônia, houve redução na formação do colesterol, devido ao possível desvio do substrato piruvato. Além disso, o colesterol é constituinte das lipoproteínas que são sintetizadas no fígado e no intestino delgado, e atuam no transporte de lipídios no organismo (Kaneko et al., 2008). Para que ocorra formação das lipoproteínas há aumento da síntese de colesterol no intestino delgado, o que se dá em função da inclusão de lipídeos nas dietas (BAUCHART, 1993). Como não houve essa inclusão, os níveis de lipoproteínas também não foram alterados.

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é responsável pelo transporte do colesterol dos tecidos extra-hepáticos para o fígado, enquanto as lipoproteínas de

baixa densidade (LDL) realizam o transporte no sentido contrário (CAMPBELL, 2001). Com a diminuição nos níveis de colesterol houve consequentemente queda de 13% e 51% na concentração do HDL e LDL, respectivamente (Tabela 7) mantendo-se abaixo dos valores de referência. Já a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) é responsável pelo transporte dos triglicerídeos. Esta variável não apresentou diferença estatística entre os tratamentos e permaneceu 10% abaixo do valor mínimo recomendado. Como os níveis das lipoproteínas mantiveram-se baixos as relações $LDL\ HDL^{-1}$ e $CT\ HTL^{-1}$ também apresentaram o mesmo padrão de resposta (Tabela 7).

Tabela 7. Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo energético

Trat	Col.	Trig.	Frut.	LDL**	VLDL	HDL	LDL HDL^{-1}	CT HDL^{-1}
0g	30,76	16,48	216,51	14,76	3,29	34,98	0,38	0,90
8g	36,24	16,76	193,05	14,65	3,35	35,16	0,36	1,20
16g	28,64	10,78	204,58	16,42	2,15	38,10	0,42	0,74
24g	27,82	11,18	206,65	17,51	2,23	38,24	0,44	0,73
32g	28,84	12,36	197,65	12,12	2,47	38,50	0,31	0,76
MG	30,46	13,51	203,69	15,09	2,70	36,99	0,38	0,87
CV	25,83	37,17	20,17	34,64	37,17	17,56	22,90	39,21
VR*	52-76	9-30	172±2	29,4- 65,9	3,0-4,0	43 - 53	-	-

Trat. – Tratamento; Col. – Colesterol ($mg\ dL^{-1}$); Trig. – Triglicerídeos ($mg\ dL^{-1}$); Frut. – Frutosamina ($\mu mg\ dL^{-1}$); LDL – Lipoproteínas de baixa densidade ($mg\ dL^{-1}$); VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade ($mg\ dL^{-1}$); HDL – Lipoproteínas de alta densidade ($mg\ dL^{-1}$); MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; VR – Valor de referência segundo Kaneko et al., (2008); ** Valor de referência segundo Ghoreishi, et al., (2007).

Não houve diferença entre os tratamentos para frutosamina e a mesma manteve-se 18% acima do proposto por Kaneko et al. (2008). A frutosamina é uma cetoamina estável, formada quando a glicose reage não enzimaticamente com a proteína, principalmente a albumina. Isso explica as concentrações séricas de albumina próxima ao limite máximo proposto (Tabela 6). Quando a quantidade de proteína da dieta está dentro da normalidade, os índices de frutosamina estão relacionados aos níveis de glicose plasmática (KANEKO et al., 2008). A presença de grandes quantidades de amido na dieta (Tabela 1) vindo do farelo de milho e da silagem de milho contribuíram para estes resultados.

A curva glicêmica dos animais apresentou interação entre os tratamentos e horário de coleta, apresentando equação quadrática em todos os tratamentos, com exceção dos animais que receberam 8g de aminoácidos protegidos (Tabela 8). Observa-se que os picos ocorreram nas horas subsequentes à alimentação, vindo a

declinar após longo período em jejum (próximo às 20 horas). De fato, em ruminantes, o pico de concentração de glicose ocorre nesse período após alimentação, pois a glicose é sintetizada no fígado a partir de propionato, aminoácidos glicogênicos, lactato e outros precursores (CALDEIRA, 2005). Seus valores são proporcionais aos de frutose. Como neste estudo a frutose manteve-se em altas concentrações e a glicose permaneceu dentro dos valores de referência, isso indica um bom aproveitamento energético vindo do carboidrato, uma vez que o farelo de milho é altamente digestível e do amido da silagem de milho.

Tabela 8. Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre a curva glicêmica

Trat	8h	11h	14h	17h	20h
0g ¹	77,80	75,00	83,00	84,40	71,20
8g	62,80	61,00	65,60	71,00	67,60
16g ²	72,40	72,40	72,60	71,20	59,80
24g ³	66,40	66,80	74,60	72,40	50,40
32g ⁴	50,20	64,60	62,20	60,80	53,40

MG: 67,58; CV: 10,83; VR: 50 – 80mg dl; ¹ Y= 41,345397 + 5,962222x – 0,217460x² R²= 45,57%; ² Y= 47,530159 + 4,542222x – 0,193651x² R²= 91,05% ³ Y= 1,024127 + 11,297778x – 0,434921x² R²= 79,16%; ⁴ Y= -3,154286 + 9,55333x – 0,338095x² R²= 86,43%

De acordo com González (2000) em ruminantes a síntese de glicose depende de adequado funcionamento hepático. Como as enzimas avaliadas aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase mantiveram-se dentro dos valores recomendados os níveis de glicose também se mantiveram estáveis. Entretanto, a gama glutamiltransferase é a enzima mais representativa para as funções hepáticas e a mesma manteve-se elevada, correlacionando com os valores elevados encontrados para ureia e excreção de nitrogênio (Tabelas 8 e 9).

Não houve diferença (P<0,05) entre os tratamentos para as enzimas avaliadas e para os minerais (Tabela 9). A avaliação das enzimas hepáticas tem como objetivo observar a ocorrência de possíveis lesões hepáticas. A enzima aspartato aminotransferase (AST) está diretamente ligada ao estado hepático, sendo usada como indicador de lesões no fígado (DUNCAN; PRASSE, 1982). Esta variável manteve-se dentro dos valores de referência. Madureira et al., (2013) observou valores de AST para ovinos da raça Dorper de até 12 meses de idade de 138,0±71,0 UI L.

A fosfatase alcalina manteve-se dentro da faixa recomendada por Kaneko et al. (2008). Esta enzima encontra-se no fígado, túbulos renais, intestino e tecido

ósseo, que catalisa a hidrólise alcalina de vários substratos (MEYER; HARVEY, 2004). Madureira et al. (2013) encontraram valores de $257,0 \pm 125,0$ (UI L) para FA em cordeiros de até 12 meses de idade.

A gama glutamiltransferase (GGT) está presente em todas as células com exceção do músculo. Segundo Kaneko et al. (2008), está associada com o metabolismo do glutatona e é uma enzima encontrada na membrana celular, portanto, não está visivelmente elevada na doença hepática aguda como ocorre com as transaminases. É encontrada em altas concentrações no fígado e é liberada na corrente sanguínea quando ocorre algum dano às enzimas hepáticas. A GGT apresentou aumento médio de 17% do limite máximo proposto. Pode-se relacionar este aumento com os níveis de ureia sanguínea (Tabela 6). A ureia é metabolizada no fígado (GONZÁLEZ, 2000) e sua maior concentração pode ter ocasionado uma sobrecarga no fígado, elevando os níveis de GGT. Este não foi o caso do presente estudo. Ovinos de até 12 meses de idade apresentaram GGT de $93,0 \pm 19,0$ (MADUREIRA et al., 2013).

Tabela 9. Efeito dos diferentes níveis de lisina e metionina protegidos na dieta de borregas em crescimento sobre o metabolismo enzimático e mineral

Tratamento	AST	ALT	Fosfatase	GGT	P	Mg
0g	166,10	16,22	365,78	58,85	5,25	3,46
8g	180,32	13,10	359,10	65,69	5,25	2,86
16g	182,84	13,68	357,44	72,58	5,57	3,11
24g	123,90	18,70	308,78	61,86	5,54	2,81
32g	161,68	15,42	321,76	52,24	4,92	2,90
MG	162,96	15,42	342,57	62,64	5,30	3,03
CV	31,89	26,02	14,78	16,69	12,34	14,66
VR*	68-387	4-19	68-387	20-52	5 – 7,3	2,2-2,8

AST – Aspartato aminotransferase (U L^{-1}); ALT – Alanina aminotransferase (U L^{-1}); FA. – Fosfatase alcalina (U L^{-1}); GGT – Gama glutamiltransferase (U L^{-1}); P – Fósforo (mg dL^{-1}); Mg – Magnésio (mg dL^{-1}); MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; VR – Valor de referência segundo Kaneko et al., (2008).

O nível sanguíneo de fósforo e magnésio refletem melhor o balanço nutricional com relação a outros minerais. Os níveis de fósforo mantiveram-se dentro da faixa recomendada pela literatura e não diferiram entre os tratamentos (Tabela 9). A deficiência de fósforo é o distúrbio mineral mais comum e economicamente o mais importante em ruminantes, principalmente quando mantidos à pasto, devido às múltiplas funções que desempenha no organismo e à deficiência generalizada em

solos e forrageiras, além do elevado custo de sua suplementação (GONZÁLEZ, 2000).

Não existe controle homeostático do Mg, portanto sua concentração sanguínea reflete diretamente seu o nível na dieta. A hipomagnesemia pode causar sérios problemas para os ruminantes podendo conduzir até à morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno (GONZÁLEZ, 2000). No presente estudo o níveis de Mg não diferiram entre os tratamentos e alguns casos apresentou-se acima do recomendado (Tabela 9), entretanto nenhum transtorno foi observado durante o período experimental.

A inclusão de níveis de lisina e metionina até 32g não ocasionou danos hepáticos e mudanças significativas nos níveis de minerais.

CONCLUSÃO

O consumo de matéria seca e nitrogênio aumenta com a inclusão de lisina e metionina protegidos até 32g sem alterar negativamente suas respectivas digestibilidades e eleva a excreção de nitrogênio via urina.

O perfil metabólico de borregas é alterado pela inclusão de aminoácidos protegidos da degradação ruminal até 32g sem causar danos hepáticos.

O alto nível proteico e energético da dieta aumentam os níveis séricos de ureia enquanto a grande quantidade de carboidrato promove o aumento da frutossamina.

REFERÊNCIAS

- ALVES, D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n. 3, p. 265-271, 2004.
- AMORIM, T.R. Digestibilidade verdadeira e exigência de protein para manutenção em tourinhos Red Norte. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013. 68p.
- ANTONGIOVANNI, M; ACCIAIOLI, A.; FRANCI, O.; PONZETTA, M. P.; PUGLIESE, C.; BUCCIONI, A.; BADII, M. Field bean (*Vicia faba* var. minor) as a protein feed for growing lambs with and without protected lysine and methionine supplementation. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v.1, n.3, p.229-238, 2002.
<https://doi.org/10.4081/ijas.2002.229>
- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v. 76, n.12, p. 3864-3881, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77728-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77728-0)
- BERCHIELLI TT, PIRES AV, OLIVEIRA SG. **Nutrição de ruminantes**. In: Resende KT, Teixeira IAMA, Fernandes MHMR. (Ed.). *Metabolismo de energia*. Jaboticabal: FUNEP; 2006. p. 311-332.
- CALDEIRA RM. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias [Internet]*. 2005; 100(555-556): 125-139. Disponível em:
http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf6_2005/100_125-139.pdf. Português.
- CAMPBELL, M. K. *Bioquímica*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. p. 546-581, 2001.
- CONRAD, H.R., PRATT, A.D., HIBBS, J.W. Regulation of feed intake in dairy cows. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. **Journal Dairy Sci.**, v.47, p.54-, 1964.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(64\)88581-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(64)88581-7)
- CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- CONTRERAS, P., WITTEWER, F., BÖHMWALD, H. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, 217p.

FORBES, J.M. Water intake of ewes. **British Journal Nutrition**, v.22, p.33, 1968.

GERON, L.J.V.; COSTA, F.G.; SANTOS, R.H.E.; GARCIA, J.; MACHADO, R.J.T.; SILVA, M.I.L.; ZEOULA, L.M.; SILVA, D.A. **Balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes teores de concentrado** - Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 36, n. 3, p. 1609-1622, maio/jun. 2015
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1609>

GERON, L.J.V.; MEXIA, A.A.; CRISTO, T.L.; GARCIA, J.; CABRAL, L.S.; MACHADO, R.J.T.; MARTINS, O.S.; ZEOULA, L.M. Consumo, digestibilidade dos nutrientes e características ruminais de cordeiros alimentados com níveis crescentes de concentrado em ambiente tropical no Vale do Alto Guaporé – MT. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2497-2510, set./out. 2013.

GHOREISHI, S.M.; ZAMIRI, M.J.; ROWGHANI, E.; HEJAZI, H. Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v.10, n.14, p.2389-2395, 2007.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2389.2395>

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sangüíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R.; SIQUEIRA, A.J.S.; LA ROSA, V.L. Variações sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v.20, p.59-62, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006, 357p.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. **Anais... 29º Congresso de Medicina Veterinária**: Gramado, Brasil, 2002.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, L.G.R.; PIRES, D.A. de A.; RODRIGUES, J.A.S.; MIRANDA, K.L.; ARAÚJO, V.L. Balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com silagens de três genótipos de milho *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007. 1 CD-ROM.

HAN, I. K.; HA, J. K.; LEE, S. S.; KO, Y. G.; LEE, H. S. Effect of supplementing rumen-protected lysine and methionine on ruminal 21 characteristics and nutrient digestibility in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, Seoul, v. 9, n. 2, p. 223-229, 1996.

HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. Manual de química fisiológica. 5.ed. São Paulo: Atheneu. 736p, 1982.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press. 2008. 916p
 Kaneko JJ. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic, 1989. 932 p.

MADUREIRA, K.M.; GOMES, V.; BARCELOS, B.; ZANI, B.H.; SHECAIRA, C.L.; BACCILI, C.C.; BENESI, F.J. Parametros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 811-816, mar./abr. 2013. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p811>

MARTIN, A.K, BLAXTER, K.L. The energy cost of urea synthesis in sheep. In: BLAXTER, K.L. (Ed.) Energy metabolism. London: Academic Press, 1965. p.83-91.
 MAYNARD, L.A.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. et al. **Nutrição animal**. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 726p.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C., (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy, P.450-493, 1994.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Evaluation of Hepatobiliary System and Skeletal Muscle and Lipid Disorders. In: **Veterinary laboratory medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.157-186

MORAES, S.A., et al. Consumo de nutrientes de caprinos alimentados com subproduto de Urucum (Bixa Orellana L.) In: Anais.... 44° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2007.

MORENO, G.M.B; SOBRINHO, A.G.S.; LEÃO, A.G.; LOUREIRO, C.M.B.; PEREZ, H.L.; ROSSI, R.C. Desempenho, digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar e dois níveis de concentrado. Rev. Bras. Zootec., v.39, n.4, p.853-860, 2010
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000400022>

MOTTA, V. T. **Bioquímica**, Editora Medbook, 2ed, 2011, 488p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D. C.: National Academy Press, 1985. 138p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. 2007, 362p.

OSBALDISTON, G.W., MOORE, W.E. Renal function test in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V.159, p.292-301, 1971.

POLAN, C. E. Dietary protein and microbial protein contribution. **Journal of Nutrition**, Pennsylvania, v. 18, p. 242-248, 1988.

PRADO, T. F. **Metionina protegida, lisina protegida, enzima amilolítica e lisofosfolípídeos em dieta de alto concentrado para cordeiros confinados**. 2013, 75 f. Dissertação de Mestrado em Escola de Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013

RIBEIRO, K. G.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. de C.; CECON, P. R. Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais em bovinos recebendo dietas contendo feno de capim-Tifton 85 de diferentes idades de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 581-588, 2001. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000200038>

RODRIGUES, R. C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 177 p.

SANTOS, F. A.P.; MACEDO, F.L.; CHAGAS, L.J. Aplicação do conceito de proteína ideal para bovinos leiteiros. In: III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite, 2017, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. p. 301-334.
SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de; **Análise de alimentos** (Métodos químicos e biológicos). Viçosa: UFV, 2002. 235p.

WITTEWER, F. (2000) Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: González, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds.) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ZEOULA, L.M.; FERELI, F.; PRADO, I.N.; GERON, L.J.V.; NETO, S.F.C.; PRADO, O.P.P.P.; MAEDA, E.M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte de amido em ovinos. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.5, p.2179-2186, 2006

ANEXO A – Matriz nutricional do MicroPEARLS^{LM}

A – Matriz nutricional do MetiPEARLTM *

Nutrientes	%
Matéria Seca	99,0
Proteína	
PB, % MS	55,0
PDR, % MS	19,8
PNDR, %MS	35,2
PNDR, % PB	64,4
Prot. Sol., % PB	5,00
Aminoácidos	
Metionina, % PNDR	100,0%
Carboidratos	
FDA/FDN/NFC, % MS	0,0
Gordura	
EE, % MS	44,0
C14:0, % AGT	2,0
C16:0, % AGT	63,1
C18:0, % AGT	34,9
Energia	
EM – 3x	0,336
EL lactação – 3x	0,292
EL ganho – 3x	0,209
EL manutenção	0,292
Minerais	
Cinzas, % MS	1,0
Enxofre, % MS	1,0

*Informações cedidas pelo fabricante.

Frações	Parâmetro
Modelo NRC	
Categoria	Prot. Vegetal
Class. Eq. Energia	Concentrado
FAP	1,0
NDT, % MS	121,5
DE Mcal/kg	0,884
Proteína A, % PB	3,3
Proteína B, % PB	42,1
Proteína C, % PB	54,6
Tx. Dig. Prot., %h	2,7
Digestão PNDR, %	91,0
Digest. PB	1,0
Digest. pFDN	0,0
Digest. EE	0,2
Metionina, % PB	100,0
Modelos COM e CNCPS 5.0/6.1	
Prot. A, % PB	0,0
Taxa, % h	0,0
Digest. Int., %	100,0
Prot. B1, % PB	5,0
Taxa, % h	40,0
Digest. Int., %	100,0
Prot. B2, % PB	95,0
Taxa, % h	4,5
Digest. Int., %	90,0
Prot. B3, % PB	0,0
Taxa, % h	0,0
Digest. Int., %	0,0

*Informações cedidas pelo fabricante.

B – Matriz nutricional do LysiPEARL TM*

Nutrientes	%
Matéria Seca	99,0
Proteína	
PB, % MS	40,0
PDR, % MS	18,4
PNDR, %MS	21,6
PNDR, % PB	54,0
Prot. Sol., % PB	5,00
Aminoácidos	
Lisina, % PNDR	100,0%
Carboidratos	
FDA/FDN/NFC, % MS	0,0
Gordura	
EE, % MS	50,2
C14:0, % AGT	2,0
C16:0, % AGT	63,1
C18:0, % AGT	34,9
Energia	
EM – 3x	0,416
EL lactação – 3x	0,332
EL ganho – 3x	0,229
EL manutenção	0,332
Minerais	
Cinzas, % MS	9,8
Cloro, % MS	9,8

*Informações cedidas pelo fabricante.

Frações	Parâmetro
Modelo NRC	
Categoria	Prot. Vegetal
Class. Eq. Energia	Concentrado
FAP	1,0
NDT, % MS	27,9
DE Mcal/kg	0,990
Proteína A, % PB	0,0
Proteína B, % PB	46,0
Proteína C, % PB	54,0
Tx. Dig. Prot., %h	4,5
Digestão PNDR, %	91,0
Digest. PB	1,0
Digest. pFDN	0,0
Digest. EE	0,2
Lisina, % PB	100,0
Modelos COM e CNCPS 5.0/6.1	
Prot. A, % PB	0,0
Taxa, % h	0,0
Digest. Int., %	0,0
Prot. B1, % PB	5,0
Taxa, % h	40,0
Digest. Int., %	100,0
Prot. B2, % PB	95,0
Taxa, % h	5,6
Digest. Int., %	90,0
Prot. B3, % PB	0,0
Taxa, % h	0,0
Digest. Int., %	0,0

*Informações cedidas pelo fabricante.