



## Digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de alimentos para ruminantes

Antonio Ferriani Branco<sup>1</sup>, Sabrina Marcantonio Coneglian<sup>2</sup>, Fábio José Maia<sup>3</sup>, Kátia Cyrene Guimarães<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Zootecnia - UEM - Av. Colombo, 5790, CEP: 87020-220, Maringá - PR. Pesquisador do CNPq.

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Zootecnia - UEM - Av. Colombo, 5790, CEP: 87020-220, Maringá - PR.

<sup>3</sup> Zootecnista.

<sup>4</sup> Doutora em Zootecnia pela UEM.

**RESUMO** - A digestibilidade intestinal verdadeira de diferentes classes de alimentos usados em dietas para ruminantes foi avaliada por meio das técnicas *in situ* e *in vitro*. Foram utilizados dois bovinos machos castrados (450 kg PV) com cânulas implantadas no rúmen para incubação *in situ* de concentrados protéicos de origens animal e vegetal e energéticos, resíduos da agroindústria e alimentos volumosos. Avaliou-se a digestibilidade intestinal verdadeira dos alimentos submetidos à digestão apenas com pepsina ou com pepsina + pancreatina, precedida ou não da incubação ruminal. A incubação ruminal diminuiu a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de 24 dos 30 alimentos testados, com exceção da farinha de penas, da aveia preta, do grão de milho triturado a 2,5 mm e dos fenos de aveia e tifton, para os quais ocorreu aumento, e do farelo de girassol, para o qual não houve efeito da incubação ruminal. A digestibilidade intestinal da proteína não-degradada no rúmen (PNDR), na maioria dos alimentos utilizados em dietas para ruminantes, é menor que a da proteína original do alimento. Entre os alimentos avaliados, 29 apresentaram maior digestibilidade intestinal verdadeira quando incubados com pepsina + pancreatina, evidenciando a importância da etapa de digestão abomasal sobre as proteínas dos alimentos (com exceção à aveia preta). A digestibilidade intestinal dos alimentos é variável e, portanto, deve ser considerada na formulação de dietas para atendimento das exigências de proteína metabolizável.

Palavras-chave: avaliação de alimentos, digestão intestinal, digestibilidade *in vitro*, incubação *in situ*

## True small intestinal protein digestibility of ruminant feeds

**ABSTRACT** - The true protein digestibility in the small intestine of different ruminant feeds were measured using *in situ* and *in vitro* techniques. Two steers with average body weight of 450 kg and fitted with ruminal cannulas were used for *in situ* incubation of different feeds. The following feedstuffs were evaluated: animal and vegetable protein concentrate, energy concentrate, fiber by-products, and forage. Protein truly digested in the small intestine was estimated by pepsin or pepsin/pancreatin incubation with or without previous ruminal incubation. Out of 30 evaluated feeds, ruminal incubation decreased the true protein digestibility in the small intestine of 24 feeds, increased that of feather meal, black oat, 2.5-mm particle size corn grain, and oat and Tifton hays and had no effect on sunflower meal. These results showed that the small intestinal digestibility of rumen-undegradable protein from most analyzed feeds was lower than that of the original feed protein. With the exception of black oat, all remaining feeds (29) had greater true small intestinal protein digestibility after incubation with pepsin plus pancreatin showing the contribution of abomasal digestion on feed protein. Because true small intestinal protein digestibility differed among feeds, is important to take it into account on diet formulation in order to accurately determine the requirements of metabolizable protein of ruminants.

Key Words: feed evaluation, intestinal digestion, *in vitro* digestibility, *in situ* incubation

### Introdução

Os ruminantes apresentam intenso metabolismo protéico no rúmen. Por isso, a principal diferença entre animais ruminantes e não-ruminantes é que a qualidade da proteína absorvida por ruminantes depende da disponibilidade de aminoácidos que chegam ao duodeno e não dos aminoácidos

ingeridos (De Boer et al., 1987). Os principais compostos nitrogenados que chegam ao intestino delgado de ruminantes compreendem proteínas da dieta que não sofrem degradação ruminal, proteína microbiana, proteína endógena e nitrogênio amoniacal (Bohnert et al., 1998). A quantidade de proteína e a digestibilidade das frações protéicas no intestino delgado determinam a quantidade de aminoácidos

absorvidos para manutenção da produção animal (Schwab, 1996). Segundo Van Soest (1994), a proteína dietética de baixa qualidade deveria ser degradada no rúmen e convertida em proteína microbiana, ao passo que fontes protéicas de alto valor biológico deveriam ser preferencialmente digeridas no intestino, evitando perdas de aminoácidos essenciais decorrentes da fermentação no rúmen.

A digestibilidade da proteína que atinge o duodeno também é importante, pois contribui para que as exigências em aminoácidos possam ser atendidas. A digestibilidade intestinal verdadeira da proteína dietética não-degradada no rúmen nos diferentes sistemas de avaliação de proteínas (ARC, 1980; NKJ, 1985; NRC, 1996) é mantida como uma constante para as diferentes classes de alimentos. No sistema francês, no entanto, a digestibilidade verdadeira varia de 55 a 95% (Verite & Peyraud, 1989). Para o NRC (2001), a digestibilidade intestinal é diferenciada dependendo do alimento analisado. O uso de diferentes valores para a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína dietética de diferentes alimentos parece coerente, pois o conteúdo de nitrogênio insolúvel em detergente ácido, considerado indigestível, varia consideravelmente entre alimentos de diferentes classes (Krishnamoorthy et al., 1982; Loerch et al., 1983). A presença de uma fração protéica indigestível também implica que a digestibilidade da PNDR pode variar em determinado alimento, de acordo com a degradabilidade no rúmen (Calsamiglia & Stern, 1995). Torna-se necessário, portanto, conhecer mais precisamente a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de cada alimento.

O estudo da digestão de proteínas no intestino delgado é caro e trabalhoso e requer a utilização de animais canulados em várias seções do trato digestório (Calsamiglia & Stern, 1995). Uma técnica *in vitro* para estimar a digestão intestinal da proteína deve simular as condições fisiológicas dos ruminantes, incluindo os efeitos causados pela fermentação ruminal, ser rápida, confiável e barata e ser aplicável a uma ampla variedade de alimentos (Calsamiglia & Stern, 1995). Entre os diversos métodos desenvolvidos, destacam-se a determinação do N insolúvel em detergente ácido - NIDA (Goering et al., 1972), os procedimentos enzimáticos (Britton et al., 1996), o teste da disponibilidade de lisina (Faldet et al., 1991) e a técnica do saco de náilon móvel (Hvelplund et al., 1992). Entretanto, em nenhum desses métodos, foi possível reunir todos as características supracitadas.

A técnica de três estádios foi desenvolvida com base nos problemas citados anteriormente, como dificuldade, maior custo e maior tempo para se conduzir um experimento

com animais. A técnica vem sendo testada como método para estimar a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de diferentes alimentos (Calsamiglia & Stern, 1995).

Dessa forma, objetivou-se nesta pesquisa estudar os efeitos da fermentação ruminal e da pré-incubação com pepsina sobre a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de concentrados protéicos e energéticos, resíduos da agroindústria e alimentos volumosos utilizados na alimentação de ruminantes.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi, localizada no distrito de Iguatemi, e no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

Para incubação *in situ* dos alimentos avaliados, foram utilizados dois bovinos machos castrados (24 meses de idade e 450 kg de peso vivo) com cânulas implantadas no rúmen. Os animais foram mantidos em baias individuais (10 m<sup>2</sup> de área útil) com piso em concreto, equipadas com comedouro individual e bebedouro coletivo (coberto) para cada duas baias. As baias foram lavadas duas vezes ao dia e os animais foram alimentados pela manhã (8h) e à tarde (16h) com dieta fornecida na proporção 40:60 concentrado:vulmoso e receberam água à vontade.

Os alimentos avaliados foram: 1) concentrados protéicos de origem animal: farinha de carne, farinha de peixe, farinha hidrolisada de penas e farinha de vísceras de aves; 2) concentrados protéicos de origem vegetal: caroço de algodão, farelo de soja, farelo de girassol, farelo de glúten de milho, semente de girassol, grão de soja moído a 1,5 e a 2,5 mm; 3) concentrados energéticos: aveia branca, aveia preta, farelo de trigo, grão de milho moído a 2,5 mm, grão de milho moído a 4,5 mm, polpa cítrica, sorgo e tritcale; 4) resíduos da agroindústria: casca de café melosa, casca de café melosa tostada, milho ventilação, casca de café, casca de café tostada e resíduo de farelo de algodão; 5) volumosos: feno de alfafa, feno de aveia, feno de tifton, milho e silagem de rama de mandioca.

Os alimentos grão de soja (1,5 e 2,5 mm) e grão de milho (2,5 e 4,5 mm) são resultantes do processamento destes dois alimentos; incluem o material retido nas peneiras com as medidas correspondentes e contêm em maior quantidade sementes e grãos quebrados, além de outras impurezas provenientes do processo de colheita, presentes em maior proporção no material recolhido das peneiras com crivos menores (1,5 e 2,5 mm). À exceção dos grãos de milho e de soja, todos os outros alimentos foram moídos a 1 mm. A

casca de café melosa (casca de café sem pergaminho), constituída pela mucilagem (mesocarpo) e casca (epicarpo), é obtida pelo beneficiamento via seca do café (Caielli, 1984). O milho ventilação é um resíduo da indústria do milho obtido após a fase de ventilação, quando é separado o material de baixa densidade.

Um procedimento similar ao descrito por Calsamiglia & Stern (1995) foi utilizado neste trabalho. Os alimentos foram incubados no rúmen para a obtenção dos resíduos não degradados, que, posteriormente, foram submetidos à determinação da digestibilidade intestinal verdadeira da proteína. Para testar a influência da incubação ruminal sobre a digestibilidade intestinal verdadeira dos alimentos e estimar a proteína degradada no rúmen (PDR), os alimentos foram triturados em moinho com peneira de 2 mm e incubados no rúmen (5 g de amostra dos alimentos, 4 a 8 amostras/alimento) utilizando-se sacos de náilon (50 µm), conforme descrito por Nocek (1988), durante 16 horas. A estimativa da proteína não-degradada no rúmen (PNDR) foi calculada pela diferença da PDR.

A quantidade de amostra incubada dependeu de seu teor de compostos nitrogenados (N), pois o resíduo da incubação ruminal deveria conter, no mínimo, 60 mg de N. Após incubação ruminal, os sacos foram lavados com água corrente até que a água de enxágüe se tornasse clara. Em seguida, foram colocados em estufa de ventilação forçada durante 72 horas a 55°C. Após secagem, as amostras de cada alimento foram misturadas para dar origem a amostras compostas nas quais foram determinados os teores de MS e nitrogênio, conforme descrito pela AOAC (1980). Seqüencialmente, foi avaliada a digestibilidade intestinal verdadeira dos alimentos submetidos apenas à digestão com pancreatina ou com pepsina e pancreatina, precedida ou não da incubação ruminal.

Para estimar a digestibilidade intestinal verdadeira, após a incubação no rúmen, quantidades de resíduo contendo 15 mg de nitrogênio foram transferidas para tubos de vidro de 30 mL. Em seguida, os resíduos foram incubados por 1 hora (a 38°C) em uma solução HCL 0,1 N contendo 3 g de pepsina/L (Sigma P 7000, Sigma) a um pH constante de 1,9. Após a incubação com pepsina, foram adicionados 0,5 mL de uma solução 1 N de NaOH para neutralizar o pH e 13,5 mL de outra solução com pH de 7,8 contendo 0,5 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 50 ppm de timol e 6g/L de pancreatina (Sigma P1500, Sigma). As amostras foram agitadas em agitador vortex e incubadas em banho-maria por 24 horas a 38°C, com agitação a cada 8 horas. Após incubação, foram adicionados 3 mL de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) (1:1) para interromper a ação enzimática e precipitar a proteína indigestível. Os tubos foram novamente agitados e

permaneceram em repouso por 15 minutos. Aliquotas de aproximadamente 10 mL foram transferidas para tubos de centrífuga a 5.500 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi analisado quanto ao teor de N solúvel em TCA, pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980).

A digestibilidade intestinal verdadeira (DIV) da proteína dietética ou da amostra incubada previamente no rúmen foi calculada da seguinte forma:

$$\text{DIV (\%)} = \frac{(\text{N solúvel em TCA})}{(\text{N total incubado})} \times 100$$

O delineamento adotado foi inteiramente ao acaso, com análise de contrastes ortogonais (alimentos incubados *versus* alimentos *in natura* e alimentos incubados com pepsina e pancreatina *versus* alimentos incubados somente com pancreatina), realizadas por meio do programa SAS. Diferenças estatísticas foram consideradas a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

O maior e o menor valor encontrado para a proteína degradável no rúmen (PDR) foram 95,1 e 16,5% para o girassol e o farelo de glúten de milho, respectivamente (Tabela 1). O valor observado para o farelo de glúten de milho foi inferior aos estimados por Erasmus et al. (1994), de 18,6%, e Cabral et al. (2001), de 18,0%.

O farelo de soja apresentou acentuada degradação ruminal, com 78,5% de PDR, mesmo comportamento observado para o grão de milho 2,5 (77,9%) e 4,5 mm (73,0%), cujas degradações ruminais da proteína.

Os valores para a degradação ruminal da PB do farelo de soja descritos na literatura apresentam grande variação, sendo encontrados valores de 67,0% (De Boer et al., 1987), 46,2% (Erasmus et al., 1994), 59,8% (Ramos et al., 1996) e 50,9% (Cabral et al., 2001), provavelmente em virtude das variações entre fontes e tipo de processamento dos farelos.

Os grãos de soja 1,5 e 2,5 mm apresentaram alta degradação ruminal, comprovando que, em dietas nas quais são utilizadas, devem ser fornecidas também fontes energéticas de rápida fermentação para que não haja perda de proteína.

A estimativa da digestibilidade intestinal verdadeira da proteína não-degradável no rúmen (PNDR) para os alimentos pesquisados esteve entre 54,7% para o girassol e 95,6% para o grão de milho 4,5 mm. O farelo de soja, o triticale e o farelo de girassol apresentaram elevada digestibilidade intestinal da PNDR.

A farinha de penas, embora tenha sido a fonte de proteína de origem animal de mais baixa degradação ruminal (27,86%), apresentou valor de digestibilidade intestinal da

Tabela 1 - Teores de PB, PDR e PNDR após 16 horas de incubação ruminal, digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR (DIV) e proteína não-degradada no rúmen digestível no intestino delgado (PNDR<sub>D</sub>) dos concentrados protéicos de origem animal e de origem vegetal e nos concentrados energéticos

Table 1 - Contents of CP, RDP, and RUP after 16 hours of ruminal incubation, true intestinal digestibility (TID) of RUP, and intestine digestible RUP (RUP<sub>D</sub>) of animal and vegetable protein concentrate, and energy concentrate

Alimento Feed	PB (%MS) CP (%DM)	PDR (%PB) RDP (%CP)	PNDR (%PB) RUP (%CP)	DIV (%PNDR) TID (%RUP)	PNDR <sub>D</sub> (g/kg MS) RUP <sub>D</sub> (g/kg DM)
Concentrado protéico de origem animal <i>Animal protein concentrate</i>					
Farinha de carne ( <i>Meat meal</i> )	48,28	61,28	38,72	68,54	128,13
Farinha de peixe ( <i>Fish meal</i> )	64,51	68,45	31,55	73,15	148,85
Farinha de hidrolizada penas ( <i>Hydrolyzed feather meal</i> )	77,52	27,86	72,14	68,20	381,39
Farinha de vísceras de aves ( <i>Poultry by-product meal</i> )	57,95	54,56	45,44	79,92	210,46
Concentrado protéico de origem vegetal <i>Vegetal protein concentrate</i>					
Caroço de algodão ( <i>Whole cottonseed</i> )	23,51	89,79	10,21	64,13	15,39
Farelo de soja ( <i>Soybean meal</i> )	50,59	78,50	21,50	91,50	99,51
Farelo de girassol ( <i>Sunflower meal</i> )	29,21	89,56	10,44	86,07	26,25
Farelo de glúten de milho ( <i>Corn gluten meal</i> )	58,55	16,50	83,50	62,69	336,19
Girassol ( <i>Sunflower</i> )	15,00	95,13	4,87	54,67	3,99
Grão de soja-peneira 1,5 mm ( <i>1.5-mm screen whole soybean</i> )	30,76	86,48	13,52	58,10	24,16
Grão de soja-peneira 2,5 mm ( <i>2.5-mm screen whole soybean</i> )	29,60	88,26	11,74	68,61	23,85
Concentrado energético <i>Energy concentrate</i>					
Aveia branca ( <i>White oat</i> )	17,04	91,88	8,12	57,39	7,94
Aveia preta ( <i>Black oat</i> )	19,64	95,01	4,99	56,36	5,53
Farelo de trigo ( <i>Wheat bran</i> )	18,01	92,39	7,61	63,47	8,70
Grão de milho-peneira 2,5 mm ( <i>2.5-mm screen corn grain</i> )	9,37	77,85	22,15	79,29	16,45
Grão de milho-peneira 4,5 mm ( <i>4.5-mm screen corn grain</i> )	8,97	72,95	27,05	95,64	23,20
Polpa cítrica ( <i>Citrus pulp</i> )	5,92	69,01	30,99	66,72	12,24
Sorgo ( <i>Sorghum</i> )	8,82	56,29	43,71	86,14	33,20
Triticale	16,61	93,99	6,01	77,44	7,73

PNDR de 68,20%, próximo ao dos demais alimentos de origem animal e dos obtidos por Calsamiglia & Stern (1995), que encontraram coeficiente de digestibilidade intestinal da PNDR de 69,5% para esta fonte.

O valor de digestibilidade intestinal verdadeira da proteína encontrado para o farelo de glúten de milho (62,7%) foi inferior aos obtidos por Erasmus et al. (1994), de 79,8%; Calsamiglia & Stern (1995), de 89,7%; e Cabral et al. (2001), de 83,5%.

O farelo de soja apresentou digestibilidade intestinal verdadeira de 91,5%, acima dos valores verificados por Calsamiglia & Stern (1995), de 89,8%, e Cabral et al. (2001), de 82,7%, utilizando a técnica dos três estádios. Porém, o resultado estimado neste estudo foi inferior ao valor de digestibilidade intestinal do farelo de soja (99,3%) relatado por De Boer et al. (1987) e Ramos et al. (1994), de 97,2%, ambos utilizando a técnica do saco de náilon móvel. As variações verificadas para os valores de digestibilidade da proteína podem ser atribuídas aos diferentes métodos de avaliação dos alimentos e ao efeito da fermentação microbiana no intestino grosso, que não ocorre nas determinações *in vitro*.

Entre os resíduos fibrosos e os volumosos estudados, o maior e o menor valor para PDR foram encontrados para o feno de alfafa e a casca de café tostada, de 91,3 e 35,9%, respectivamente (Tabela 2). O baixo valor de PDR observado para a casca de café torrada pode ser atribuído ao alto teor de NIDA neste resíduo (Souza et al., 2005).

Os volumosos estudados, como a silagem de rama de mandioca, o milheto, o feno de aveia e o feno de alfafa, apresentaram alta degradação ruminal, com exceção do feno de tifton, que apresentou degradação ruminal de 37,80%. O valor encontrado para degradação ruminal (65,6%) do feno de alfafa foi inferior ao descrito por De Boer et al. (1987), de 83,6%, e superior ao relatado por Erasmus et al. (1994), de 50,1%. A estimativa da digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR para os alimentos volumosos (Tabela 2) esteve entre 39,94% para a silagem de rama de mandioca e 91,0% para o feno de alfafa.

Entre os resíduos fibrosos, o menor valor de digestibilidade intestinal verdadeira da proteína foi o da casca de café tostada (15,80%), provavelmente por ter sofrido, no momento do processamento, aquecimento

Tabela 2 - Teores de PB, PDR e PNDR após 16 horas de incubação ruminal, digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR (DIV) e proteína não-degradada no rúmen digestível no intestino delgado (PNDR<sub>D</sub>) dos resíduos fibrosos e volumososTable 2 - Contents of CP, RDP, and RUP after 16 hours of ruminal incubation, true intestinal digestibility (TID) of RUP, and intestine digestible RUP (RUP<sub>D</sub>) of fiber by-products and roughage

Alimento <i>Feed</i>	PB (%MS) <i>CP (%DM)</i>	PDR (%PB) <i>RDP (%CP)</i>	PNDR (%PB) <i>RUP (%CP)</i>	DIV (%PNDR) <i>TID (%RUP)</i>	PNDR <sub>D</sub> (g/kg MS) <i>RUP<sub>D</sub> (g/kg DM)</i>
Resíduo de agro-indústria <i>Fiber by-products</i>					
Casca de café melosa ( <i>Raw coffee hulls</i> )	8,84	84,36	15,64	33,48	4,63
Casca de café melosa tostada ( <i>Roasted raw coffee hulls</i> )	9,06	68,42	31,58	34,26	9,80
Milho ventilação ( <i>Corn by-product</i> )	8,91	65,29	34,71	63,43	19,61
Casca de café ( <i>Coffee hulls</i> )	6,29	68,16	31,84	30,93	6,19
Casca de café tostada ( <i>Roasted coffee hulls</i> )	7,03	35,91	64,09	15,80	7,12
Resíduo de farelo algodão ( <i>Whole cottonseed by-product</i> )	4,80	50,69	49,31	16,20	3,83
Volumoso <i>Forage</i>					
Feno de alfafa ( <i>Alfafa hay</i> )	25,91	65,58	34,42	91,03	81,18
Feno de aveia ( <i>Oat hay</i> )	24,57	91,25	8,75	86,89	18,68
Feno de tifton ( <i>Tifton hay</i> )	10,02	37,80	62,20	82,76	51,58
Milheto ( <i>Millet</i> )	13,79	68,12	31,88	75,94	33,39
Silagem de rama de mandioca ( <i>Cassava silage</i> )	21,33	50,51	49,49	39,94	42,16

elevado (>185°C), com a ocorrência da reação de Maillard, que complexa proteínas e carboidratos e diminui seu valor nutritivo. Entre os volumosos, o menor valor foi encontrado para a silagem de rama de mandioca (39,94%).

O valor de digestibilidade intestinal verdadeira obtido para o feno de alfafa (91,0%) foi muito superior ao sugerido por Erasmus et al. (1994), em estudo com a técnica de sacos de náilon (32,7%). Esse autor afirma que a baixa digestibilidade intestinal da PNDR verificada para as forragens pode estar relacionada ao intenso processo de fermentação decorrente da ação dos microrganismos no rúmen. Neste caso, a PNDR que passa para o intestino delgado pode estar associada à parede celular, apresentando baixa digestibilidade no trato gastro inferior. Segundo Van Straalen & Tamminga (1990), o mesmo não ocorre com os concentrados, pois, neste caso, a PNDR corresponde a uma fração de proteína não protegida pela parede celular.

A pré-incubação com pepsina, durante 1 hora, aumentou (P<0,0001) a digestibilidade intestinal dos alimentos *in natura*, exceto para o grão de milho 4,5 mm, o triticale e a aveia preta, que apresentaram maior digestibilidade quando submetidos somente à incubação com pancreatina (Tabela 3).

Os valores encontrados neste estudo para a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína do farelo de soja foram próximos aos observados por Calsamiglia & Stern (1995), que encontraram 95,9% para o farelo *in natura* e 89,8% para o farelo incubado no rúmen. Em estudo de digestão intestinal verdadeira da proteína em ruminantes por meio da técnica dos três estádios, esses autores obser-

varam aumento da digestibilidade da proteína para farinha de penas, farelo de glúten de milho e farelo de soja quando as amostras foram submetidas à pré-incubação com pepsina e não foram expostas à incubação no rúmen.

Neste experimento, a digestibilidade intestinal da proteína dos alimentos incubados no rúmen foi maior (P<0,0001) que a daqueles que sofreram pré-digestão com pepsina durante 1 hora, exceto a aveia branca e a aveia preta, demonstrando que a pré-incubação com pepsina pode alterar a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína.

A digestibilidade intestinal verdadeira da proteína dos alimentos que sofreram 16 horas de incubação ruminal foi menor (P<0,001) que a das amostras não incubadas no rúmen para a maioria dos alimentos estudados. Apenas o farelo de girassol não sofreu efeito significativo para o contraste entre os estados *in natura* e incubado. Os dados demonstrados acima comprovam que a não-incubação no rúmen provoca superestimativa dos valores de digestibilidade intestinal da proteína.

Neste experimento, a digestibilidade intestinal da proteína foi menor para os grãos de soja e de milho com granulometria menor, provavelmente em virtude da maior presença de restos vegetais de baixo valor nutritivo, ausentes nos grãos de maior tamanho, o que foi identificado visualmente no manuseio desses alimentos.

Os alimentos protéicos de origem animal apresentaram média da digestibilidade intestinal verdadeira da proteína de 72,4%, destacando-se a farinha de vísceras de aves, com 79,9%. Entre os alimentos protéicos de origem

Tabela 3 - Digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR de alimentos protéicos de origem animal, de origem vegetal e energéticos submetidos à pré-incubação ruminal e à digestão com pepsina

Table 3 - True intestinal digestibility of RUP of animal protein concentrate, vegetal protein concentrate and energy concentrate submitted to ruminal pre-incubation and pepsin digestion

	Alimento <i>Feed</i>				Efeito <i>Effect</i>	
	Alimento <i>in natura</i> <i>In natura feed</i>		Alimento incubado <i>Incubated feed</i>		Inc x Innat <sup>3</sup>	Pep/Pn x Pn <sup>4</sup>
	Pep./Pancr. <sup>1</sup>	Pancr. <sup>2</sup>	Pep./Pancr. <sup>1</sup>	Pancr. <sup>2</sup>		
Concentrado protéico de origem animal <i>Animal protein concentrate</i>						
Farinha de carne ( <i>Meat meal</i> )	95,31	72,01	68,54	62,28	< 0,0001	< 0,0001
Farinha de peixe ( <i>Fish meal</i> )	90,71	78,44	79,92	56,83	< 0,0001	< 0,0001
Farinha de penas ( <i>Feather meal</i> )	42,52	20,83	68,04	30,80	< 0,0001	< 0,0001
Farinha de vísceras de aves ( <i>Poultry by-product meal</i> )	94,53	89,61	73,15	74,85	< 0,0001	< 0,0001
Concentrado protéico de origem vegetal <i>Vegetal protein concentrate</i>						
Caroço de algodão ( <i>Whole cottonseed</i> )	92,03	66,83	64,13	29,12	< 0,0001	< 0,0001
Farelo de soja ( <i>Soybean meal</i> )	93,53	83,16	91,50	72,48	< 0,0001	< 0,0001
Farelo de girassol ( <i>Sunflower meal</i> )	89,79	68,16	86,07	71,75	0,2635	< 0,0001
Farelo de glúten de milho ( <i>Corn gluten meal</i> )	76,14	58,21	62,69	40,83	< 0,0001	< 0,0001
Girassol ( <i>Sunflower</i> )	87,67	58,79	54,67	-	< 0,0001	< 0,0001
Grão de soja-peneira 1,5 mm ( <i>1.5-mm screen soybean meal</i> )	65,56	48,65	58,10	40,36	< 0,0001	< 0,0001
Grão de soja-peneira 2,5 mm ( <i>2.5-mm screen soybean meal</i> )	71,19	55,76	68,61	44,43	< 0,0001	< 0,0001
Concentrado energético <i>Energy concentrate</i>						
Aveia branca ( <i>White oat</i> )	93,41	75,22	57,39	69,73	< 0,0001	< 0,0001
Aveia preta ( <i>Black oat</i> )	29,33	56,47	56,36	72,55	< 0,0001	< 0,0001
Farelo de trigo ( <i>Wheat bran</i> )	87,71	84,85	63,47	55,26	< 0,0001	< 0,0001
Grão de milho-peneira 2,5 mm ( <i>2.5-mm screen corn grain</i> )	68,60	39,27	79,29	67,74	< 0,0001	< 0,0001
Grão de milho-peneira 4,5 mm ( <i>4.5-mm screen corn grain</i> )	69,94	82,35	95,64	20,78	< 0,0001	< 0,0001
Polpa cítrica ( <i>Citrus pulp</i> )	87,55	78,96	66,78	43,12	< 0,0001	< 0,0001
Sorgo ( <i>Sorghum</i> )	66,73	64,55	86,14	12,80	< 0,0001	< 0,0001
Triticale	91,78	97,06	77,44	38,79	< 0,0001	< 0,0001

<sup>1</sup> Incubação com pepsina + pancreatina.<sup>2</sup> Incubação com pancreatina.<sup>3</sup> Contraste incubado × *in natura*.<sup>4</sup> Contraste pepsina mais pancreatina × pancreatin.<sup>1</sup> Incubation with pepsin and pancreatin.<sup>2</sup> Incubation with pancreatin<sup>3</sup> Contrast incubated × *in natura*.<sup>4</sup> Contrast pepsin and pancreatin × pancreatin.

vegetal, os maiores valores de digestibilidade intestinal verdadeira foram dos farelos de soja (91,5%) e girassol (86,1%), enquanto a média foi de 69,4% para os alimentos deste grupo.

A média da digestibilidade intestinal verdadeira da proteína para os alimentos energéticos foi de 72,8%, com 79,3% para o grão de milho 2,5 mm e de 95,6% para o de 4,5 mm. Os alimentos que apresentaram menores valores de digestibilidade intestinal verdadeira foram os resíduos fibrosos, com média de 32,4%, sendo que a casca de café tostada apresentou o menor valor (15,8%) (Tabela 4).

Nos alimentos volumosos, a pré-digestão ruminal das amostras maximizou significativamente ( $P < 0,0001$ )

a taxa de digestão intestinal da proteína quando as amostras foram digeridas com pepsina + pancreatina, à exceção da silagem de rama de mandioca, que apresentou menor valor (40,32%). O contraste entre os alimentos *in natura* e incubados teve efeito significativo ( $P < 0,001$ ), demonstrando que a incubação ruminal diminuiu a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína na maioria dos alimentos estudados.

Embora os sistemas para formulação de dietas considerem que a PNDR apresenta digestibilidade intestinal constante, os resultados encontrados neste estudo indicam o contrário, fato a ser considerado durante a escolha de fontes de PNDR e a formulação de dietas.

Tabela 4 - Digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR dos resíduos fibrosos e dos volumosos submetidos à pré-incubação ruminal e à digestão com pepsina

Table 4 - True intestinal digestibility of RUP of fiber by-products and roughage submitted to ruminal pre-incubation and pepsin digestion

	Alimento					
	Feed				Efeito	
	Alimento <i>in natura</i>		Alimento incubado			
Pep./Pancr. <sup>1</sup>	Pancr. <sup>2</sup>	Pep./Pancr. <sup>1</sup>	Pancr. <sup>2</sup>	Inc x Innat <sup>3</sup>	Pep/Pn x Pn <sup>4</sup>	
Resíduo de agro-indústria						
<i>Fiber by-product</i>						
Casca de café melosa ( <i>Raw coffee hulls</i> )	65,08	69,08	33,48	19,68	< 0,0001	< 0,0001
Casca de café melosa tostada ( <i>Roasted raw coffee hulls</i> )	80,12	68,85	34,26	21,48	< 0,0001	< 0,0001
Milho ventilação ( <i>Corn by-product</i> )	66,78	68,10	63,43	52,75	< 0,0001	< 0,0001
Casca de café ( <i>Coffee hulls</i> )	80,92	57,31	30,93	18,76	< 0,0001	< 0,0001
Casca de café tostada ( <i>Roasted coffee hulls</i> )	54,06	37,29	15,80	5,80	< 0,0001	< 0,0001
Resíduo de farelo algodão ( <i>Whole cottonseed by-product</i> )	58,01	50,64	16,20	18,05	< 0,0001	< 0,0001
Volumoso						
<i>Forage</i>						
Feno de alfafa ( <i>Alfafa hay</i> )	90,68	77,87	90,72	66,22	< 0,0001	< 0,0001
Feno de aveia ( <i>Oat hay</i> )	42,21	29,61	84,42	28,49	< 0,0001	< 0,0001
Feno de tifton ( <i>Tifton hay</i> )	78,14	52,64	83,16	57,75	< 0,0001	< 0,0001
Milheto ( <i>Millet</i> )	64,10	49,35	75,60	35,42	< 0,0001	< 0,0001
Silagem de rama de mandioca ( <i>Cassava silage</i> )	56,28	41,67	40,32	16,17	< 0,0001	< 0,0001

<sup>1</sup> Incubação com pepsina + pancreatina.<sup>2</sup> Incubação com pancreatina.<sup>3</sup> Contraste incubado × *in natura*.<sup>4</sup> Contraste pepsina mais pancreatina × pancreatina.<sup>1</sup> Incubation with pepsin and pancreatin.<sup>2</sup> Incubation with pancreatin<sup>3</sup> Contrast incubated × *in natura*.<sup>4</sup> Contrast pepsin and pancreatin × pancreatin.

## Conclusões

A incubação no rúmen diminuiu e a utilização da pepsina aumentou a digestibilidade intestinal verdadeira da proteína da maioria dos alimentos, indicando que a técnica dos três estádios é a mais eficiente para se reproduzir as verdadeiras condições fisiológicas verificadas nos animais e determinar a digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR. A eliminação de alguma destas fases poderia resultar na superestimação ou subestimação da digestibilidade intestinal verdadeira da PNDR.

A digestibilidade intestinal dos diferentes alimentos utilizados na alimentação de ruminantes é variável, tanto entre alimentos de diferentes classes como entre alimentos de mesma classe.

## Literatura Citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. Characterization of feedstuffs: nitrogen. **Nutrition Abstract Review B**, v.57, n.12, p.713-736, 1987.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 13.ed. Washington, D.C.: 1980. 947p.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. **The nutrient requirements of ruminants**. London: CAB International, 1984. 351p.

BOHNERT, D.W.; LARSON, B.T.; BAUER, M.L. et al. Nutritional evaluation of poultry by-product meal as a protein source for ruminants: effects on performance and nutrient flow and disappearance in steers. **Journal Animal Science**, v.76, n.9, p.2474-2484, 1998.

BRITTON, R.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; CLEALE, R. et al. Methods of estimating heat damage in protein sources. In: PROCEEDINGS DISTILLERS FEED CONFERENCE, 41., 1986, Cincinnati. **Proceedings...** Cincinnati: 1986. p.67.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Estimação da digestibilidade intestinal da proteína de alimentos por intermédio da técnica dos três estágios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.546-552, 2001.

CAIELLI, E.L. Uso da casca de palha de café na alimentação de ruminantes. **Informe Agropecuário**, ano 10, n.119, p.36-38, 1984.

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.73, n.5, p.1459-1465, 1995.

DE BOER, G.; MURPH, J.J.; KENNELLY, J.J. Mobile nylon bag for estimating intestinal availability of rumen undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v.70, n.5, p.977-982, 1997.

ERASMUS, L.J.; BOTHA, P.M.; CRUYWAGEN, C.W. Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen-undegradable protein from various feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.2, p.541-551, 1994.

- FALDET, M.A.; SATTER, L.D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.9, p.3047-3058, 1991.
- GOERING, H.K.; GORDON, C.H.; HEMKEN, R.W. et al. Analytical estimates of nitrogen digestibility in heat damage forages. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.4, p.1275-1284, 1972.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R.; ANDERSEN, L.S. Estimation of the true digestibility of rumen undegraded dietary protein in the small intestine of ruminants by the mobile bag technique. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v.42, n.1, p.34-39, 1992.
- KRISHNAMOORTHY, U.; MUSCATO, T.S.; SNIFFEN, C.J. et al. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.1, p.217-225, 1982.
- LOERCH, S.C.; BERGER, L.L.; PLEGGE, S.D. et al. Digestibility and rumen escape of soybean meal, blood meal, meat and bone meal and dehydrated alfalfa nitrogen. **Journal of Animal Science**, v.57, n.4, p.1037-1047, 1983.
- NKJ. Introduction of the Nordic protein evaluation system for ruminants into practice and further research requirements. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v.25, p.216-220, 1995 (suppl.).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 405p.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2051-2069, 1988.
- RAMOS, S.M.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Utilização da técnica do saco de nylon móvel para a determinação da digestibilidade intestinal de vários alimentos, em novilhos cecectomizados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.4, p.778-793, 1996.
- SCHWAB, C.G. Amino acid nutrition of dairy cow: current status. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 1996, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1996. p.184-198.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 166p.
- SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2496-2504, 2005.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476p.
- Van STRAALLEN, W.M.; TAMMINGA, S. Protein degradation of ruminant diets. In: WISEMAN, J.; COLE, D.J.A. (Eds.). **Feedstuffs evaluation**. London: Butterworths, 1990. p.55-72.
- VERITE, R.; PEYRAUD, J.L. Protein: The PDI system. In: JARRIGE, R. (Ed.) **Ruminant nutrition**. Paris: INRA, 1989. p.33-47.

---

Recebido: 30/11/04  
Aprovado: 15/03/06