



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA NOS
TRÓPICOS**

CAMILA CUNHA DA SILVA

**EXTRATO DO CAROÇO DO AÇAÍ COMO POTENCIAL MODULADOR DA
FERMENTAÇÃO RUMINAL**

**PARAUAPEBAS
2024**

CAMILA CUNHA DA SILVA

**EXTRATO DO CAROÇO DO AÇAÍ COMO POTENCIAL MODULADOR DA
FERMENTAÇÃO RUMINAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e à Universidade Federal do Norte do Tocantins como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos (PPGIZT) para obtenção do título de mestre.

Linha de pesquisa: Tecnologias para a produção animal no Bioma Amazônia

Orientador: Prof. Dr. Rafael Mezzomo

Co-orientadora: Dr. Sheila Vilarindo

**PARAUAPEBAS
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586e Silva, Camila Cunha da Silva
Extrato do caroço do açaí como potencial modulador da fermentação ruminal / Camila Cunha da Silva
Silva. - 2024.
48 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Produção Animal na AMAZÔNIA
(PPGPAA), Campus Universitário de Parauapebas, Universidade Federal Rural Da Amazônia,
Parauapebas, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Mezzomo Mezzomo
Coorientador: Profa. Dra. Sheila Vilarindo de Sousa.

1. Extrato de plantas. 2. Sustentabilidade. 3. Resíduo industrial. 4. Ruminantes. 5. Compostos fenólicos.
I. Mezzomo, Rafael Mezzomo, *orient.* II. Título

CDD 636.0852

CAMILA CUNHA DA SILVA

**EXTRATO DO CAROÇO DE AÇAÍ COMO POTENCIAL MODULADOR DA
FERMENTAÇÃO RUMINAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Norte do Tocantins e à Universidade Federal Rural da Amazônia como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos (PPGIZT) para obtenção do título de mestre. Área de pesquisa: Tecnologia na produção animal.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Mezzomo.



Aprovado em 29 de janeiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. D.Sc. Rafael Mezzomo - Presidente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof^{ca}. D. Sc. Gabriela de Jesus Coelho - 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. D.Sc. Raylon Pereira Maciel - 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. D. Sc. Pedro Del Bianco Benedeti - 3º Examinador
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA

LISTA DE ABREVIATURAS

ECA	Extrato do caroço de açaí
DIVMS	Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
FDN	Fibra em detergente neutro
N	Nitrogênio
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal ruminal
PB	Proteína bruta
V:C	Volumoso e concentrado

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição química do caroço de açaí.	16
Tabela 2- Composição de monossacarídeos (glicose, xilose, galactose, arabinose e manose), polissacarídeos totais, lignina e extrativos de sementes de açaí em amostras naturais coletadas no inverno	17
Tabela 3- Perfil de ácidos graxos do extrato do caroço do açaí	17
Tabela 4- Identificação e quantificação de compostos fenólicos em extrato de caroços de <i>Euterpe oleracea</i> (média±SD).....	18
Tabela 1- Composição química dos substratos e do extrato do caroço do açaí.....	33
Tabela 2- Concentrações médias de nitrogênio amoniacal (mg/dL), dos ácidos acéticos, propiônico, butírico e dos ácidos graxos voláteis totais (AGV total), expressas em Mmol, e relação acetato:propionato após 24 horas de incubação sob diferentes doses de extrato do caroço de açaí como aditivo modulador da fermentação ruminal (mg de ECA/g de substrato).....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria seca.....	37
---	----

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela sua bondade e misericórdia em me sustentar até aqui.

Ao meu esposo CASSIANO, que não mediu esforços em me ajudar desde a seleção. Sempre ao meu lado quer fosse de corpo presente ou via internet. Fostes essencial neste percurso, seu incentivo e apoio me deram forças quando eu pensei em desistir. Minha gratidão!

Ao meu querido orientador RAFAEL MEZZOMO, obrigada por acreditar em mim e ser tão paciente. Com toda certeza, é o melhor orientador do mundo!

À minha família, em especial aos meus pais MARIA DE JESUS E MARCI, vocês são meus alicerces e inspiração. Obrigada por sonharem comigo e me incentivarem a ir além.

À minha irmã WENDRIA e ao meu cunhado BERNARD que me deram total apoio desde a seleção.

À minha querida SHEILA VILARINDO que me deu abrigo e me carregou no colo muitas vezes. São incontáveis as vezes que me viu chorar. rrsrrs. Sua ajuda foi essencial, sem você eu não conseguiria. A levarei sempre comigo, este trabalho também tem uma essência sua.

À minha querida GABRIELA COELHO, que me foi essencial também, obrigada, obrigada. Sem você seria bem mais difícil. Sempre a minha disposição, sempre tão paciente. Obrigada por fazer dos meus choros, sorrisos. Incontáveis choros e incontáveis sorrisos, você é ótima.

Aos meus queridos colaboradores da graduação, HANITA, JOSÉ, LETICIA, VICTÓRIA. Em especial FLÁVIO, não tenho palavras para expressar minha gratidão, muito, muito obrigada, você me salvou tantas vezes. Me foi um presente de Deus nesta jornada.

Aos meus colegas da pós-graduação: CLAÚDIA, POLIANA, CLEITON, CAIO, RAYTANE tivemos bons momentos na sala da pós, boas risadas e bons lanches.

Aos professores que fizeram parte deste processo, transmitindo seus conhecimentos.

Ao TIAGO, técnico do laboratório, muito obrigada por todo cuidado e ajuda.

À minha querida UFRA-CAMPUS DE PARAUAPEBAS que foi “minha casa” durante a graduação e também no mestrado.

A INTERGRÃOS, por nos apoiar nesse projeto e por apostar no desenvolvimento da ciência Paraense.

In memoriam ao professor Luciano Fernandes Sousa que contribuiu grandemente em minha banca de qualificação.

Todos vocês foram essenciais!

Minha gratidão!

RESUMO

Alguns extratos de plantas têm sido considerados promissores como aditivos para modular a fermentação ruminal. As pesquisas quanto a ação dos seus compostos bioativos foram impulsionadas pela decisão da União Europeia que proibiu o uso rotineiro de antibióticos ionóforos na alimentação animal. O caroço do açaí é um resíduo gerado após o processamento do fruto para extração da polpa, seu descarte corresponde a cerca de 60 a 85% do fruto e sua utilização comercial ainda é limitada, resultando em um acúmulo desse resíduo. A fim de reduzir o resíduo gerado pelo processamento da polpa do açaí, novas aplicações ao seu caroço são almejadas. Para tal, estudos demonstram que o caroço contém uma quantidade considerável de compostos bioativos, como polifenóis, que apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, apresentando potencial para a aplicabilidade na produção animal. O extrato do caroço do açaí (ECA) possui maior concentração de polifenóis que o fruto e a casca (28,3%), apresentando maior capacidade antioxidante que a própria polpa. Estes resultados evidenciam que a parte com maior teor de compostos bioativos está sendo desprezada e descartado pela indústria. Visto isso, objetivou-se avaliar os efeitos do extrato do caroço de açaí sobre a digestibilidade e parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* em diferentes condições dietéticas. Foram conduzidos três experimentos utilizando diferentes relações de volumoso:concentrado (v:c) (90:10; 50:50 e 20:80). Para cada experimento, foram avaliadas quatro doses do ECA, sendo: 0, 0,3, 3 e 30 mg de ECA/g de substrato. Em cada experimento foram incubados, por 6, 12 e 24 horas, amostras em 144 frascos em estufa a 39°C. Foram realizadas análises para determinar a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) e nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃). Para o substrato v:c 90:10, no tempo de incubação 12 e 24 horas, a inclusão do ECA na dosagem de 0,3 mg/g apresentou menor DIVMS ($p < 0,05$) quando comparado ao tratamento controle. Para o substrato v:c 50:50, no tempo de incubação 12 horas, as maiores dosagens (3 e 30 mg/g) apresentaram maior DIVMS, comparando-se ao tratamento sem ECA e à dose 0,3 mg/g de ECA. Para o substrato v:c 20:80, nos tempos de incubação 12 e 24 horas as dosagens 3 e 30 mg/g apresentaram maiores DIVMS. Quanto à concentração de N-NH₃, para o substrato v:c 90:10; 50:50 e 20:80 em 24 horas de incubação, a inclusão do extrato não apresentou diferenças significativas para a concentração de N-NH₃. Para o substrato 90:10 a dose de 3 mg de ECA/g de substrato foi menor para a relação acetato:propionato. A inclusão do ECA apresenta efeitos negativos sobre a DIVMS quando a dieta simulada apresenta alto teor de fibra como evidenciado na dieta com relação volumoso: concentrado 90:10. Ao contrário, a dietas com alto teor de concentrado, a inclusão de 3 e 30 mg de ECA/g de substrato melhora a DIVMS, indicando que seus efeitos podem ser positivos, como evidenciado na dieta com relação volumoso: concentrado 20:80.

Palavras-chave: Extrato de plantas. Sustentabilidade. Resíduo industrial. Ruminantes. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

Some plant extracts have been considered promising as additives for ruminal modular fermentation. Research into the action of its bioactive compounds was driven by the decision of the European Union that banned the routine use of antibiotics in animal feed, among which the ionophore antibiotics that are the most widespread on the market are included. The açai seed is a residue generated after processing the fruit for pulp inheritance, its waste corresponds to about 60 to 85% of the fruit and its commercial use is still limited, resulting in an exorbitant excess of this residue. In order to reduce the waste generated by the processing of açai pulp, new applications for its seed are sought. To this end, studies have shown that the seed contains a considerable amount of bioactive compounds, such as polyphenols, which have antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties, with potential for applicability in animal production. The açai seed extract (ASE) has a higher concentration of polyphenols than the fruit and the bark (28,3%), with a greater antioxidant capacity than the pulp itself. These results show that the part with the highest content of bioactive compounds is being neglected and discarded by the industry. Given this, the objective was to evaluate the effects of açai seed extract on in vitro digestibility and in vitro rumen fermentation parameters under different dietary conditions. Three experiments were carried out using different roughage:concentrate (r:c) ratios (90:10; 50:50 and 20:80). For each experiment, four doses of ASE were evaluated, namely: 0, 0.3, 3 and 30 mg of ASE/g of substrate. In each experiment, 144 flasks were incubated for 6, 12 and 24 hours in an oven at 39°C. Analyzes were performed to determine in vitro dry matter degradability (IVDMD), volatile fatty acid (VFA) and ruminal ammoniacal nitrogen (N-NH₃) concentrations. For substrate r:c - 90:10, at 12 and 24 hours of incubation, the inclusion of ASE at a dosage of 0.3 mg/g showed lower IVDMD ($p<0.05$) when compared to the control treatment. For the r:c - 50:50 substrate, at a 12-hour incubation time, the highest dosages (3 and 30 mg/g) showed higher IVDMD, compared to the treatment without ASE and to the 0.3 mg/g dose of ASE. For the substrate r:c - 20:80, in the incubation times of 12 and 24 hours, dosages 3 and 30 mg/g showed higher IVDMD. Regarding the concentration of N-NH₃, for the substrate r:c – 90:10; 50:50 and 20:80 in 24 hours of incubation, the inclusion of the extract did not show significant differences for the concentration of N-NH₃. For the 90:10 substrate, the dose of 3 mg ASE/g substrate was lower for the acetate:propionate ratio. The inclusion of ASE has negative effects on IVDMD when the simulated diet has a high fiber content as evidenced in the 90:10 r:c ratio. On the contrary, with high concentrate content (r:c 20:80) the inclusion of 3 and 30 mg of ASE/g of substrate improves IVDMD, indicating that its effects can be positive in diets with high concentrate content.

Keywords: Plant extract. Sustainability. Industrial waste. Ruminants. Phenolic compounds.

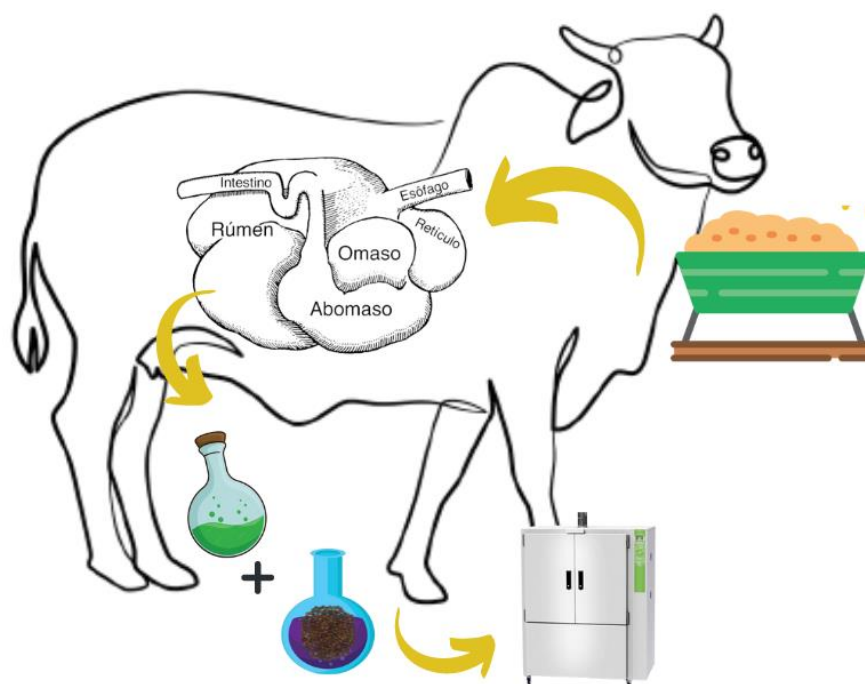
RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO

EXTRATO DO CAROÇO DO AÇAÍ COMO POTENCIAL MODULADOR DA FERMENTAÇÃO RUMINAL

Elaborado por **Camila Cunha da Silva** e orientado por **Rafael Mezzomo** e **Sheila Vilarindo de Sousa**

Existem evidências de que o caroço de açaí contém compostos bioquímicos que possuem potencial antimicrobiano seletivo, levando a acreditar que o extrato do caroço de açaí pode ser uma alternativa interessante com a capacidade de modular a fermentação ruminal, visando seletividade de comunidades microbianas ruminais específicas. Visando responder a isso, um bovino fistulado no rúmen e dois animais sem fistula foram alimentados por 14 dias com diferentes relações de volumoso:concentrado. Foram realizados 3 experimentos nos quais as relações de volumoso e concentrado testadas foram: experimento I: 90% de volumoso e 10% de concentrado; experimento II: 50% de volumoso e 50% de concentrado e no experimento III: 20% de volumoso e 80% de concentrado. Durante o período experimental foram realizadas coletas de líquido ruminal para incubação *in vitro* juntamente ao extrato do caroço do açaí em estufa de circulação forçada de ar. Amostras foram coletadas para análises de degradabilidade *in vitro* da matéria seca, concentração de nitrogênio amoniacal ruminal e dos ácidos graxos voláteis em diferentes horários de incubação. Observou-se que a inclusão do extrato do caroço do açaí apresenta efeitos negativos sobre a degradabilidade *in vitro* da matéria seca quando a dieta simulada apresenta alto teor de fibra como evidenciado na relação volumoso:concentrado 90:10. Ao contrário, com alto teor de concentrado (relação volumoso:concentrado 20:80) que melhora a degradabilidade, sem alterar a concentração de ácidos graxos voláteis, indicando que seus efeitos podem ser positivos em dietas com alto teor de concentrado.

Figura 1- Efeito do extrato do caroço do açaí sobre a degradabilidade *in vitro* da matéria seca, concentração de nitrogênio amoniacal ruminal e de ácidos graxos voláteis.



SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. EXTRATO DO CAROÇO DO AÇAÍ COMO POTENCIAL MODULADOR DA FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	11
RESUMO.....	11
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Modo de ação e potenciais resultados do principal modulador da fermentação ruminal utilizado no Brasil - Ionóforos	12
1.2 Composição física e química do caroço de açaí	15
1.3 Potencialidades do extrato do caroço do açaí para ruminantes	19
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 2. POTENCIALIDADES DO EXTRATO DO CAROÇO DO AÇAÍ SOBRE PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i>	29
RESUMO	29
2. INTRODUÇÃO	31
2.1 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1.1 Considerações éticas.....	32
2.1.2 Localização.....	32
2.1.3 Experimentos	32
2.3.3.1 Experimento 1 - Extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação v:c 90:10.....	32
2.3.3.2 Experimento 2 - Utilização do extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação v:c do substrato 50:50.	34
2.3.3.3 Experimento 3 - Utilização do extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação V:C do substrato 20:80.....	35
2.1.4 Análises estatísticas.....	35
2.2 RESULTADOS.....	36
2.2.1 Degradabilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca	36
2.2.2 Concentração de Nitrogênio Amônia Ruminal e dos ácidos graxos voláteis	37
2.3 DISCUSSÃO.....	39
2.4 CONCLUSÃO	44
2.5 REFERÊNCIAS	44

CAPÍTULO 1: Extrato do caroço do açaí e sua potencialidade como modulador da fermentação ruminal

Resumo: Objetivou-se apresentar os resultados relatados na literatura quanto à composição do caroço de açaí afim de fornecer subsídios ao seu potencial como modulador da fermentação ruminal. O principal objetivo do uso de aditivos é melhorar o aproveitamento dos nutrientes da ração pelos animais. Os aditivos ionóforos são os mais difundidos e utilizados na produção de ruminantes, porém, a sua classificação como antibiótico faz seu uso ser questionado. Precavendo uma possível resistência de cepas de bactérias aos antibióticos usados na medicina humana, temerosos por uma possível contaminação cruzada, a União Europeia restringiu o uso rotineiro de aditivos antibióticos na alimentação animal, os quais os antibióticos ionóforos estão inclusos. Tal decisão impulsionou a busca por substâncias com os mesmos benefícios dos ionóforos mas que não afetem a saúde humana. O caroço do açaí é um resíduo industrial que causa problemas ambientais e sociais devido ao descarte inadequado e a falta de aproveitamento após o processamento da polpa do açaí. Portanto, há uma grande demanda pelo desenvolvimento de formas de aproveitamento desses resíduos e sua utilização na alimentação animal. Até onde sabemos, não existem estudos relacionados ao uso do extrato do caroço de açaí como potencial modulador da fermentação ruminal. Porém existem evidências de que o caroço de açaí contém compostos bioquímicos que possuem potencial antimicrobiano seletivo, levando a acreditar que o extrato do caroço de açaí pode ser uma alternativa interessante com a capacidade de modular a fermentação ruminal, visando seletividade de comunidades microbianas ruminais específicas, sem causar resistência a outras cepas ou afetar a saúde humana. O extrato do caroço de açaí apresenta em sua composição química os compostos fenólicos proantocianidinas, presentes na forma monomérica (catequinas, epicatequinas) e na classe das procianidinas, estes compostos apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias. Com base nos componentes presentes no extrato do caroço de açaí e seus estudos na saúde humana e relatos da literatura do princípio ativo proantocianidina de outras espécies vegetais testadas como aditivo, há indícios de que o extrato de caroço de açaí tem potencial para modular a fermentação ruminal.

Palavras-chave: Extrato de plantas. Sustentabilidade. Resíduo industrial. Ruminantes. Compostos fenólico.

1 Introdução

Os principais fatores limitantes da eficiência alimentar de animais ruminantes são provenientes da qualidade e composição dos alimentos da dieta, da fermentação ruminal e da dinâmica que os microrganismos mediam nesse ambiente (HASSAN et al., 2020). O uso de aditivo alimentar como modulador da fermentação em animais ruminantes é uma estratégia dietética que favorece o ambiente ruminal através da modificação da sua microbiota por seletividade de comunidades de microrganismos ruminais específicos (DANIELI e SCHOGOR, 2020) com o objetivo principal de melhorar a utilização dos nutrientes consumidos pelos animais.

Nesse sentido, o uso de aditivos incluídos na dieta de ruminantes, que buscam melhora na eficiência alimentar, de modo geral, objetiva principalmente aumentar a formação de ácido propiônico (representa 50% da glicose sintetizada pelo fígado, sendo o maior precursor da gliconeogênese), diminuir a formação de metano (responsável pela perda de 2 % a 12% da energia do alimento) e reduzir a proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen (representativos de perda de nitrogênio da dieta) (YANG e RUSSELL, 1993; NICODEMO, 2001). Dentre vários aditivos utilizados com esse propósito, antibióticos como monensina, lasalocida, lenomicina, salinomicina, virginamicina e narasina são os mais utilizados (DANIELI e SCHOGOR, 2020).

Desde que a União Europeia (UE) restringiu o uso rotineiro de aditivos antibióticos na alimentação dos animais de criação (BAKOWSKI e KICZOROWSKA, 2021), a busca por compostos naturais como alternativa aos antimicrobianos sintéticos, com a capacidade de modular positivamente a fermentação ruminal, sem afetar a saúde humana tem sido cada vez mais almejado e visto como promissor. A justificativa dada pela UE é que o uso de antibiótico na alimentação animal pode possibilitar uma contaminação cruzada, acarretando maior probabilidade do surgimento de cepas resistentes de bactérias aos antibióticos usados na medicina humana. Apesar disso, não existem evidências claras quanto a resistência oriunda da contaminação cruzada, sendo necessário mais investigações (WONG, 2019).

Existem diversos estudos que demonstram o potencial de produtos naturais como moduladores da fermentação ruminal e redutores da produção de metano entérico, como por exemplo: óleo de alho, saponinas, leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e microalgas (*Spirulina platensis* e *Chlorella vulgaris*) (DEY et al., 2021; SINGH et al., 2020; RABEE et

al., 2022). No entanto, até onde sabemos não existem estudos relacionados ao uso do extrato do caroço de açaí como um potencial modulador da fermentação ruminal.

O caroço de açaí, apresenta alguns compostos bioquímicos, como procianidinas, catequinas e epicatequinas os quais, tem potencial antimicrobiano seletivo (MARTINS et al., 2020). Além disso, o caroço do açaí é um resíduo da indústria que causa problemas de ordem ambiental, devido ao seu descarte incorreto e falta de aproveitamento posterior ao processamento da polpa do açaí. Por isso, existe uma grande demanda pelo desenvolvimento de aproveitamento desse resíduo, bem como, a sua utilização na nutrição animal.

Portanto, acredita-se que o extrato do caroço do açaí pode ser uma alternativa interessante, com capacidade de modular a fermentação ruminal, através da seleção de comunidades de microrganismos ruminais específicos sem causar resistência com outras cepas ou afetar a saúde humana, proporcionando melhores índices produtivos dos animais ruminantes e ainda menor emissão do metano entérico. Visto isso, objetiva-se, a partir desta revisão abordar os resultados apresentados na literatura sobre o uso do caroço do açaí, esclarecer sua composição química com enfoque nos seus compostos bioativos e buscando evidências científicas de uma possível aplicação como aditivo alimentar no sistema de produção de animais ruminantes.

1.1 Modo de ação e potenciais resultados dos principais moduladores da fermentação ruminal utilizados no Brasil - Ionóforos

Antes de ser detalhado de forma específica as possibilidades do uso do caroço de açaí, acredita-se que é importante ser detalhado as características do principal modulador de fermentação ruminal utilizado no Brasil. Por definição, os ionóforos são antibióticos carboxílicos poliésteres, oriundos dos produtos finais da fermentação de várias espécies de actinomicetos – *Streptomyces* spp., que por seletividade deprimem ou inibem o crescimento de microrganismos no rúmen (ARAÚJO, 2005; NICODEMO, 2001). Por natureza, os ionóforos são transportadores de íons e possuem o exterior da molécula hidrofóbico, enquanto o interior hidrofílico e capaz de se ligar a cátions. Como as membranas celulares são compostas por bicamadas lipídicas, uma alta energia de ativação é necessária para translocar íons. Os ionóforos portanto, são capazes de blindar e deslocar a carga de íons e facilitar seu movimento através das membranas dissipando gradientes iônicos e desacoplando os gastos de energia do crescimento (RUSSELL e STROBEL, 1989; RICCARDIS et al., 2013).

Quanto a sua ação no rúmen, Russell e Strobel (1989), descrevem que são fatores oriundos das seguintes condições:

- Sensibilidade do microrganismo;
- Seletividade iônica do ionóforo;
- Gradiente de concentração de íons que pode ser translocado pelo ionóforo;
- Aumento do fluxo de íons através da membrana celular.

A sensibilidade dos microrganismos aos ionóforos está intimamente associada à ausência de membrana externa e a sua capacidade de adesão a membrana de bactérias e protozoários. As bactérias Gram-positivas são ausentes de membrana externa e, conseqüentemente, são mais sensíveis aos ionóforos (RUSSELL e STROBEL, 1989; MARQUES et al., 2021). Os ionóforos portanto, desencadeiam o transporte de cátions em sua membrana para dentro da bactéria, interferindo diretamente no mecanismo da bomba iônica e em maior gasto de energia para a manutenção do balanço osmótico, tendenciando o rompimento e desaparecimento desses microrganismos (NICODEMO, 2001; RANGEL et al., 2008).

Os microrganismos ruminais sensíveis aos ionóforos geralmente produzem mais hidrogênio, amônia e lactato (RUSSEL e STROBEL, 1989), diferente dos microrganismos não sensíveis aos ionóforos, que em geral são maiores produtores de ácido propiônico (MCCAUGHEY et al., 1997). O seu efeito no metabolismo energético está diretamente relacionado à sua capacidade em favorecer o crescimento das bactérias produtoras de propionato e as concentrações dos níveis de glicose no sangue (ADERINBOYE et al., 2011).

O principal combustível metabólico para os ruminantes são os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) oriundos da fermentação bacteriana. E, dentre eles, o propionato é o principal precursor da gliconeogênese (BENDER e MAYES, 2015). A diminuição da relação acetato:propionato é favorecido pelo ionóforo (GUAN et al., 2006), além de que, o aumento na produção de propionato é seguido pela redução na quantidade de metano, derivado da inibição das bactérias Gram-positivas produtoras de hidrogênio (H_2) e formato, precursores na formação do metano ruminal (MOSS et al., 2000, RANGEL et al., 2008). A administração de ionóforos em dietas para bovinos podem apresentar diminuição significativa na produção de metano (27 a 30%) dependendo do conteúdo energético da dieta (GUAN et al., 2006).

O H_2 é um dos principais produtos da fermentação pelos protozoários. Os ionóforos reduzem a disponibilidade de hidrogênio e formato para os microrganismos metanogênicos, substratos primários para a metanogênese, resultando em uso mais eficiente da energia da alimentação e em redução da emissão de metano atmosférico oriundo da pecuária (RUSSELL e STROBEL, 1889). Em outras palavras, o carbono que seria gasto para produção de metano

pode ser utilizado pelo animal como fonte de energia, tornando o sistema animal mais eficiente. Além disso, a melhoria na eficiência da fermentação ruminal com uso de ionóforo é resultante também da redução das perdas de nitrogênio ruminal por inibição da desaminação e proteólise e da redução de ácido láctico do ambiente ruminal, mantendo uma melhor condição de saúde ruminal (CHALUPA et al., 1980).

Como resposta final, na produção de animais ruminantes os ionóforos aumentam o ganho médio diário, diminuem o consumo de matéria seca e melhoram a conversão alimentar (NRC, 2016). Apesar de todos os benefícios do uso de ionóforos na produção de bovinos, a sua classificação como antibiótico o faz ser bastante criticado pela sociedade consumidora. O quesito segurança alimentar juntamente a necessidade de consumo de produtos saudáveis vindouros de preceitos de respeito ao bem-estar animal são crescentes no mundo. O que pressiona na busca de alternativas naturais e seguras (ARAÚJO, 2010) em substituição ao uso de antibióticos ionóforos e não ionóforos como aditivos para animais.

1.2 Composição física e química do caroço de açaí

O aumento no consumo do açaí tem gerado muitos resíduos, constituídos pelo seu caroço que possui pequeno uso na indústria. Cerca de 60 a 85% do fruto do açaí é desperdiçado como resíduo (PESSOA et al., 2010). Afim de reduzir o resíduo gerado pelo processamento da polpa do açaí, novas aplicações ao seu caroço tem sido cada vez mais buscado pela comunidade científica.

Dentre outras possibilidades de uso, a sua utilização na alimentação de animais ruminantes tem apresentado destaque. Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos quanto a utilização do caroço de açaí como fonte de alimento para ruminantes (SILVA et al., 2021; SANTOS et al., 2020; LIMA et al., 2019) ou então aplicado a saúde humana (BARROS et al., 2015; MELO et al., 2021; SILVA et al., 2014) como uma forma de valorização do caroço (BURATTO et al., 2020).

O caroço do açaí compreende cerca de 90% do diâmetro do fruto (1-2 cm) e 90% do seu peso (0,7-1,9 g por fruto) (RODRIGUES et al., 2006). A composição químico-bromatológica do caroço do açaí já está relativamente bem definida, no entanto, como qualquer outro resíduo de produção, possui alta variabilidade.

Devido ao seu alto teor de FDN e baixo teor PB (Tabela 1) os estudos na área da nutrição de animais ruminantes têm sugerido que sua utilização principal deva ser como fonte de fibra (LACERDA et al., 2022; LIMA et al., 2021; GOMES et al., 2012). Porém, em sua composição

o caroço apresenta compostos bioativos com potencial para uso como aditivo alimentar na nutrição de animais ruminantes, ainda inexplorado.

Tabela 1- Composição química do caroço de açaí.

Item	%MS	DP
Matéria Seca	68,9 - 88,5	7,54
Matéria Mineral	1,29 - 6,79	2,48
Proteína Bruta	3,78 - 5,70	0,67
Extrato Etéreo	1,37 - 4,12	1,01
Fibra em detergente neutro	57,6 - 83,0	9,10
Carboidratos não fibrosos	11,3 - 58,7	20,4
Fibra em detergente ácido	26,7 - 64,6	12,7
Lignina	3,41 - 8,78	1,97

Trabalhos: Lima (2017); Lustosa et al., (2022); Arruda et al., (2018); Silva et al., (2021); Felssner (2016); Neta (2017); Rufino et al., (2020). DP: Desvio padrão.

O caroço do açaí apresenta elevados teores de celulose e hemicelulose em sua composição (ALTMAN, 1956). Em análises lignocelulósicas, Buratto et al., (2021) também observaram que os caroços são ricos em hemiceluloses, com uma representatividade em torno de 48% da massa total. Quanto a celulose, os autores constataram que está foi a fração mais abundante em extrativos. Porém apresenta uma baixa quantidade de óleo. Os extrativos representaram um total de 17,5 % do resíduo do caroço.

A composição de açúcares do caroço do açaí é formada principalmente por manose, glicose, galactose, xilose e arabinose (LIMA et al., 2021). Na Tabela 2 são apresentados a composição dos principais compostos químicos da biomassa do caroço.

Tabela 2. Composição de monossacarídeos (glicose, xilose, galactose, arabinose e manose), polissacarídeos totais, lignina e extrativos de amostras naturais de caroço de açaí coletadas no inverno (Adaptado de Lima et al., 2021).

Composição de monossacarídeos	% Biomassa Semente
Glicose	5,7±0,10
Xilose	0,6±0,03
Galactose	1,9 ± 0,06
Arabinose	0,8 ±0,03

Manose	74,9±1,19
Polissacarídeo total	76,0 ± 1,18
Lignina	11±0,29
Extrativos	7,7

O perfil do óleo do caroço do açaí foi traçado por Melo et al., (2021; Tabela 3). No perfil lipídico dos caroços foram detectadas maiores proporções de ácidos graxos mirístico, oleico, linoleico e palmítico (MELO et al., 2021). A mesma predominância foi observada por Lima (2015) quando avaliou a farinha do caroço do açaí. Metade da fração lipídica é constituída por ácidos graxos saturados de cadeia média (12-16 carbonos) e outra metade em ácidos graxos insaturados de cadeia longa (18 carbonos) (MELO et al., 2021).

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos do extrato do caroço do açaí (Adaptado de Lima, et al. 2021).

Ácido graxo	(%) Área
C12:0 – Láurico	8,74
C14:0 – Mirístico	22,86
C16:0 – Palmítico	16,27
C16:1 – Palmitoleico	0,61
C18:0 – Esteárico	1,37
C18:1 – Oleico	26,79
C18:2 – Linoleico	22,52
C18:3 – Linolênico	0,84

Apesar do baixo teor de lipídeos encontrados no caroço, estudos investigativos quanto a sua utilização como fonte lipídica na indústria, seja com aplicabilidade a humanos ou animais são extremamente necessários, em uma tentativa de amenizar os resíduos descartados no ambiente (LIMA et al., 2021) aproveitando o potencial que o óleo do caroço dispõe.

Em estudo Oliveira et al., (2015) constatou que o extrato do caroço do açaí é composto basicamente por proantocianidinas, taninos condensados com predominância nos poliméricos. Tais resultados também foram constatados por Barros et al., (2015) sendo os compostos detectados atribuídos como proantocianidinas. Buratto et al., (2020) por sua vez, analisou os extratos etanólico e aquoso do caroço do açaí quanto os teores de antocioninas totais, polifenóis

e flavonoides e constatou que no caroço 0,242 g GAE/100 g MS (equivalente de ácido gálico por 100 g de material seco) são de flavonoides e 1,77 g GAE/100 g MS são de polifenóis, em suas análises não foram detectados teores de antocioninas no caroço.

Na Tabela 4 é apresentado o perfil fenólico do extrato do caroço do açaí. Dentre os compostos observados o tetrâmero de (epi)catequina tipo B foi a proantocianidina mais abundante e os trímeros de procianidina foram a forma mais predominante (BARROS et al., 2015).

Tabela 4- Identificação e quantificação de compostos fenólicos em extrato de caroços de *Euterpe oleracea* (média±SD) (Adaptado de Barros et al. (2015)).

Compostos fenólicos	Quantificação (mg/g)
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	4,1 ± 0,2
Trímero de (epi)catequina tipo B	12,9 ± 0,2
Dímero de (epi)catequina tipo B	11,5 ± 0,6
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	14,8 ± 0,4
Dímero de (epi)catequina tipo B	3,6 ± 0,7
Dímero de (epi)catequina tipo B	2,6 ± 0,1
Pentâmero de (epi)catequina tipo B	10,8 ± 0,1
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	4.1 ± 0.2
(+)-Catequina	10.6 ± 0.2
Trímero de (epi)catequina tipo B	6,9 ± 0,3
Dímero de (epi)catequina tipo B	6,0 ± 0,1
Trímero de (epi)catequina tipo B	7,0 ± 0,4
Pentâmero de (epi)catequina tipo B	6,7 ± 0,1
Dímero de (epi)catequina tipo B	8,5 ± 0,1
Pentâmero de (epi)catequina tipo B	8,9 ± 0,2
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	6,8 ± 0,1
(-)-Epicatequina	8,6 ± 0,1
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	4,7 ± 0,1
Trímero de (epi)catequina tipo B	6,1 ± 0,2
Dímero de (epi)catequina tipo B	3,5 ± 0,1
Tetrâmero de (epi)catequina tipo B	5,0 ± 0,2
Dímero de (epi)catequina tipo B	4,0 ± 0,1

Monômero de procianidina	19,1 ± 0,1
Dímero de procianidina	39,8 ± 0,4
Trímero de procianidina	41,8 ± 0,1
Tetrâmero de procianidina	39,6 ± 0,1
Pentâmero de procianidina	17,5 ± 0,1
Proantocianidinas totais	158 ± 1

Em comparação aos demais constituintes do fruto do açaí, Silva et al., (2014) em análise da concentração de polifenóis verificaram que o extrato do caroço possui maior concentração de polifenóis (28,3%) quanto ao extrato total do fruto (25,5%) e da casca do açaí (15,7%). Melo et al. (2022) observaram que a atividade antioxidante para o caroço foi de $622,81 \pm 67,56$ $\mu\text{mol/g}$, bem maior que a observado por Garzón et al. (2017) para a polpa (210 $\mu\text{mol/g}$) em termos de capacidade de sequestro do radical DPPH (Método do Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Martins et al. (2020) por sua vez, constataram que o extrato do caroço inibiu cepas de bactérias gram-positivas e *Candida albicans*. Este alto teor de compostos pode ser o contribuinte para a atividade antioxidante e antimicrobiana do caroço de açaí. Tais resultados revelam que a parte com maior teor de compostos bioativos está sendo desprezado e descartado pela indústria (MELO et al., 2021), uma vez que o caroço de açaí ainda é pouco explorado comercialmente.

Em uma forma de amenizar os impactos ambientais causados pelo resíduo descartado incorretamente, pesquisas voltadas ao aproveitamento do caroço do açaí valorizando seus compostos bioativos podem ser promissores na geração de novos produtos ao mercado.

1.3 Potencialidades do extrato do caroço de açaí para ruminantes

Os compostos bioativos estão presentes na natureza, principalmente nos vegetais, podendo ser essenciais ou não essenciais, como por exemplo as vitaminas ou os polifenóis (BIESALSKI et al., 2009). As pesquisas voltadas aos compostos bioativos aumentam as possibilidades de geração de produtos novos ou a modificação de produtos já existentes, tais como os aditivos alimentares aplicados na nutrição de animais ruminantes.

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários mais distribuídos no reino vegetal. São compostos presentes em células especializadas que diretamente não são essências ao metabolismo fotossintético ou respiratório básico das plantas, mas necessários para sua sobrevivência (LATTANZIO, 2013). A que tudo indica os metabólitos secundários atuam como defensores (contra predadores ou plantas competidoras), sinalizadores (atraindo polinizadores

ou dispersores de sementes), e protetores das plantas contra os oxidantes e a radiação ultravioleta (LATTANZIO, 2013). Os benefícios dos compostos fenólicos podem ser citados quanto a sua atividade antialérgica, anti-inflamatória, antiviral, antiproliferativa, e ainda como contribuintes com aroma, sabor, cor e adstringência (MUCHUWETI et al., 2007).

O extrato do caroço de açaí apresenta em sua composição química os compostos fenólicos proantocianidinas, presentes na forma monomérica (catequinas, epicatequinas) e na classe das procianidinas (BARROS et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; MELO et al., 2020). Em termos de quantificação, Melo et al., (2020) constatarem os seguintes valores no extrato do caroço: procianidina B1 (16,08 mg/g), seguida pela catequina (15,66 mg/g), epicatequina (5,32 mg/g) e procianidina B2 (1,49 mg/g).

Os compostos fenólicos presentes no caroço do açaí estão inclusos no grupo dos flavonoides, dentro do subgrupo flavanóis (flavan-3-óis). Este subgrupo é constituído basicamente por monômeros de catequinas e epicatequinas. Os monômeros de catequinas e epicatequinas podem formar oligômeros e polímeros, constituindo as proantocianidinas. As catequinas são isômeros de configuração *trans* e as epicatequinas de configuração *cis*. Estas diferenciam-se conforme sua estereoisomeria, onde (+)- catequina e (-)- epicatequina são as mais comuns. A estereoquímica e o padrão de hidroxilação (ou substituição) das unidades constitutivas das proantocianidinas permitem separá-las em várias classes como procianidina, prodelfinidina e propelargonidina. As procianidinas são dímeros, trímeros e tetrâmeros formados pelas unidades monoméricas de catequinas ((+)- catequina e (-)- epicatequina), a qual parece ter a glicosilação de (-)- epicatequina como um fator contribuinte para a sua biossíntese (HELLSTRÖM et al., 2009; ARONOSO et al., 2019) as quais são a forma de proantocianidinas mais encontradas na natureza (SANTIAGO et al., 2020).

Na literatura não se observa os efeitos diretos da utilização do caroço de açaí sobre o desenvolvimento de microrganismos ruminais, no entanto, há evidências claras que demonstram que o uso dos compostos observados no caroço de açaí, tem potencial para modular o crescimento de microrganismos ruminais. Um estudo *in vitro* com frações extraíveis de proantocianidinas da *Dorycnium rectum*, sob cinco cepas de microrganismos (*Ruminococcus albus*, degradadora de fibras; *Butyrivibrio fibriosolvens* e *Clostridium proteoclasticum*, degradadores de proteínas e xilanos; e *C. aminophilum*, *C. proteoclasticum*, e *Peptostreptococcus anaerobius*, bactérias produtoras de amônia), a fim de investigar seus efeitos sobre o crescimento bacteriano no rúmen apresentou diminuição significativa do crescimento *in vitro* de todas as cepas. As bactérias em estudo eram Gram-positivas, demonstrando a suscetibilidade destes microrganismos as proantocianidinas (SIVAKUMARAN et al., 2004).

Existem estudos demonstrando os efeitos quanto ao uso das catequinas, Addepalli e Suryavanshi (2018) observaram efeito benéfico do seu uso no tratamento da neuropatia autonômica diabética em ratos, atribuindo ao seu efeito antioxidante e anti-inflamatório. As catequinas podem auxiliar no tratamento de infecções bacterianas, como constatado por Gomes et al. (2018) quando associada a antibióticos (norfloxacin e gentamicina) a catequina apresentou efeito sinérgico aumentando a atividade antibiótica contra *S. aureus*, evidenciando seu potencial antimicrobiano. Di Leo et al. (2016) averiguaram indução da catequina a inibição do crescimento celular em células de melanoma (WM266) demonstrando seu potencial citotóxico. Foi constatado por Josiah et al. (2022) a capacidade neuroprotetora desse flavonoide, qual apresentou relevante potencial na terapia da doença de Parkinson por meio da melhoria do estresse redox, otimização do metabolismo da dopamina e modulação das vias anti-inflamatórias e antiapoptóticas.

As procianidinas atuam como antioxidantes, anti-inflamatório, antimicrobianos (LI et al., 2017; JIN et al., 2016) e podem modular a microbiota intestinal. Em estudo Xing et al. (2019) evidenciaram tal efeito, as procianidinas aliviaram a esteatose hepática, diminuíram os lipídeos séricos e a inflamação intestinal assim como remodelação da microbiota intestinal de coelhos. A administração de procianidinas aumentou a proporção de *Bacteroidetes* no nível de filo e *Akkermansia* no nível de gênero. LI et al. (2017) constataram um forte efeito inibidor das procianidinas da casca de lariço sobre *Staphylococcus aureus*. No ambiente ruminal, as procianidinas da uva diminuíram as emissões de metano oriundo do seu efeito sobre a estrutura da comunidade archaeal mudando o padrão de fermentação. Também foi observado uma diminuição da utilização de hidrogênio para os produtores de metano e um aumento do consumo de substrato de hidrogênio de CH₄ para formação de propionato (ZHANG et al., 2020).

Um importante mecanismo de ação das proantocianidinas é a eliminação de espécies reativas de oxigênio. O grupo hidroxila dos flavonoides é altamente reativo, possuem a capacidade de doar átomos de hidrogênio para metais, ao interagir e ser oxidado pelo composto reativo do radical os estabilizam e inativam. Outro possível mecanismo pelo qual as proantocianidinas atuam é através da interação com vários sistemas enzimáticos (NIJVELDT et al., 2001). Os compostos podem se encaixar ou ocupar a posição nos locais funcionais ou próximo e induzir uma mudança conformacional, o que parece causar inibição da atividade enzimática e outras atividades biológicas de proteínas (SAEKI et al., 2018). A interação proantocianidinas/proteínas inibem o crescimento bacteriano através da inibição de enzimas, privação de substratos microbianos essenciais, desintegração da membrana externa bacteriana

com vazamento de citoplasma e ação direta no metabolismo microbiano (DASIMAN et al., 2022).

Tais resultados juntamente ao mecanismo de ação dos compostos fenólicos existentes no extrato do caroço do açaí podem se mostrar promissores a uma possível aplicabilidade do extrato do caroço de açaí como modulador da fermentação ruminal. Os estudos com extratos vegetais são almejados e promissores devido sua ampla atividade biológica. O uso do extrato do caroço pode ser um alvo devido ao seu potencial, vindouro de sua composição química. Diversos trabalhos com seus constituintes se mostraram como evidências positivas, apesar de na produção animal o extrato do caroço do açaí não ter sido testado como aditivo e não se ter relatos sobre sua ação, porém os índices com testes na saúde humana são bastante interessantes, abrindo leque para uma possível aplicabilidade na produção de ruminantes como um possível modulador da fermentação ruminal.

REFERÊNCIAS

- ADERINBOYE, R. Y; ONWUKA, C. F. I; ARIGBEDE, O. M; ODUGUWA, O. O; AINA, A. B. J. Effect of dietary monensin inclusion on performance, nutriente utilisation, rumen volatile fatty acid concentration and blood status of West African dwarf bucks fed with basal diets of forages. **Tropical Animal Health and Production**, n. 44, v. 5, p. 1079-87, 2011.
- ADDEPALLI, V; SURYAVANSHI, S. V. Catechin attenuates diabetic autonomic neuropathy in streptozotocin induced diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, V. 108, P. 1517–1523, 2018.
- ALTMAN, R. F. A. Estudo químico de plantas amazônicas. **Boletim Técnico Instituto Agrônômico do Norte**. Belém, n. 31, p. 109-111, 1956.
- ARRUDA, J. C. B; FONSECA, L. A. B; PINTO, L. C. P; PINHEIRO, H. C. O; MONTEIRO, B. T. O; MANNO, M. C; LIMA, K. R. S; LIMA, A. R. Açaí seed bran in the feed of slow-growth broilers. **Acta Amazonica**, v. 48, n. 4, p. 298-303, 2018.
- ARAÚJO, J. S. **Avaliação do ionóforo monensina sódica no consumo, digestibilidade, ganho de peso e pH ruminal em ovinos**. Orientador: Juan Ramon Olalquiaga Pérez. 2005. 126 f. Tese (Doutorado em Nutrição de Ruminantes) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- BAKOWSKI, M; KICZOROWSKA, B. Probiotic microorganisms and herbs in ruminant nutrition as natural modulators of health and production efficiency – a review. **Annals of Animal Science**, v. 21, n. 1, p. 3–28, 2021.
- BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; QUEIROZ, M. J. R. P.; BUELGA, C. S.; SANTOS, E. A.; REGIS, W. C.B.; FERREIRA, I. C.F.R. The powerful *in vitro* bioactivity of *Euterpe oleracea*

mart. seeds and related phenolic compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 76, n. 15, p. 318-322, dec. 2015.

BENDER, D. A; MAYES, P. E. Gluconeogenesis & the Control of Blood Glucose. **In Harper's Illustrated Biochemistry**, 30th ed.; Rodwell, V.W., Bender, D.A., Botham, K. M., Weil, P. A., Eds.; McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2015, p. 832.

BIESALSKI, H. K; DRAGSTED, L. O; ELMADFA, I; GROSSKLAUS, R; MULLER, M; SCHRENK, D; WALTER, P; WEBER, P. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. **Nutrition**, v. 25, p. 1-4, 2009.

BURATTO, R. T; COCERO, M. J; MARTÍN, A. Characterization of industrial açai pulp residues and valorization by microwave-assisted extraction. **Chemical Engineering & Processing: Process Intensification**, v. 160, n. 108269, 2021.

CHALUPA, W; CORBETT, W; BRETHOUR, R. J. Effects of monensin and ampicillin on rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, v.51, p.170-179, 1980.

DASIMAN, R; NOR, N. M; ESHAK, Z; MUTALIP, S. S. M; SUWANDI, N. R; BIDIN, H. A Review of Procyanidin: Updates on Current Bioactivities and Potential Health Benefits. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 12, p. 5918 – 5940, 2022.

DANIELI, B; SCHOGOR, A. L. B. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 001-013, 2020.

DEY, A; PAUL, S. S; LAILER, P. C; DAHIYAL, S. S. Reducing enteric methane production from buffalo (*Bubalus bubalis*) by garlic oil supplementation in in vitro rumen fermentation system. **SN Applied Sciences**, v. 3, n. 187, 2021.

DI LEO, N; BATTAGLINI, M; BERGER, M; GIANNACCINI, M; DENTE, L; HMAPEL, S; VITTORIO, O; CIRILLO, G; RAFFA, V. A catechin nanoformulation inhibits WM266 melanoma cell proliferation, migration and associated neo-angiogenesis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 114, p. 1–10, 2017.

FELSSNER, K. S. **Avaliação nutricional da semente de açai (*Euterpe oleracea* mart.) como ingrediente em alimentos extrusados para cães**. Orientador: Ricardo Souza Vasconcellos. 2016. 78 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Estadual de Maringá Centro de Ciências Agrárias, Maringá, 2016.

GARZÓN, G.A; NARVÁEZ-CUENCA, C.E; VINCKEN, J.P; GRUPPEN, H. Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Food Chemistry**, v. 217, p. 364–372, 2017.

GUAN, H; WITTENBERG, K. M; OMINSKI, K. H; KRAUSE, D. O. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal Animal Science**, v. 84, p. 1896–1906, 2006.

GOMES, D. I; VÉRAS, R. M. L; ALVES, K. S; DETMANN, E; OLIVEIRA, L. R. S; MEZZOMO, L. R; SANTOS, R. B; BARCELOS, S. S. Performance and digestibility of

growing sheep fed with açai seed meal-based diets. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p.1751–1757, 2012.

GOMES, F. M. S; XAVIER, J. C; SANTOS, J. F. S; MATOS, Y. M. S; TINTINO, S. R; FREITAS, T. S; COUTINHO, H. D. M. Evaluation of antibacterial and modifying action of catechin antibiotics in resistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 115, P. 175–178, 2018.

HASSAN, F; ARSHAD, M.A; EBEID, H. M; REHMAN, M. S; KHAN, M. S; SHAHID, S; YANG, C. Phytogenic additives can modulate rumen microbiome to mediate fermentation kinetics and methanogenesis through exploiting diet–microbe interactionfrontiers. **In Veterinary Science**, v. 7, n. 575801, 2020.

HELLSTROM, J. K; TORRONEN, A. R; MATTILA, P. H. Proanthocyanidins in Common Food Products of Plant Origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 7899–7906, 2009.

JIN, H; LIU, M; ZHANG, X; PAN, J; HAN, J; WANG, Y; LEI, H; DING, Y; YUAN, Y. Grape seed procyanidin extract attenuates hypoxic pulmonary hypertension by inhibiting oxidative stress and pulmonary arterial smooth muscle cells proliferation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 36, p. 81–88, 2016.

JOSIAH, S. S; FAMUSIWA, C. D; CROWN, O. O; LAWAL, A. O; OLALEVA, M. T; AKINDAHUNSI, A. A; AKINMOLADUN, A. C. Neuroprotective effects of catechin and quercetin in experimental Parkinsonism through modulation of dopamine metabolism and expression of IL-1 β , TNF- α , NF- κ B, I κ KB, and p53 genes in male Wistar rats. **Neuro Toxicology**, v.90, p. 158-171, 2022.

LACERDA, N. G; OLIVEIRA, L. R. S; OLIVEIRA, C. M. C; FERREIRA, T. T. A; ALVES, K. S; ALMEIDA, M. R; SOUZA, SANTOS, M. C. A; GOMES; I. D; MEZZOMO, R. Whole or coarsely broken açai seed as a source of roughage in the diet of feedlot cattle: intake, digestibility, and ruminal parameters. **Tropical Animal Health and Production**, v. 54, n. 206, 2022.

LATTANZIO, V. Phenolic Compounds: Introduction. In: Ramawat, K; Mérillon, J. M. (eds) **Natural Products**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 1543–1580, 2013.

LI, Z; DENG, Q; LIU, Y; YAN, T; LI, F; CAO, Y; YAO, J. Dynamics of methanogenesis, ruminal fermentation and fiber digestibility in ruminants following elimination of protozoa: a meta-analysis. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 9, n. 89, 2018.

LIMA, E. M; VARGAS, J. A.C; GOMES, D. I; MACIEL, R. P; ALVES, K. S; OLIVEIRA, W. F; AGUIAR, G. L; REIS, G. C; OLIVEIRA, L. R. S; MEZZOMO, R. Intake, digestibility, and milk yield response in dairy buffaloes fed *Panicum maximum* cv. Mombasa supplemented with seeds of tropical açai palm. **Tropical Animal Health and Production**, v.53, n.178, 2021.

LIMA, E. M. **Caroço de açai (*euterpe oleracea* mart.) na alimentação de búfalas lactantes em pastejo**. Orientador: Rafael Mezzomo. 2017. 55 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal na Amazônia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Parauapebas, 2017.

LIMA, E. C. S. **Processamento de caroços de açaí (*Euterpe oleracea* mart.) para a extração de inulina**. Orientador: Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur. 2015. 102 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2015.

LUSTOSA, T. N. M; VARGAS, J. A. C; LUSTOSA, J. L; SILVA, B. P; SOARES, AL. S; SANTOS, V. F. S; GOMES, D. I; ALVES, K. S; OLIVEIRA, L. R. S; MACIEL, R. P; MEZZOMO, R. Açaí seed as an additive in *Panicum maximum* cv. Mombasa ensiling for ruminant nutrition: An alternative to reduce environmental pollutants. **Cleaner Waste Systems**, v. 3, n. 100035, 2022.

MARTINS, G. R; AMARAL, F. R. L; BRUM, F. L; BORGES, R. M; MOURA, S. S. T; FERREIRA, F. A; SANGENITO, L. S; SANTOS, A. L. S; FIGUEIREDO, N. G; SILVA, A. S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activities of açaí seed (*Euterpe oleracea* Mart.) extracts containing A- and B-type procyanidins. **LWT- Food Science and Technology**, v. 132, n. 109830, oct. 2020.

MCCAUGHEY, W. P; WITTERBERG, K; CORRIGAN, D. Methane production by steers on pasture. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, n. 3, sept. 1997.

MOSS, A; JOUANY, J. P; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de zootechnie**, v. 49, n. 3, p. 231-253, 2000.

MELO, P.S; SELANI, M. M; GONÇALVES, R. H; PAULINO, J. O; MASSARIOLI, A. P; ALENCAR, S. M. Açaí seeds: An unexplored agro-industrial residue as a potential source of lipids, fibers, and antioxidant phenolic compounds. **Industrial Crops & Products**, v. 161, n. 113204, 2021.

National Research Council. Ionophores. **In: National Research Council - Nutrient requirements of beef cattle**. 8 ed. revisada. Washington:National Academy Press; p. 218, 2016.

NETA, E. R. **Utilização de subprodutos para alimentação de ovinos na região amazônica**. Orientadora: Kaliandra Souza Alves. 2017, 104 f. Tese (Doutorado em Produção Animal). Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém, 2017.

NICODEMO, M. L. F. Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte. **Embrapa Gado de Corte**. v. 106, p. 54, Campo Grande, 2001. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355063/3552140/AnexoIII-ModelosReferenciaCitacoesBibliogr%C3%A1ficas.pdf/4945ebe2-44c1-4bb9-bde5-b450698efb37#:~:text=Para%20a%20Embrapa%20%C3%A9%20recomendada,colocar%20somento%20a%20obra%20consultada.>> Acesso em: 14 de jun.2023.

NIJVELDT, R. J; NOOD, E. V; HOORN, D. E. C. V; BOELEN, P. G; NORREN, K. V; LEEUWEN, P. A. M. V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418–25, 2001.

OLIVEIRA, P. R. B; COSTA, C. A; BEM, G. F; CORDEIRO, V. S.C; SANTOS, I. B; CARVALHO, L. C. R. M; CONCEIÇÃO, E. P. S; LISBOA, P. C; OGNIBENE, D. T; SOUSA, P. J. C; MARTINS, G. R; SILVA, A. J. R; MOURA, R. S; RESENDE, A. C. *Euterpe oleracea*

mart.-derived polyphenols protect mice from diet-induced obesity and fatty liver by regulating hepatic lipogenesis and cholesterol excretion. **Plos One**, v. 10, n. 12, 2015.

PESSOA, J. D. C; ARDUIN, M; MARTINS, M. A; CARVALHO, J. E. U. Characterization of açai (*e. oleracea*) fruits and its processing residues. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53 n. 6: p. 1451-1460, Nov/Dec 2010.

RABEE, A. E; YOUNAN, B. R; KEWAN, K. Z; SABRA, E. A; LAMARA, M. Modulation of rumen bacterial community and feed utilization in camel and sheep using combined supplementation of live yeast and microalgae. **Scientific Reports**, v. 12, n. 12990, 2022.

RANGEL, A. H. N; LEONEL, F. P; SIMPLICIO, A. A; JUNIOR, F. M. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 2, 2008.

RODRIGUES, R. B; R; LICHTENTHALER, ZIMMERMANN, B. F; PAPAGIANNOPOULOS, M; FABRICIUS, H; MARX, F. Total oxidant scavenging capacity of *euterpe oleracea* mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4162-4167, 2006.

RUFINO, J. P. F; CRUZZ, F. G. G; DIAS, F. J; BRASIL, R. J. M; SILVA, A. R. P; MELO, P. L. G. Açai meal on diet digestibility for commercial laying hens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 42, n. 46926, 2020.

RUSSELL, J. B; STROBEL, H. J. Effect of Ionophores on Ruminal Fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n. 1, p. 1-6, jan. 1989.

SAEKI, K; HAYAKAWA, S; NAKANO, S; ITO, S; OISHI, Y; SUZUKI, Y; ISEMURA, M. *In vitro* and in silico studies of the molecular interactions of epigallocatechin-3-o-gallate (EGCG) with proteins that explain the health benefits of green tea. **Molecules**, v. 23, n. 1295, 2018.

SANTIAGO, M. C. P. A; ANJOS, M. R; JESUS, M. S. C; SOUZA, M. L. M; PACHECO, S; BIZZO, H. R. Análise e caracterização de taninos condensados por cromatografia líquida. **Brazilian Journal of Development. Curitiba**, v. 6, n. 8, p.61446-61462, 2020.

SANT'ANA, A. S; SILVA, A. P. R; NASCIMENTO, S. P. O; MORAES, A. A; NOGUEIRA, J. F; BEZERRA, F. C. M; COSTA, C. F; GOUVEIA, J. J. S; GOUVEIA, G. V; RODRIGUES, R. T. S; BONFA, H. C; MENEZES, D. R. Tannin as a modulator of rumen microbial profile, apparent digestibility and ingestive behavior of lactating goats: A preliminary metagenomic view of goats adaptability to tannin. **Research in Veterinary Science**, v. 145, p. 159–168, 2022.

SANTOS, V. O; QUEIROZ, L. S; ARAUJO, R. O; RIBEIRO, F. C. P; GUIMARAES, M. N; COSTA, C. E.F; CHAARA, J. S; SOUZA, L. K. C. Pyrolysis of acai seed biomass: Kinetics and thermodynamic parameters using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology Reports**, v.12, n. 100553, 2020.

SINGH, R. K; DEY, A; PAUL, S. S; SINGH, M; DAHIYA, S. S; PUNIA, B. S. Associative effects of plant secondary metabolites in modulating in vitro methanogenesis, volatile fatty

acids production and fermentation of feed in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Agroforest Syst**, v. 94, p. 1555–1566, 2020.

SILVA, F. W. M; BULLER, L. S; GONÇALVES, M. L.M. B. B; ROSTAGNO, M. A; CARNEIRO, T. F. Sustainable development in the Legal Amazon: energy recovery from açaí seeds. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, v.15, p. 1174-1189, 2021.

SILVA, D. F; VIDAL, F. C. B; SANTOS, D; COSTA, M. C; DÍAZ, J. A. M; NASCIEMNTO, B. M. D; MOURA, R. S. Cytotoxic effects of Euterpe oleracea Mart. In malignant cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 175, 2014.

SIVAKUMARAN, S; MOLAN, A. L; MEAGHER, L. P; KOL, B; FOO, L. R; LANE, G. A; ATTWOOD, G. A; FRASER, K; TAVENDALE, M. Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. **Phytochemistry**, v.65, p. 2485–2497, 2004.

XING, Y. W; LEI, G. T; WU, Q. H; JIANG, Y; HUANG, M. X; Procyanidin B2 protects against diet-induced obesity and non- alcoholic fatty liver disease via the modulation of the gut microbiota in rabbits. **World Journal Gastroenterology**, v. 25, n. 8, p. 955-966, 2019.

YANG, C. M. J; RUSSELL, J. B. Effect of Monensin on the Specific Activity of Ammonia Production by Ruminal Bacteria and Disappearance of Amino Nitrogen from the Rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 10, p. 3250-3254, 1993.

WONG, A. Unknown risk on the farm: does agricultural use of ionophores contribute to the burden of antimicrobial resistance? 5. ed. **Journal mSphere**, v.4, sept. 2019.

ZANG, H; TONG, J; WANG, Z; XIONG, B; JIANG, L. Illumina MiSeq sequencing reveals the effects of grape seed procyanidin on rumen archaeal communities in vitro. **Asian-Australas Journal Animal Science**, v. 33, n. 1, p. 61-68, jan. 2020.

CAPÍTULO 2. Potencialidades do extrato do caroço do açaí sobre parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito do extrato do caroço de açaí (ECA) sobre a degradabilidade *in vitro* da matéria seca e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal e ácidos graxos voláteis (AGV) utilizando diferentes relações volumoso:concentrado (v:c). Foram conduzidos três experimentos utilizando diferentes relações v:c. No experimento I, o substrato utilizado foi uma dieta com relação v:c de 90:10. No Experimento II, v:c de 50:50, e no experimento III, v:c de 20:80. Em cada experimento foram avaliadas quatro doses do ECA (0, 0,3, 3 e 30 mg de ECA/g de substrato) em três diferentes tempos de incubação (6, 12 e 24 horas). Os frascos foram incubados em estufa a 39°C. Os dados correspondentes de cada experimento foram analisados separadamente, os quais foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para o substrato v:c - 90:10, no tempo de incubação 12 e 24 horas, a inclusão do extrato do caroço de açaí (ECA) na dosagem de 0,3 mg/g apresentou menor DIVMS ($p < 0,05$) quando comparado ao tratamento controle. Para o substrato v:c - 50:50, no tempo de incubação 12 horas, as maiores dosagens (3 e 30 mg/g) apresentaram maior DIVMS, comparando-se ao tratamento sem ECA e à dose 0,3 mg/g de ECA. Para o substrato v:c - 20:80, nos tempos de incubação 12 e 24 horas as dosagens 3 e 30 mg/g apresentaram maiores DIVMS. Quanto à concentração de N-NH₃ e AGVs, para os substratos v:c – 90:10; 50:50 e 20:80 em 24 horas de incubação, a inclusão do ECA não apresentou diferenças. A inclusão do ECA apresenta efeitos negativos sobre a DIVMS quando a dieta simulada apresenta alto teor de fibra, como evidenciado na relação v:c 90:10. Por outro lado, com alto teor de concentrado (v:c 20:80) a inclusão de 3 e 30 mg de ECA/g de substrato melhora a DIVMS sem alterações nas concentrações de AGV, indicando que seus efeitos podem ser positivos em dietas com alto teor de concentrado.

Palavras chave: Extrato de plantas. Sustentabilidade. Resíduo industrial. Ruminantes. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of açai seed extract (ASE) on the in vitro dry matter degradability and rumen ammoniacal chicken concentration using different roughage:concentrate (r:c) ratios. Three experiments using different r:c ratios were monitored. In experiment 1, the substrate used was a diet with a r:c ratio of 90:10. In Experiment 2, r:c of 50:50, and in Experiment 3, r:c of 20:80. For each experiment, four doses of ASE (0, 0.3, 3 and 30 mg of ASE/g of substrate) were evaluated at three different incubation times (6, 12 and 24 hours). The flasks were incubated in an oven at 39°C. The corresponding data from each experiment were analyzed separately, which were subjected to analysis of variance (ANOVA). Analyses were performed to determine the in vitro degradability of dry matter and ammonia. For substrate r:c - 90:10, at 12 and 24 hours of incubation, the inclusion of açai seed extract (ASE) at a dosage of 0.3 mg/g showed lower IVDMD ($p<0.05$) when compared to the control treatment. For the r:c - 50:50 substrate, at a 12-hour incubation time, the highest dosages (3 and 30 mg/g) showed greater IVDMD, compared to the treatment without ASE and to the 0.3 mg/g dose of ASE. For the substrate r:c - 20:80, in the incubation times of 12 and 24 hours, dosages 3 and 30 mg/g showed higher IVDMD. As for the concentration of N-NH₃, for substrate r:c – 90:10; 50:50; 20:80 in 24 hours of incubation, the inclusion of ASE did not show significant differences. For the 90:10 substrate, the dose of 3 mg ASE/g substrate was lower for the acetate:propionate ratio. The inclusion of ASE has negative effects on IVDMD when the simulated diet has a high fiber content as evidenced in the 90:10 r:c ratio. On the contrary, with high concentrate content (r:c 20:80) the inclusion of 3 and 30 mg of ASE/g of supply improves IVDMD, indicating that its effects can be positive in diets with high concentrate content.

Keywords: Plant extract. Sustainability. Industrial waste. Ruminants. Phenolic compounds.

2 INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são substâncias orgânicas ou inorgânicas utilizadas na alimentação dos ruminantes afim de melhorar a eficiência no aproveitamento da dieta, seja ele para a fermentação ruminal ou proteção da saúde do animal (HONNAN et al., 2022). Devido aos compostos bioativos, os extratos de plantas têm se mostrado promissores na aplicabilidade como aditivo para modular a fermentação ruminal (SILVA et al., 2014). O caroço do açaí é um resíduo gerado após o processamento do fruto para produção de polpa. A produção da polpa excede a capacidade de utilização do caroço, uma vez que seu aproveitamento ainda é pequeno no mercado comercial o que gera grande quantidade de caroço, ocasionando problemas de ordem ambiental.

Diversos estudos têm demonstrado que o caroço de açaí apresenta em sua composição compostos bioativos (SILVA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015; BARROS et al., 2015; MARTINS et al., 2020; BURATTO et al., 2020) que estão sendo desprezados e descartados pela indústria (MELO et al., 2021). Dentre esses compostos estão os compostos fenólicos proantocianidinas, presentes na forma monomérica (catequinas, epicatequinas) e na classe das procianidinas (BARROS et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; MELO et al., 2020). Seus efeitos podem ser citados quando a sua capacidade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, citotóxica e neuroproterora (DI LEO et al., 2016; GOMES et al., 2018; ADDEPALLI E SURYAVANSHI, 2018; JOSIAH et al., 2022). Essa composição sugere que o extrato do caroço de açaí possui potencial de aplicação como aditivo na produção animal.

Dentre os componentes do fruto do açaí, o extrato do caroço de açaí (ECA) é a porção que possui a maior concentração de polifenóis no extrato do caroço (28,3%), sendo maior que o da própria polpa e da casca (15,7%) (Silva et al., 2014). Melo et al. (2022) observaram que a atividade antioxidante para o caroço foi de $622,81 \pm 67,56 \mu\text{mol/g}$, bem maior que a observado por Garzón et al. (2017) para a polpa ($210 \mu\text{mol/g}$) em termos de capacidade de sequestro do radical DPPH (Método do Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Martins et al. (2020) por sua vez, constataram que o extrato do caroço inibiu cepas de bactérias gram-positivas e *Candida albicans*. Este alto teor de compostos polifenólicos pode ser o contribuinte para a atividade antioxidante e antimicrobiana do caroço de açaí. Tais resultados revelam que a parte com maior teor de compostos bioativos está sendo desprezado e descartado pela indústria, uma vez que o caroço de açaí ainda é pouco explorado comercialmente.

Apesar de não se ter relatos na literatura do extrato do caroço do açaí como modulador da fermentação ruminal, seus estudos na saúde humana e relatos positivos da literatura do princípio ativo proantocianidina de outras espécies vegetais testadas como aditivo (LI et al., 2017; XING et al., 2019; ZANG et al., 2020) encorajam os estudos com o caroço podendo trazer consigo produtividade e sustentabilidade a produção animal. Diante do exposto objetiva-se avaliar os efeitos da utilização do extrato do caroço de açaí sobre a degradabilidade e parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* em diferentes relações volumoso: concentrado.

Estes fatos levam a hipótese de que o uso do extrato do caroço do açaí pode levar a uma maior degradabilidade da matéria seca e produção de ácidos graxos voláteis para animais ruminantes.

2. 1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Considerações éticas

Todos os procedimentos experimentais realizados nesse estudo foram autorizados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais em Experimentação da Universidade Federal Rural da Amazônia – CEUA, sob o número de protocolo 5317170822.

2.1.2 Localização

O experimento foi conduzido no laboratório institucional de Nutrição e Análises de Alimentos nas instalações da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, localizado no município de Parauapebas-PA, entre os meses de outubro de 2022 à abril de 2023.

2.1.3 Experimentos

Foram realizados três experimentos com objetivo de avaliar o efeito do extrato do caroço de açaí (ECA) sobre os parâmetros de fermentação ruminal. Os três experimentos apresentaram exatamente a mesma dose de ECA (0; 0,3; 3 e 30 mg de ECA/g de substrato) e foram executados utilizando os mesmos procedimentos experimentais, que serão descritos a seguir. A única variação entre os experimentos foi o substrato utilizado e a origem do inóculo, sendo eles com três diferentes relações volumoso:concentrado (v:c), para simular diferentes condições de produção, sendo eles:

- v:c 90:10, simulando condição de animal à pasto, com baixa inclusão de concentrado.
- v:c 50:50, simulando condição “mista” clássica em experimentos *in vitro*.
- v:c 20:80, simulando condição de animais confinados, com foco em alto desempenho.

O caroço do açaí foi obtido de uma indústria de extração de polpa de açaí convencional. Após a extração da polpa, o caroço do açaí foi previamente higienizado em água corrente, para retirada de resíduo da polpa e então prensado com o auxílio de prensa hidráulica. O extrato oriundo da prensagem foi imediatamente armazenado em um recipiente recoberto com papel laminado para preservação contra a luz e então armazenado em geladeira para sua conservação.

A deita dos animais e os substratos foram compostos por silagem de capim mombaça, farelo de milho, farelo de soja, ureia e sulfato de amônia.

A composição química do ECA utilizado como tratamento e dos substratos utilizados foram analisados quanto aos teores de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro (DETMANN et al., 2022; Tabela 1).

Tabela 1- Composição química dos substratos e do extrato do caroço do açaí.

Variáveis	Substrato ¹			ECA ²
	90:10	50:50	20:80	
	g/kg MS			
Matéria Seca	885,9	892,6	872,0	209,4
Matéria Mineral	40,6	31,9	24,1	19,9
Proteína Bruta	100,1	131,4	140,9	1,2
Extrato Etéreo	29,4	32,7	36,0	1,3
Fibra em Detergente Ácido	223,7	155,5	84,5	-

¹ 90:10, 90 % de volumoso: 10% concentrado; 50:50, 50% volumoso: 50% concentrado e 20:80, 20% volumoso e 80% concentrado.

² ECA: extrato caroço açaí.

2.3.3.1 Experimento 1 - Extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação v:c 90:10.

Foram avaliadas quatro doses do extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal, sendo: 0; 0,3; 3 e 30 mg ECA/g de substrato incubado.

Utilizou-se três bovinos, dentre estes um fistulado no rúmen, alimentados por 14 dias com dieta com relação volumoso:concentrado 90:10, constituída por forragem de capim Mombaça, farelo de soja, milho e suplemento mineral. A dieta foi formulada para atender as exigências de machos em crescimento da raça nelore com 400Kg de peso corporal e GMD de 0,5 kg. No 14º dia, utilizando sonda esofágica, foi coletado líquido ruminal dos três bovinos. O conteúdo ruminal foi filtrado com pano de malha fina, colocado em garrafa térmica previamente

aquecida com água à 39°C e o material foi conduzido imediatamente ao laboratório para preparação e montagem do sistema.

Os experimentos foram realizados utilizando-se 144 frascos de 100 mL, nos quais foram adicionados 0,5g de substrato (dieta com relação volumoso:concentrado 90:10) e 60 mL de inóculo por frasco, que corresponde a 49,5 mL de solução buffer, 10 mL de líquido ruminal e extrato de caroço de açaí (ECA) diluído em 0,5 mL de etanol. Foi adicionado etanol sem ECA no tratamento “0 mg/g”. O espaço livre dos frascos foi imediatamente saturado com CO₂, sendo estes vedados com tampa de silicone e lacres de alumínio. Os frascos foram acondicionados em estufa sob controle rigoroso de temperatura a 39° C. Para os ajustes de variação, foram incubados 15 frascos extras considerados “branco” (contendo as soluções de incubação sem substrato). A agitação dos frascos foi realizada manualmente a cada três horas e no momento da agitação foi retirado o gás produzido nos frascos com agulha.

A degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi mensurada através da técnica semiautomática proposta por Tilley & Terry (1963). Após 6, 12 e 24 horas do início da incubação, 12 frascos (unidades experimentais) de cada tratamento foram retirados da estufa de incubação, o conteúdo transferido para cadinhos filtrantes. Em seguida os cadinhos foram secos a 105°C por 24 horas e pesados, obtendo o resíduo não digerido da matéria seca.

Nos tempos de incubação 24 horas do início da incubação foram também amostradas alíquotas do inóculo filtrado e congeladas para realização de análises de perfil de ácidos graxos voláteis (AGV) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). As análises da concentração de N-NH₃ do inóculo ruminal foram realizadas através do método INCT-CA N-006/1, conforme descrito por Detmann et al., (2022).

Para a determinação da concentração de AGV, uma alíquota de fluido ruminal tamponado foi preparado para análise, conforme o protocolo descrito por Vargas, Araújo e Mezzomo (2020). Após a centrifugação, as amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-DAD).

2.3.3.2 Experimento 2 - Utilização do extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação v:c do substrato 50:50.

Foram avaliadas quatro doses do ECA sobre a fermentação ruminal, sendo: 0; 0,3; 3 e 30 mg ECA/g de substrato incubado.

Utilizou-se três bovinos, alimentados por 14 dias com dieta com relação volumoso:concentrado 50:50, constituída por forragem de capim Mombaça, farelo de soja, milho e suplemento mineral. A dieta foi formulada para atender as exigências de machos em

crescimento da raça nelore com 400Kg de peso corporal e GMD de 1,2 kg. No 14º dia, utilizando sonda esofágica, foi coletado líquido ruminal dos três bovinos. O conteúdo ruminal foi filtrado com pano de malha fina, colocado em garrafa térmica previamente aquecida com água à 39°C e o material foi conduzido imediatamente ao laboratório para preparação e montagem do sistema.

Todos os procedimentos experimentais, desde a coleta de inóculo até as análises laboratoriais foram os mesmos descritos no Experimento 1 (Item 2.3.1).

2.3.3.3 Experimento 3 - Utilização do extrato do caroço de açaí sobre a fermentação ruminal com relação V:C do substrato 20:80.

Foram avaliadas quatro doses do ECA sobre a fermentação ruminal, sendo: 0; 0,3; 3 e 30 mg ECA/g de substrato incubado. Utilizou-se três bovinos, alimentados por 14 dias com dieta com relação volumoso:concentrado 20:80, constituída por forragem de capim Mombaça, farelo de soja, milho e suplemento mineral. A dieta foi formulada para atender as exigências de machos em crescimento da raça nelore com 400Kg de peso corporal e GMD de 1,6 kg. No 14º dia, utilizando sonda esofágica, foi coletado líquido ruminal dos três bovinos. O conteúdo ruminal foi filtrado com pano de malha fina, colocado em garrafa térmica previamente aquecida com água à 39°C e o material foi conduzido imediatamente ao laboratório para preparação e montagem do sistema.

Todos os procedimentos experimentais, desde a coleta de inóculo até as análises laboratoriais foram os mesmos descritos no Experimento 1 (Item 2.3.1).

2.1.4 Análises estatísticas

Os dados correspondentes a cada experimento foram analisados separadamente.

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do programa SAS (SAS® OnDemand for Academics). Cada tempo de incubação (6, 12 e 24 horas) foram analisados separadamente.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) definindo-se como efeito fixo o tratamento (0; 0,3; 3 e 30 mg extrato do caroço de açaí/g de substrato). Os resultados foram avaliados utilizando PROC MIXED, e as diferenças entre tratamentos foram avaliadas utilizando o comando PDIFF. Diferenças foram declaradas significativas em $p < 0,05$. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_i = \mu + T_i + \varepsilon_i$$

Em que: Y_i é a variável medida; μ é a constante geral; T é o efeito fixo do tratamento j , e ϵ_i é o erro experimental.

2. 2 RESULTADOS

2.2.1 Degradabilidade *in vitro* da Matéria Seca

Utilizando dieta com relação volumoso:concentrado (v:c) de 90:10 (Figura 1a), verificou-se no tempo de 6 horas de incubação que a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi menor ($P < 0,05$) no tratamento com 30 mg de ECA/g de substrato, enquanto os tratamentos 0 (controle), 0,3 e 3 mg/g não diferiram entre si ($P > 0,05$). No tempo de 12 horas de incubação, a DIVMS para o tratamento 0,3 mg/g de ECA foi menor ($P < 0,05$). Os tratamentos 3 e 30 mg/g não diferiram entre si. Enquanto o tratamento controle (0 mg/g) foi maior que todos os outros tratamentos ($P < 0,05$). No tempo de 24 horas, a inclusão do ECA (0,3, 3 e 30 mg/g) resultou em menor DIVMS em comparação com ao tratamento controle (0 mg/g). A dosagem 0,3 mg/g apresentou menor DIVMS do que as demais dosagens.

Utilizando dieta com relação v:c de 50:50 (Figura 1b), verificou-se no tempo de 6 horas de incubação que a DIVMS foi maior ($P < 0,05$) no tratamento controle. Os tratamentos 0,3 e 3 mg de ECA/g de substrato não diferiram entre si ($P > 0,05$). Enquanto que o tratamento com 30 mg/g apresentou a menor degradabilidade ($P < 0,05$). No tempo de 12 horas de incubação, a DIVMS para o tratamento 0,3 mg de ECA/g de substrato foi menor ($P < 0,05$) em comparação com os demais tratamentos (0, 3 e 30 mg/g). No tempo de 24 horas de incubação, a inclusão do ECA não apresentou diferença significativa para a DIVMS ($P > 0,05$).

Utilizando dieta com relação v:c de 20:80 (Figura 1c), verificou-se no tempo de 6 horas de incubação que a inclusão do ECA não apresentou diferença para a DIVMS ($P > 0,05$). No tempo de 12 horas de incubação, os tratamentos controle e 3 mg/g não diferiram entre si ($p > 0,05$), já o tratamento 0,3 mg/g foi menor entre todos os tratamentos ($P < 0,05$) enquanto que o tratamento de 30 mg de ECA/g de substrato foi maior quando comparado aos demais tratamentos ($P < 0,05$). No tempo de 24 horas, o tratamento controle e a inclusão de 0,3 mg de ECA/g de substrato não diferiram entre si ($P > 0,05$), assim como os tratamentos 3 e 30 mg/g ($P > 0,05$). No entanto, observou-se que os tratamentos 3 e 30 mg/g apresentaram maior DIVMS do que os tratamentos 0 e 0,3 mg/g.

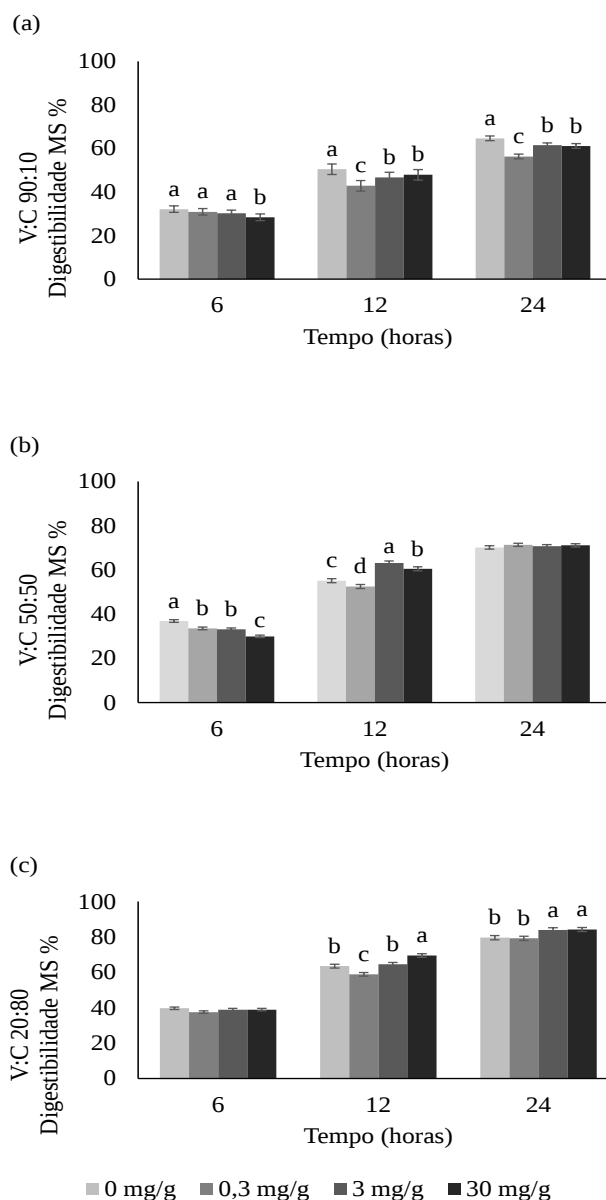


Figura 1- Degradabilidade *in vitro* da matéria seca, em (% da matéria seca incubada) de três diferentes dietas sob diferentes doses do extrato do caroço de açaí como aditivo modulador da fermentação. Os diferentes tons representam os diferentes tratamentos (0, 0,3, 3 e 30 mg de ECA/g de substrato) para os horários de 6, 12 e 24 horas após a incubação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ($p < 0,05$). Figura a) substrato com 10% de concentrado e 90% de volumoso. Figura b) substrato com 50% volumoso e 50% concentrado. Figura c) substrato contendo 20% volumoso e 80% concentrado.

2.2.2 Concentração de Nitrogênio Amoniacal Ruminal e dos ácidos graxos voláteis

Verificou-se que a inclusão do ECA não apresentou diferença para a concentração de $N-NH_3$ ($P > 0,05$) utilizando as dietas estudadas (relação v:c de 90:10, 50:50 e 20:80) (Tabela 2)..

Utilizando dieta com relação v:c de 90:10 (Tabela 2), verificou-se que a inclusão do ECA não apresentou diferenças para a concentração do ácido acético, propiônico e butírico, e para a produção de AGV total ($P>0,05$). Para a relação acetato:propionato verificou-se que a inclusão de 0; 0,3 e 30 mg de ECA/g de substrato não diferiram entre si, o tratamento 3 mg de ECA/g de substrato foi menor ($P<0,05$) para a relação acetato:propionato.

Utilizando dieta com relação v:c de 50:50 e 20:80, verificou-se que a inclusão do ECA não apresentou diferença para as variáveis analisadas ($P>0,05$; Tabela 2).

Tabela 2. Concentrações médias de nitrogênio amoniacal (mg/dL), dos ácidos acéticos, propiônico, butírico e dos ácidos graxos voláteis totais (AGV total), expressas em Mmol, e relação acetato:propionato após 24 horas de incubação sob diferentes doses de extrato do caroço de açaí como aditivo modulador da fermentação ruminal (mg de ECA/g de substrato).

Variável	Doses				*EPM	Valor-p
	0	0,3	3	30		
<i>Relação volumoso:concentrado 90:10</i>						
N-NH ₃ , mg/dL	44,15	46,42	44,86	43,28	3,85	0,19
Acetato, Mmol	24,36	21,51	17,83	19,85	1,76	0,08
Propionato, Mmol	7,12	6,08	5,72	5,66	0,57	0,23
Butirato, Mmol	3,72	3,16	2,97	2,94	0,31	0,27
AGV total, Mmol	35,21	30,75	26,52	28,46	2,64	0,13
Relação Acetato:Propionato	3,43 ^a	3,55 ^a	3,11 ^b	3,58 ^a	0,07	<0,01
<i>Relação volumoso:concentrado 50:50</i>						
N-NH ₃ , mg/dL	44,41	44,51	46,82	40,42	1,76	0,07
Acetato, Mmol	23,25	19,90	20,10	21,08	1,17	0,17
Propionato, Mmol	10,46	8,40	8,87	8,68	0,64	0,08
Butirato, Mmol	5,51	4,41	4,03	4,56	0,39	0,06
AGV total, Mmol	39,22	32,72	34,64	34,32	2,05	0,11
Relação Acetato:Propionato	2,24	2,39	2,44	2,48	0,08	0,15
<i>Relação volumoso:concentrado 20:80</i>						
N-NH ₃ , mg/dL	42,62	49,02	47,33	43,30	2,44	0,19
Acetato, Mmol	24,38	24,64	18,69	21,83	2,02	0,10
Propionato, Mmol	9,64	10,59	7,47	9,09	0,95	0,09
Butirato, Mmol	3,40	3,48	2,47	2,73	0,32	0,07
AGV total, Mmol	37,42	38,71	28,64	33,94	3,24	0,09
Relação Acetato:Propionato	2,57	2,34	2,59	2,47	0,09	0,12

Médias seguidas da mesma letra nas linhas, não diferem entre si ($p<0,05$).

* EPM: erro padrão da média

90:10 - substrato contendo 90% de volumoso e 10% de concentrado

50:50 - substrato contendo 50% volumoso e 50% concentrado

20:80 - substrato contendo 20% volumoso e 80% concentrado

ECA: extrato do caroço de açaí.

2.3 DISCUSSÃO

A análise conjunta dos resultados de DIVMS obtidos ao utilizar a relação v:c - 90:10 deixa evidente que o ECA proporcionou efeito contrário ao que era esperado, com diminuição na degradabilidade, principalmente na dose de 30 mg/g. Como essa condição de v:c proporciona um ambiente com maior concentração de fibra, os microrganismos que degradam a fibra podem ter sido inibidos pela ação dos componentes fenólicos presente no extrato do caroço do açaí. O extrato do caroço do açaí é rico em proantocianidinas (BARROS et al., 2014) e estes polifenóis apresentam atividade antimicrobiana por meio da inibição de enzimas extracelulares dos microrganismos, privação de substratos necessários para o crescimento por meio de complexos formados com outras moléculas e ação direta na inibição da fosforilação oxidativa do metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991). Os polifenóis presentes em plantas podem afetar a atividade das enzimas polissacaridases no rúmen, resultando em potencial redução da digestibilidade da fibra (BARAHONA et al., 2006). Ou ainda pode ter ocorrido complexação do extrato do caroço do açaí com lignocelulose e proteína alimentar, bactérias ou enzimas. Em estudo *in vitro* Sivakumaran et al., (2004) observaram nas incubações que as concentrações de 200 e 300 µg/ml de frações de proantocianidinas das folhas da leguminosa forrageira *Dorycnium rectum*, inibiu completamente o crescimento da *Butyrivibrio fibrisolvens* e a proantocianidina pareceu causar uma fase lag mais longa.

Para a relação v:c 50:50 a menor DIVMS para o tratamento 30 mg de ECA/g de substrato no tempo de 6 horas (Figura 1b) sugere uma possível redução da atividade fibrolítica bacteriana ruminal pela ação dos componentes fenólicos presente no extrato do caroço do açaí, assim como observados no experimento com relação v:c de 90:10. No entanto, é provável que esse efeito esteja relacionado ao tempo de colonização (lag time) ou algum outro fator inicial de colonização dos microrganismos na fração a ser digerida. Uma vez que essas diferenças diminuíram no tempo de incubação de 12 horas e desapareceram no tempo de incubação de 24 horas. Um importante mecanismo de ação das proantocianidinas é a interação com vários sistemas enzimáticos (NIJVELDT et al., 2001) podendo inibir o crescimento bacteriano (DASIMAN et al., 2022). Singh et al. (2022) constataram inibições das atividades das enzimas ruminais (transaminase glutâmica oxaloacética ruminal, transaminase glutâmica pirúvica e celulase) com a adição de frações de proantocianidinas. O que pode resultar em potencial redução da digestibilidade da fibra (BARAHONA et al., 2006).

Em estudo Sivakumaran et al. (2004) constataram que os efeitos das frações de proantocianidinas sobre os microrganismos ruminais são dependentes da sua concentração,

podendo apresentar efeitos positivos ou negativos no processo de digestão. A maior DIVMS às 12 horas após a incubação (figura 1b) com a inclusão do extrato em relação ao tratamento controle, principalmente as maiores dosagens (3 e 30 mg de extrato/g de substrato) podem ser relacionadas a isso. Com o passar das horas no processo de incubação a energia do substrato é liberada em um padrão mais uniforme (GETACHEW et al., 2000) o que pode ter sido um fator para a maior DIVMS nos tempos 12 e 24 horas. O ECA pode ainda ter alterado as comunidades de microrganismos do ambiente ruminal. Porém diversas espécies possuem funções sobrepostas, ou seja, o rúmen pode manter uma função metabólica semelhante mesmo com efeitos na sua composição microbiana (GUERREIRO et al., 2022), condição essa que pode ter influenciado a DIVMS. Além disso, também é possível que o ECA tenha tido uma sutil interação com os constituintes do substrato, bactérias e enzimas ruminais.

Outro fator que também pode ter sido determinante na degradabilidade da matéria seca *in vitro* no substrato contendo v:c 50:50 é a fração concentrada da dieta, que dispõe de mais carboidratos solúveis aos microrganismos o que desencadeia uma taxa de degradação mais rápida.

Conforme a comunidade microbiana no rúmen amadurece e se adapta a um determinado tipo de alimentação, ela se torna naturalmente estável e seus microrganismos se tornam extremamente resistentes à manipulação, devido à formação de biofilmes (MCALLISTER, 1994). Portanto, as propriedades da dieta que afetam a adesão microbiana e a formação de biofilmes podem ter um impacto significativo na taxa e extensão da digestão dos alimentos no rúmen (MCALLISTER, 1994). Tal condição pode ter ocorrido no período de 24 horas após a incubação, suposição fortalecida pela ausência de efeito para a DIVMS (Figura 1b) na relação v:c de 50:50. O ECA pode ter se apresentado de forma diferente para os diferentes estágios de digestão da fibra. Porém existem diversos microrganismos capazes de contornar as defesas das plantas baseadas em compostos fenólicos. Eles conseguem fazer isso através de mecanismos como a síntese de polímeros complexos de taninos, oxidação, biodegradação dos taninos ou ainda através da síntese de sideróforos (SCALBERT, 1991).

Na dieta com relação v:c 20:80, tinha-se por consequência menor proporção de fibra. Então, sugere-se, que não houveram diferenças às 6 horas de incubação devido ao efeito negativo do ECA sobre a DIVMS observado nas demais dietas, que provocou ação do ECA sobre a fração fibrosa e/ou sobre os microrganismos fibrolíticos. A redução do tempo de colonização é favorecida pela presença de substratos de rápida fermentação, e pelas características físicas e químicas da parede celular (TOMICH et al., 2003).

A maior DIVMS 12 e 24 h após incubação para as maiores dosagens (3 e 30 mg) sugere que os microrganismos podem ter utilizado a energia disponível de forma mais eficiente. Como já mencionado o concentrado (componente de maior representatividade na relação v:c 20:80) dispõe de mais carboidratos solúveis aos microrganismos o que desencadeia uma taxa de degradação mais rápida. O ECA também pode ter tido uma influência benéfica para a degradação de carboidratos não fibrosos, uma vez que em comparação com tratamento controle a DIVMS foi maior para os tratamentos com o extrato. Quando carboidratos de rápida fermentação são adicionados ao meio ocorre diminuição da atividade celulolítica, a sua inclusão na dieta estimula um aumento de competição entre os diferentes microrganismos ruminais pelos nutrientes essenciais e outros compostos necessários para o crescimento microbiano favorecendo as espécies com o crescimento mais rápido, como as amilolíticas (CAMACHO et al., 2023).

A energia necessária para o crescimento microbiano provém basicamente da fermentação de carboidratos (MEDEIROS et al., 2015). Como observado, a maior DIVMS proporcionado pelo ECA, também sugerir maior atividade microbiana seguido de maior produção de enzimas digestivas pelos microrganismos, auxiliando na degradação do substrato. Acredita-se que o ECA pode ter favorecido as bactérias amilolíticas que são Gram-negativas e maiores produtoras de propionato, em detrimento da produção de ácido lático e metano. Isso ocorre por meio da alteração da população de microrganismos ruminais, direcionando o metabolismo ruminal para uma fermentação mais eficiente, com maior produção de nutrientes absorvíveis pelo animal. Em estudo com o extrato de semente de uva como aditivo alimentar para bezerros de corte desmamados, a qual possui principalmente procianidina em sua composição, Ma et al. (2023) observaram aumento significativo da digestibilidade da matéria seca, o qual associaram principalmente ao efeito antimicrobiano daquele extrato.

No presente experimento, como já mencionado, as pronatocianidinas podem ter inibido as bactérias celulolíticas, que são essenciais para a degradação da fibra (SMITH et al., 2015). No entanto podem ter favorecido a digestão de carboidratos não fibrosos por ter priorizado as *bacteroidetes* que produzem enzimas que degradam polissacarídeos (THOMAS et al., 2011) e parecem ser mais resistentes a esse composto. A administração de procianidinas aumentou a proporção de *Bacteroidetes* no nível de filo e *Akkermansia* no nível de gênero em coelhos (XING et al., 2019). Sant'ana et al. (2022) constataram que os animais alimentados sem adição de tanino apresentaram maior abundância no grupo *Firmicutes*, enquanto os animais alimentados com dieta com inclusão de tanino apresentaram o filo *Bacteroidetes* mais abundante. Os filios *Bacteroidetes* e *Firmicutes* são os principais responsáveis pela maior parte

da fermentação ruminal de carboidratos não estruturais, o que pode ter influenciado na digestibilidade da matéria seca. Singh et al. (2020), por sua vez, testando extrato das folhas de *Ficus bengalensis* observaram redução da digestibilidade da dieta em doses mais altas (2,0 e 4,0 mL do extrato/40 ml de fluido ruminal), diferente de nossos achados em que as maiores dosagens resultaram em maior DIVMS. Tal efeito também evidencia que as proantocianidinas são dependentes das doses.

O uso de aditivos na produção de ruminantes com a capacidade de proteger aminoácidos e proteínas durante a fermentação ruminal são almejados e favoráveis, uma vez que tal ação pode aumentar a absorção de proteínas no intestino delgado, aumentando a eficiência do uso do nitrogênio. Os extratos de plantas com proantocianidinas tem se mostrado promissores para manipular o ambiente ruminal (HASSAN et al., 2020). Durante o processo de fermentação é normal que boa parte da proteína verdadeira do alimento seja degradada, e libere amônia (TEDESCHI et al., 2000).

A diferença observada para a relação acetato:propionato na relação 90:10, os diferentes extratos de plantas podem exercer diferentes efeitos tanto na digestibilidade quanto nos produtos da fermentação, decorrente dos fitoquímicos que são diferentes e exercem respostas diferentes na microbiota ruminal (KHOLIF E OLAFADEHAN, 2021).

Para a relação v:c 20:80 não foi observado diferenças para a concentração de N-NH₃, porém, foi observado diferenças para a DIVMS (Figura 1c). Nesse substrato a concentração de fibra é menor e, consequentemente a proporção de bactérias que degradam carboidratos não fibrosos é maior, o que pode ter levado a uma não diferença de N-NH₃ para este substrato. As bactérias fermentadoras de carboidratos não estruturais não necessariamente dependem de N-NH₃, mas sim, de aminoácidos e peptídeos os quais podem ser incorporados em proteína microbiana ou fermentados como fonte de energia (RIBEIRO et al., 2001). Segundo Russell et al., (1983) cerca de 66% do nitrogênio das células bacterianas fermentadores de carboidratos não estruturais são derivados de aminoácidos, enquanto apenas 34% são originadas do nitrogênio amoniacal.

A não diferença observada para a concentração de N-NH₃ (Tabela 2) também pode sugerir melhor sincronia entre a fermentação de carboidratos e proteínas da dieta nos primeiros horários após a incubação, já se tendo o máximo uso da amônia produzida pela degradação proteica nas 24 horas. Ou ainda que a taxa de aproveitamento da proteína fornecida no substrato e sua relação de produção e utilização pelos microrganismos podem ter se mantido iguais entre os tratamentos.

A digestão das proteínas em ambiente ruminal normalmente é rápida, por isso, acredita-se que 24 horas de incubação a digestão da proteína pode ter sido suficiente para se igualar, uma vez que não houve diferença significativa para a concentração de N-NH_3 para os diferentes tratamentos avaliados (tabela 2).

Considerando a carência de estudos com essa abordagem para o extrato do caroço do açaí, este estudo pode ser considerado como o primeiro passo para entender a relação entre os efeitos dos compostos bioativos do extrato do açaí e suas dosagens na microbiota ruminal e na degradabilidade da matéria seca. É importante destacar que os efeitos do extrato de caroço de açaí na degradabilidade da fibra em animais ruminantes ainda precisam ser mais investigados em estudos futuros, uma vez que o presente estudo indica que há redução na degradabilidade da MS quando a dieta avaliada é mais fibrosa. Por outro lado, os resultados desse experimento evidenciam que em situações de alta inclusão de concentrado o ECA pode melhorar a fermentação ruminal, promovendo alterações na atividade microbiana a ponto de melhorar a DIVMS. Acredita-se que possa haver redução na produção de metano ruminal devido às propriedades antimicrobianas desse extrato, que podem inibir a atividade de microrganismos metanogênicos no rúmen possivelmente melhorando a eficiência de utilização de energia no rúmen. No entanto, mais estudos precisam ser realizados validar essa possibilidade.

CONCLUSÃO

A inclusão do ECA apresenta efeitos negativos sobre a DIVMS quando a dieta simulada apresenta alto teor de fibra como evidenciado na relação v:c 90:10. Ao contrário, com alto teor de concentrado (v:c 20:80) a inclusão de 3 e 30 mg de ECA/g de substrato melhora a DIVMS, sem alterar a concentração de AGVs, indicando que seus efeitos podem ser positivos em dietas com alto teor de concentrado. Tais achados se apresentam como promissores para pesquisas futuras mais aprofundadas e detalhadas quando ao uso do extrato do caroço do açaí como aditivo modulador da fermentação ruminal. O extrato do caroço de açaí não proporcionou efeitos nas concentrações de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis.

REFERÊNCIAS

- ADDEPALLI, V; SURYAVANSHI, S. V. Catechin attenuates diabetic autonomic neuropathy in streptozotocin induced diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. V. 108, P. 1517–1523, 2018.
- BARAHONA, R; SANCHEZ, S; LASCANO, C. E; OWEN, P. M; THEODOROU, M. K. Effect of condensed tannins from tropical legumes on the activity of fibrolytic enzymes from the rumen fungus *Neocallimastix hurleyensis*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 39, p. 281–288, 2006.
- BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; QUEIROZ, M. J. R. P.; BUELGA, C. S.; SANTOS, E. A.; REGIS, W. C.B.; FERREIRA, I. C.F.R. The powerful *in vitro* bioactivity of *Euterpe oleracea* mart. seeds and related phenolic compounds. **Industrial Crops and Products**. v. 76, n. 15, p. 318-322, dec. 2015.
- BURATTO, R. T; COCERO, M. J; MARTÍN, A. Characterization of industrial açai pulp residues and valorization by microwave-assisted extraction. **Chemical Engineering & Processing: Process Intensification**. v. 160, n. 108269, 2021.
- CAMACHO, L. F; SILVA, T. E; FRANCO, M. O; DETMANN. E. Can associative effects affect *in vitro* digestibility estimates using artificial fermenters? **Ruminants**. v. 3, p. 100–110, 2023.
- DASIMAN, R; NOR, N. M; ESHAK, Z; MUTALIP, S. S. M; SUWANDI, N. R; BIDIN, H. A Review of Procyanidin: Updates on Current Bioactivities and Potential Health Benefits. **Biointerface Research in Applied Chemistry**. V. 12, p. 5918 – 5940, 2022.
- DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2022.
- DI LEO, N; BATTAGLINI, M; BERGER, M; GIANNACCINI, M; DENTE, L; HMAPEL, S; VITTORIO, O; CIRILLO, G; RAFFA, V. A catechin nanoformulation inhibits WM266 melanoma cell proliferation, migration and associated neo-angiogenesis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 114, p. 1–10, 2017.
- FORMATO, M. L; VASTOLO, A; PICCOLELLA, S; CALABRÒ, S; CUTRIGNELLI, M. I; ZIDORN, C; PACIFICO, S. Antioxidants in animal nutrition: UHPLC-ESI-QqTOF analysis and effects on *in vitro* rumen fermentation of oak leaf extracts. **Antioxidants**. v. 11, n. 2366, 2022.
- GARZÓN, G.A; NARVÁEZ-CUENCA, C.E; VINCKEN, J.P; GRUPPEN, H. Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Food Chemistry**. v. 217, p. 364–372, 2017.
- GETACHEW, G; MAKAR, H. P.S; BECKER, K. Tannins in tropical browses: effects on *in vitro* microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. **Journal of Agriculture Food Chemistry**. n. 48, p. 3581-3588, 2000.
- GUERREIRO, O; FRANCISCO, A. E; ALVES, S. P; SOLDADO, D; CACHUCHO, L; CHIMENOS, A. U; DUARTE, F; SILVA, J. S; BESSA, R. J. B; JERONIMO, E. Inclusion of the aerial part and condensed tannin extract from *Cistus ladanifer* L. in lamb diets – Effects on

rumen microbial community and fatty acid profile. **Animal Feed Science and Technology**. v. 291, n. 115398, 2022.

GIADA, M. D. Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. *In: Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*. **INTECH-open Science**. p. 87-111, 2013.

GOMES, F. M. S; XAVIER, J. C; SANTOS, J. F. S; MATOS, Y. M. S; TINTINO, S. R; FREITAS, T. S; COUTINHO, H. D. M. Evaluation of antibacterial and modifying action of catechin antibiotics in resistant strains. **Microbial Pathogenesis**. V. 115, P. 175–178, 2018.

HASSAN, F; ARSHAD, M.A; EBEID, H. M; REHMAN, M. S; KHAN, M. S; SHAHID, S; YANG, C. Phytogetic additives can modulate rumen microbiome to mediate fermentation kinetics and methanogenesis through exploiting diet–microbe interactionfrontiers. **Veterinary Science**, v. 7, n. 575801, 2020.

HONNAN, M; FENG, X; TRICARICO, J. M; KEBREAB. Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: modes of action, effectiveness and safety. **Animal Production Science**. v. 62, p. 1303–1317, 2022.

JOSIAH, S. S; FAMUSIWA, C. D; CROWN, O. O; LAWAL, A. O; OLALEVA, M. T; AKINDAHUNSI, A. A; AKINMOLADUN, A. C. Neuroprotective effects of catechin and quercetin in experimental Parkinsonism through modulation of dopamine metabolism and expression of IL-1 β , TNF- α , NF- κ B, I κ KB, and p53 genes in male Wistar rats. **Neuro Toxicology**. v.90, p. 158-171, 2022.

KOLI, P; SINGH, S; BHADORIA, B. K; AGARWAL, M; LATA, S; REN, Y. Sequential Extraction of Proanthocyanidin Fractions from Ficus Species and Their Effects on Rumen Enzyme Activities In Vitro. **Molecules**, v. 27, n. 5153, 2022.

LI, Z; DENG, Q; LIU, Y; YAN, T; LI, F; CAO, Y; YAO, J. Dynamics of methanogenesis, ruminal fermentation and fiber digestibility in ruminants following elimination of protozoa: a meta-analysis. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 9, n. 89, 2018.

MA, J; FAN, X; ZHANG, W; ZHOU, G; YIN, F; ZHAO, Z; GAN, S. Grape seed extract as a feed additive improves the growth performance, ruminal fermentation and immunity of weaned beef calves. **Animals**. v. 13, n. 1876, 2023.

MARTINS, G. R; AMARAL, F. R. L; BRUM, F. L; BORGES, R. M; MOURA, S. S. T; FERREIRA, F. A; SANGENITO, L. S; SANTOS, A. L. S; FIGUEIREDO, N. G; SILVA, A. S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activities of açai seed (*Euterpe oleracea* Mart.) extracts containing A- and B-type procyanidins. **LWT- Food Science and Technology**. v. 132, n. 109830, oct. 2020.

MEDEIROS, S. R; GOMES, R. C; BUNGESTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte**. Embrapa Gado de Corte. P. 176, Brasília, 2015. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/120040/1/Nutricao-Animal-livro-em-baixa.pdf>> Acesso em: 17 de jun. 2023.

MELO, P.S; SELANI, M. M; GONÇALVES, R. H; PAULINO, J. O; MASSARIOLI, A. P; ALENCAR, S. M. Açai seeds: An unexplored agro-industrial residue as a potential source of

lipids, fibers, and antioxidant phenolic compounds. **Industrial Crops & Products**. v. 161, n. 113204, 2021.

MCALLISTER, T. A; BAE, H. D; JONES, G. A; CHENG, K. J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Science**. v. 72, p. 3004-3018, 1994.

NIJVELDT, R. J; NOOD, E. V; HOORN, D. E. C. V; BOELEN, P. G; NORREN, K. V; LEEUWEN, P. A. M. V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 74, p. 418–25, 2001.

NOCEK, J. E; RUSSELL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**. v. 71, p. 2070-2107, 1988.

OLIVEIRA, P. R. B; COSTA, C. A; BEM, G. F; CORDEIRO, V. S.C; SANTOS, I. B; CARVALHO, L. C. R. M; CONCEIÇÃO, E. P. S; LISBOA, P. C; OGNIBENE, D. T; SOUSA, P. J. C; MARTINS, G. R; SILVA, A. J. R; MOURA, R. S; RESENDE, A. C. *Euterpe oleracea* mart.-derived polyphenols protect mice from diet-induced obesity and fatty liver by regulating hepatic lipogenesis and cholesterol excretion. **Plos One**. v. 10, n. 12, 2015.

RIBEIRO, K. G; GARCIA, R; PEREIRA, O. G; VALADARES FILHO, S. 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**, v. 30, n. 2, p. 581-588, 2001.

RUSSELL, J. B; SNIFFEN, C. J; VAN SOEST, P. J. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 4, 1983.

SANT'ANA, A. S; SILVA, A. P. R; NASCIMENTO, S. P. O; MORAES, A. A; NOGUEIRA, J. F; BEZERRA, F. C. M; COSTA, C. F; GOUVEIA, J. J. S; GOUVEIA, G. V; RODRIGUES, R. T. S; BONFA, H. C; MENEZES, D. R. Tannin as a modulator of rumen microbial profile, apparent digestibility and ingestive behavior of lactating goats: A preliminary metagenomic view of goats adaptability to tannin. **Research in Veterinary Science**. v. 145, p. 159–168, 2022.

SMITH, A. H; ZOETENDAL, E; MACKIE, R. I; Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. **Microbial Ecology**. v. 50, p. 197–205, 2005.

SINGH, S; KOLI, P; BHADORIA, B, K; AGARWAL, M; LATA, S; REN, Y; DU, X. Proanthocyanidins modulate rumen enzyme activities and protein utilization in vitro. **Molecules**. v. 27, n. 5870, 2022, 27.

SINGH, R. K; DEY, A; PAUL, S. S; SINGH, M; DAHIYA, S. S; PUNIA, B. S. Associative effects of plant secondary metabolites in modulating in vitro methanogenesis, volatile fatty acids production and fermentation of feed in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Agroforestry Systems**, v. 94, p. 1555-1566, 2020.

SCALBER, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. V. 30, N. 12, p. 3875-3883, 1991.

SIVAKUMARAN, S; MOLAN, A. L; MEAGHER, L. P; KOL, B; FOO, L. R; LANE, G. A; ATTWOOD, G. A; FRASER, K; TAVENDALE, M. Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. **Phytochemistry**. V.65, P. 2485–2497, 2004.

SILVA, D. F; VIDAL, F. C. B; SANTOS, D; COSTA, M. C; DÍAZ, J. A. M; NASCIEMNTO, B. M. D; MOURA, R. S. Cytotoxic effects of *Euterpe oleracea* Mart. In malignant cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 14, n. 175, 2014.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, n. 2, p. 104–111, 1963.

TOMICH, T. R; GONÇALVES, L. C; MAURÍCIO, R. M; PEREIRA, L. G. R; RODRIGUES, J. A. S. Composição bromatológica e cinética de fermentação ruminal de híbridos de sorgo com capim-sudão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.6, p.747-755, 2003.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1648-1658, 2000.

THOMAS, F; HEHEMANN, J.H; REBUFFET, E; CZJZEK, M; MICHEL, G. Environmental and gut Bacteroidetes: the food connection. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n. 93, 2011.

VARGAS, J.A.C.; ARAÚJO, T.C.; MEZZOMO, R. Extraction, identification, and quantification of volatile fatty acids (VFA) in rumen fluid samples using Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector (RP HPLC-DAD). 2020.

XING, Y. W; LEI, G. T; WU, Q. H; JIANG, Y; HUANG, M. X; Procyanidin B2 protects against diet-induced obesity and non- alcoholic fatty liver disease via the modulation of the gut microbiota in rabbits. **World Journal Gastroenterology**. v. 25, n. 8, p. 955-966, 2019.

ZANG, H; TONG, J; WANG, Z; XIONG, B; JIANG, L. Illumina MiSeq sequencing reveals the effects of grape seed procyanidin on rumen archaeal communities in vitro. **Asian-Australas Journal Animal Science**. v. 33, n. 1, p. 61-68, jan. 2020.