



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Faculdade de Ciências Agrárias

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



UTILIZAÇÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO COMO MODULADOR RUMINAL EM DIETAS PARA VACAS LEITEIRAS

NATHÁLIE FERREIRA NEVES PALUDO

Médica Veterinária

Dourados – MS

2026



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Faculdade de Ciências Agrárias

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



UTILIZAÇÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO COMO MODULADOR RUMINAL EM DIETAS PARA VACAS LEITEIRAS

Nathálie Ferreira Neves Paludo

Orientador: Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias da Universidade Federal da
Grande Dourados, como parte das
exigências para obtenção do título de
Doutora em Zootecnia. Área de
Concentração: Produção Animal**

Dourados

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

P184u Paludo, Nathalie Ferreira Neves
UTILIZAÇÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO COMO MODULADOR RUMINAL EM
DIETAS PARA VACAS LEITEIRAS [recurso eletrônico] / Nathalie Ferreira Neves Paludo.
-- 2026.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Euclides Reuter de Oliveira.
Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra.
Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2026.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. compostos bioativos. 2. fito-ionóforos. 3. metanogênese. 4. modulação ruminal. 5.
perfil de ácidos graxos do leite. I. Oliveira, Euclides Reuter De. II. Gandra, Jefferson
Rodrigues. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR NATHALIE FERREIRA NEVES PALUDO, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "PRODUÇÃO ANIMAL".

Aos doze dias do mês de janeiro do ano de dois mil e vinte e seis, às sete horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada **"UTILIZAÇÃO ÁCIDOS DE LÚPULO COMO MODULADOR RUMINAL EM DIETAS PARA VACAS LEITEIRAS"**, apresentada pela doutoranda Nathalie Ferreira Neves Paludo, do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira/UFGD (presidente/orientador), Prof. Dr. Eduardo Lucas Terra Peixoto/UFGD (membro titular interno), Prof. Dr. Flávio Pinto Monção/UNIMONTES (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Roseli Aparecida dos Santos/UFVJM (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Banys/UFJ (membro titular externo), Prof.^a Alsiane Simone Capelesso/UDELAR (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 12 de janeiro de 2026.

Documento assinado digitalmente
gov.br EUCLIDES REUTER DE OLIVEIRA
Data: 12/01/2026 17:25:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira
Presidente/orientador

Documento assinado digitalmente
gov.br EDUARDO LUCAS TERRA PEIXOTO
Data: 12/01/2026 13:53:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eduardo Lucas Terra Peixoto
Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente
gov.br FLAVIO PINTO MONCAO
Data: 15/01/2026 21:46:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Flávio Pinto Monção
Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
gov.br ROSELI APARECIDA DOS SANTOS
Data: 12/01/2026 15:21:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Roseli Aparecida dos Santos
Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
gov.br VERA LUCIA BANYS
Data: 13/01/2026 23:04:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Banys
Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
gov.br ALSIANE SIMONE CAPELESSO
Data: 15/01/2026 06:53:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Alsiane Simone Capelesso
Membro Titular Externo

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPG)

Biografia da Autora

Nathálie Ferreira Neves Paludo, nasceu em 16 de maio de 1994 em São Luiz Gonzaga, Rio Grande do Sul. Concluiu o ensino médio e o curso de Técnico Agropecuária em 2011. Em 2012 iniciou o Curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Campus de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, onde se formou em Bacharel em Medicina Veterinária em fevereiro de 2018. No ano de 2019 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, submetendo-se à defesa da dissertação na área de nutrição de ruminantes, em março de 2021. Durante o mestrado foi bolsista da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Em abril de 2021, começou o curso de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, sendo bolsista da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (Fundect). Submetendo-se à defesa da tese em janeiro de 2026.

“A ciência é, portanto, uma perversão de si mesma, a menos que tenha como fim
último, melhorar a humanidade. ”

Nikola Tesla

“Dedico este trabalho à honra e glória de Deus.

Às minhas maiores bênçãos: Miguel e Maria Clara, para que saibam que a fé e a perseverança nos permitem alcançar grandes sonhos. ”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me sustentar e guiar, me guardando em todo caminho percorrido. Obrigada Deus por tanta graça derramada sobre minha vida, Tu és minha força.

Ao meu marido Thiago Paludo, por todo apoio, suporte e incentivo nos momentos de desânimo. Obrigada por todas as noites ao meu lado me incentivando a continuar escrevendo.

Ao meu filho Miguel, por aflorar em mim o amor e perseverança, me inspirando todo dia a ser minha melhor versão e poder ser um exemplo para você. À minha filha, Maria Clara, que ainda nem nasceu e já é um sinal do amor de Deus para com a nossa família.

À minha família, que sempre me incentivou em cada desafio ao longo de toda a minha vida. Obrigada por todos os exemplos, amor e fortaleza.

Ao meu orientador Euclides Reuter de Oliveira pelos seus conselhos, dedicação, compreensão, exemplo e muitos ensinamentos passados. Obrigada pela sua paciência exemplar e confiança, que permitiu que essa jornada pudesse ser trilhada até o fim. Também de maneira especial ao meu co-orientador professor Jefferson Rodrigues Gandra, ao professor Eduardo Lucas Terra Peixoto e ao professor Flavio Pinto Monção, por toda dedicação e atenção. Agradeço-os infinitamente por tão grandioso trabalho dedicado não somente à mim, mas a todos os seus alunos.

Aos demais professores, funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia da FCA - UFGD pela prestatividade, convivência agradável e pela contribuição direta ou indireta para a realização deste trabalho. Agradeço em especial às técnicas de laboratório da FCA Arlene e Adriana, por toda ajuda durante minhas análises.

Aos meus amigos Janaina Tayna, Brasilino M. de Lima, Murilo Lima, Rosilane Teixeira Alves e aos demais bolsistas Wilian, Rayrana, Hindyra, Thamires. Obrigada por toda ajuda e pela agradável companhia em todos os momentos compartilhados.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT), pela concessão da bolsa e suporte enquanto instituição. Em especial aos seus funcionários, sempre solícitos.

À fazenda “Nossa Senhora Abadia”, aos proprietários Marcos, Seu Valdomiro e Dona Abadia, por abrirem as “porteirolas” da sua casa à mim e a todos os alunos da UFGD que colaboraram durante o período do experimento.

E, finalmente, à todos que, de uma forma ou de outra, foram essenciais para a conclusão deste trabalho, oferecendo desde apoio emocional até auxílio técnico, meu mais sincero agradecimento.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	Xv
RESUMO	Xvi
ABSTTRACT	xviii
CAPÍTULO I	19
1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Panorama da bovinocultura leiteira no Brasil: perspectivas e desafios ...	21
2.2 Processos fermentativos no rúmen e as emissões de CH ₄	25
2.3 Aditivos dietéticos e nutricionais e suas ações mitigatórias sobre o metano.....	28
2.3.1 Monensina sódica	29
2.3.2 Taninos condensados	31
2.3.3 Ácidos de lúpulo	32
3. OBJETIVOS	35
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO II	44
EFEITO DA INCLUSÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS: metabolismo ruminal e produção leiteira.....	44
Resumo	43

1. INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Animais e delineamento experimental	47
2.2 Alimentos, alimentação e tratamentos	47
2.3 Análises químicas	49
2.4 Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes	49
2.5 Produção e composição do leite	50
2.6 Fermentação ruminal	51
2.7 Parâmetros sanguíneos	52
2.8 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana	52
2.9 Análises estatísticas	53
3. RESULTADOS	54
3.1 Matéria seca e digestibilidade aparente total	54
3.2 Rendimento e composição do leite	57
3.3 Fermentação ruminal	58
3.4 Compostos nitrogenados	62
4. DISCUSSÃO	63
5. CONCLUSÃO	67
6. REFERÊNCIAS.....	68
CAPÍTULO III	74
EFEITOS DOS ÁCIDOS DE LÚPULO E DE ADITIVOS COMERCIAIS NO METABOLISMO E PRODUÇÃO LEITEIRA DE VACAS	74
Resumo.....	74
1. INTRODUÇÃO	75

2. MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 Animais e delineamento experimental	77
2.2 Alimentos, alimentação e tratamentos	77
2.3 Análises bromatológicas	80
2.4 Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes.....	81
2.5 Produção e composição do leite	82
2.6 Fermentação ruminal	82
2.7 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana	83
2.7 Análises estatísticas	83
3. RESULTADOS	84
3.1 Matéria seca e digestibilidade aparente total	84
3.2 Produção e composição do leite	86
3.3 Fermentação ruminal	87
3.4 Compostos nitrogenados	93
4. DISCUSSÃO	94
5. CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS	105

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III

Figura 1- Valores de pH ruminal de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino, em função do tempo de fornecimento da alimentação.....	90
Figura 2- Concentração ruminal de acetato (mmol/L) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino, em função do tempo de fornecimento do alimento.....	91
Figura 3- Concentração ruminal de propionato (mmol/L) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino em função do tempo de fornecimento do alimento.....	92
Figura 4- Emissão ruminal de metano (g/dia) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino em função do tempo de fornecimento do alimento.....	93

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas adicionadas com diferentes níveis de ácidos de lúpulo	48
Tabela 2. Ingestão de matéria seca e nutrientes em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo.....	55
Tabela 3. Digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo.....	56
Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo níveis de ácidos de lúpulo.....	57
Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo.....	58
Tabela 6. Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas alimentadas com dietas contendo níveis de ácidos de lúpulo.....	60
Tabela 7- Balanço de nitrogênio e síntese proteica microbiana em vacas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo.....	62

CAPÍTULO III

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas com e sem a inclusão de diferentes aditivos	79
Tabela 2. Consumo de matéria seca e digestibilidade aparente total de vacas leiteiras recebendo dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino.....	85
Tabela 3- Produção e composição do leite e eficiência alimentar de vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino.....	86
Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino.....	87
Tabela 5- Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, tanino e monensina.....	89

Tabela 6- Balanço de nitrogênio e síntese proteica microbiana de vacas leiteiras recebendo dietas com monensina, ácidos de lúpulo e tanino.....	94
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC - Association of official analytical chemists

CLA - Ácido linoleico conjugado

CON - Controle

HOPS – ácidos de lúpulo

MON – monensina sódica

TAN – Tanino de *Acacia mearnsii*

EE - Extrato etéreo

FDA – Fibra insolúvel em detergente ácido

FDN – Fibra insolúvel em detergente neutro

MM - Matéria Mineral

MO - Matéria Orgânica

MS - Matéria Seca

NDT - Nutrientes digestíveis totais

NRC - National Research Council

PB - Proteína Bruta

AGCR – ácidos graxos de cadeia ramificada

GEE – gases do efeito estufa

N – nitrogênio

UTILIZAÇÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO COMO MODULADOR RUMINAL EM DIETAS PARA VACAS LEITEIRAS

RESUMO - Diante das demandas globais por redução das emissões de gases de efeito estufa e da restrição ao uso de antibióticos na alimentação animal, a busca por aditivos alternativos e sustentáveis para a nutrição de ruminantes tem se intensificado. Nesse contexto, os ácidos de lúpulo, compostos bioativos oriundos de extratos vegetais, apresentam potencial para modular a fermentação ruminal. Objetivou-se avaliar os efeitos dos ácidos de lúpulo como aditivo zootécnico alternativo à monensina sódica em dietas de vacas leiteiras. **CAPÍTULO II:** No primeiro ensaio experimental, avaliou-se o efeito de diferentes níveis de ácidos de lúpulo, qual o ácido tetrahydro-iso-alfa é o mais prevalente, sobre o desempenho produtivo e o metabolismo ruminal de vacas leiteiras. O experimento foi conduzido em uma propriedade localizada no município de Douradina, Mato Grosso do Sul, utilizando oito vacas, sendo quatro canuladas no rúmen e não lactantes, e quatro lactantes não canuladas. Os animais foram distribuídos em dois quadrados latinos 4 × 4. Os tratamentos consistiram na inclusão de 0, 5, 10 e 15 g/animal/dia de ácidos de lúpulo. O período experimental foi de 20 dias, sendo 14 dias de adaptação e 6 dias de coleta de dados. Não foram observados efeitos sobre o consumo de matéria seca e nutrientes. Houve aumento da digestibilidade da matéria orgânica e dos carboidratos totais até o nível estimado de 8,6 g/dia. A concentração ruminal de N-NH₃ foi reduzida, com ponto mínimo estimado em 8,22 g/dia. Os ácidos de lúpulo alteraram as concentrações de ácido acético e propiônico, bem como sua relação, além de reduzirem a concentração estimada de metano, com ponto mínimo próximo de 10 g/dia. Também foi observado aumento linear na retenção de nitrogênio. Os resultados indicaram favorecimento de rotas fermentativas mais eficientes energeticamente, sendo a inclusão de 10 g/animal/dia considerada a mais eficiente. **/CAPÍTULO III:** O segundo ensaio experimental comparou o nível de ácidos de lúpulo determinado no ensaio anterior, com outros aditivos comerciais. Os tratamentos foram 1) CON (grupo controle, dieta basal sem aditivos); 2) MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); 3) TAN (2,5 g/ kg MS de tanino de *Acacia mearnsii*); 4) HOPS (10 g/animal/dia de ácidos de lúpulo). A modelagem experimental foi a mesma do primeiro experimento. Não houve efeito dos aditivos sobre o consumo e digestibilidade da MS e dos nutrientes, produção e composição do leite. O perfil lipídico do leite apresentou menores valores de C4:0 com MON e HOPS. Os teores de C18:0 foram maiores com os HOPS. Os maiores efeitos dos aditivos foram observados na fermentação ruminal onde houve a modulação na produção de ácido acético e propiônico quando os animais receberam MON e HOPS, diminuição na relação acetato/propionato e na estimativa de metano. O tanino diminuiu a produção do metano em relação ao controle. Concluiu-se que os ácidos de lúpulo têm potencial para uso na nutrição de vacas leiteiras, com vistas a alcançar a modulação fermentativa, se classificando como substituto potencial para monensina sódica, enquanto o tanino apresentou efeitos discretos ou ausentes.

Palavras-chave: compostos bioativos, fito-ionóforos, metanogênese, modulação ruminal, perfil de ácidos graxos do leite

USE OF HOP ACIDS AS A RUMEN MODULATOR IN DAIRY COW DIETS

ABSTRACT - Given the global demands for reducing greenhouse gas emissions and the restriction on the use of antibiotics in animal feed, the search for alternative and sustainable additives for ruminant nutrition has intensified. In this context, hop acids, bioactive compounds derived from plant extracts, show potential for modulating ruminal fermentation. The objective was to evaluate the effects of hop acids as an alternative zootechnical additive to sodium monensin in dairy cow diets. CHAPTER II: In the first experimental trial, the effect of different levels of hop acids, with tetrahydro-iso-alpha acid being the most prevalent, on the productive performance and ruminal metabolism of dairy cows was evaluated. The experiment was conducted on a farm located in the municipality of Douradina, Mato Grosso do Sul, using eight cows, four of which were rumen-cannulated and non-lactating, and four lactating cows that were not cannulated. The animals were distributed in two 4 × 4 Latin squares. The treatments consisted of the inclusion of 0, 5, 10, and 15 g/animal/day of hop acids. The experimental period was 20 days, with 14 days of adaptation and 6 days of data collection. No effects on dry matter and nutrient intake were observed. There was an increase in the digestibility of organic matter and total carbohydrates up to an estimated level of 8.6 g/day. The ruminal concentration of N-NH₃ was reduced, with an estimated minimum point at 8.22 g/day. Hop acids altered the concentrations of acetic and propionic acid, as well as their ratio, in addition to reducing the estimated concentration of methane, with a minimum point close to 10 g/day. A linear increase in nitrogen retention was also observed. The results indicated the favoring of more energy-efficient fermentative pathways, with the inclusion of 10 g/animal/day considered the most efficient. CHAPTER III: The second experimental trial compared the level of hop acids determined in the previous trial with other commercial additives. The treatments were: 1) CON (control group, basal diet without additives); 2) MON (inclusion of 24 mg/kg DM of sodium monensin); 3) TAN (2.5 g/kg DM of *Acacia mearnsii* tannin); 4) HOPS (10 g/animal/day of hop acids). The experimental design was the same as in the first experiment. There was no effect of the additives on DM and nutrient intake and digestibility, milk production, and milk composition. The milk lipid profile showed lower C4:0 values with MON and HOPS. C18:0 levels were higher with HOPS. The greatest effects of the additives were observed in ruminal fermentation, where there was modulation in the production of acetic and propionic acid when the animals received MON and HOPS, a decrease in the acetate/propionate ratio, and in the methane estimate. Tannin decreased methane production compared to the control. It was concluded that hop acids have potential for use in dairy cow nutrition, aiming to achieve fermentative modulation, classifying as a potential substitute for sodium monensin, while tannin showed discreet or absent effects.

Keywords: bioactive compounds, phytoionophores, methanogenesis, ruminal modulation, milk fatty acid profile

INTRODUÇÃO

O Painel Inter-governamental sobre Mudanças Climáticas, conhecido pelo acrônimo IPCC trouxe no ano de 2023, mais uma vez, em seus relatórios, dados críticos sobre as mudanças climáticas provindos do aquecimento global assinalando as altas emissões de gases do efeito estufa (GEE) como sendo o cerne do problema, provindos do uso insustentável de energia, uso da terra e mudanças no uso da terra, estilo de vida, padrões de consumo e produção em todo mundo com desigualdades percentuais de emissões entre os países. O painel reportou ainda que nos últimos anos as emissões de CO₂, metano e óxido nitroso, principais GEE, foram as maiores da história (IPCC, 2023).

Dentro desse cenário, os principais setores contribuintes para as altas emissões dos GEE foram expostos, sendo que a agropecuária e as demais formas de uso da terra corresponderam a, aproximadamente, 22% do total, tendo ainda, uma projeção de crescimento visando o aumento da população mundial e o aumento na demanda por alimentos.

No Brasil, a contribuição entre os setores para as emissões dos GEE, são semelhantes ao cenário mundial, tendo o setor agropecuário correspondido a 28,5% do total das emissões brasileiras, sendo que deste, o subsetor “fermentação entérica” representou 57%, o que, na estimativa total representa cerca de 16,2% (BRASIL, 2022). Importante ressaltar que a metodologia do IPCC (2006) separa o setor agropecuário em subsetores, sendo eles fermentação entérica, manejo de dejetos, cultivo de arroz, solos manejados, queima de resíduos agrícolas, calagem e aplicação de ureia.

A fermentação entérica é um processo digestivo natural que ocorre em animais ruminantes, que permite transformar alimentos grosseiros, ricos em celulose, que não são aproveitados pelo homem, em alimento de alto valor nutritivo, como carne e leite, e tem como um de seus vários produtos de fermentação, o metano (CH₄). O nível de emissão desse gás é dependente da espécie animal, quantidade e qualidade do alimento ofertado na dieta, sua digestibilidade, sistema de criação e produtividade do animal. Os bovinos de corte são os que mais emitem CH₄ (88,4%) e os bovinos leiteiros representam 8,4% das emissões (BRASIL, 2022).

O gás metano tem alto potencial de poluição e, por isso, o setor pecuário enfrenta muitas críticas em torno da sua “pegada ambiental”, de maneira até injustificada, visto a importância do setor na manutenção da sociedade, como a mesma se construiu ao longo dos séculos, para a segurança alimentar, gerando renda e emprego.

As críticas ao setor são fundamentadas, principalmente, nos baixos índices zootécnicos em sistemas baseados em pastagens degradadas ou naqueles em que os animais estão aquém do seu potencial produtivo, de forma que são geradas maiores quantidades de GEE por quilo de carne ou leite produzido (Machado et al., 2011). A exemplo disto, o mesmo relatório do IPCC (2023) apontou que o manejo que visa diminuir o uso da terra, combinado com aumento da produtividade acarreta melhor resultado sob o ponto de vista, tanto da segurança alimentar, quanto das emissões de GEE (IPCC, 2023).

Nesta ótica, precisa estar no centro das discussões sobre o tema, o estilo de vida da sociedade atual, onde as grandes populações concentram-se nas cidades e dependem da produção de alimentos que vêm do campo. Dessa forma, a redução das emissões do setor não vem da diminuição da produção de alimentos pela pecuária, mas sim da produção voltada às práticas sustentáveis e regenerativas, buscando sempre um modelo de produção que se adapte ao cenário atual, com olhar atento ao futuro.

As questões de ordem ambiental são amplas, e um olhar holístico se faz necessário, observando a dinâmica produtiva e o balanço de carbono em todo sistema de produção. Contextualizando todos esses temas, meio ambiente, produção animal e saúde humana, o termo *One Health*, do português, Saúde Única, conceitua uma perspectiva nova sobre várias esferas da saúde global, podendo ser simplificadas entre a união indissociável da saúde humana, animal e ambiental.

Dentro do contexto das questões de urgência ambiental, também já é palco de discussões e iniciativas, há alguns anos, a questão de saúde humana e o aumento de bactérias multirresistentes, que traz a necessidade de redução do uso de antibióticos na produção animal, com vistas a reduzir os riscos de resistência cruzada.

O uso de antibióticos na produção de ruminantes, tem como foco o aumento da produtividade, permitindo também, e não por acaso, a redução das emissões de CH₄, já que ao modular a fermentação ruminal, possibilita diminuir a perda de energia por essa via de fermentação. Por isso, desde 2006, a União Europeia proibiu o uso de antibióticos na produção animal. Ao mesmo tempo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) faz um apelo categórico aos produtores e à indústria alimentar pela mesma causa, e assim, muitos esforços têm sido empregados a fim de encontrar novos aditivos nutricionais que possibilitem o aumento da produtividade e a eficiência alimentar, sem possíveis risco a saúde pública.

A proibição ao uso de antibióticos na produção animal também é um tema polêmico, que gera ainda muitas divergências entre profissionais, uma vez que o uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana ainda ocorre em muitos países. De qualquer maneira, o espaço para discussões é garantido, e a busca pelo desenvolvimento no setor pecuário visando aumento da produtividade com alternativas que possam ser mais seguras do ponto de vista de saúde única, tem ganhado espaço e devem ser incentivadas.

Diante do exposto, com objetivo de cumprir com as demandas internacionais urgentes de redução das emissões dos GEE e do uso de antibióticos na alimentação animal, novas estratégias sustentáveis são alvo de pesquisas já há alguns anos, e dentro deste contexto, o uso de óleos essenciais e extratos herbáceos na dieta de vacas leiteiras, para modulação da fermentação ruminal, têm tido destaque e terão enfoque neste trabalho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama da bovinocultura leiteira no Brasil: perspectivas e desafios

A pecuária leiteira tem grande potencial para alcançar os vários Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) definidas pela Organização das Nações Unidas (ONU) na Agenda 2030 e equilibrar as dimensões social, econômica e ambiental do desenvolvimento. Dessa forma, a atividade leiteira pode contribuir para a segurança alimentar, a redução de desigualdades e contribuir diretamente para a preservação

do meio ambiente. Todavia, o desenvolvimento sustentável do setor é dependente da adoção de práticas sustentáveis na produção, além do investimento em tecnologia e conhecimento para a capacitação dos produtores rurais e trabalhadores rurais.

Na conjuntura social, a pecuária leiteira é fundamental no ponto de vista da segurança alimentar, sendo um setor crucial para as questões referentes à manutenção da sociedade atual, pois permite contribuir diretamente para as questões da demanda por nutrientes essenciais como fonte de nutrição e saúde humana. A Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura) - FAO (2023a) reformulou esse tema em um estudo sobre a contribuição dos alimentos de origem animal terrestre para uma dieta e nutrição saudável, apontando que a carne, os ovos e o leite são especialmente importantes, pois, fornecem macronutrientes importantes como proteínas, gorduras e carboidratos, além de micronutrientes como o ferro e a vitamina A.

Nesse contexto, tem se notado uma tendência à redução no consumo de leite na população brasileira, associado às dúvidas sobre os benefícios deste alimento. A Associação Brasileira de Nutrologia e a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição explanaram sobre o consumo de leite de vaca pelo ser humano, reiterando que o leite não é apenas próprio para o consumo humano, como também se configura como fonte relevante de nutrientes, principalmente cálcio e proteína (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2024). A FAO aponta que a proteína do leite apresenta perfil de aminoácidos essenciais que lhe favorecem alta digestibilidade e biodisponibilidade, sendo classificadas como de alto valor biológico (FAO, 2013).

Ainda no contexto nutritivo, nos últimos anos, grande atenção tem se voltado ao perfil de ácidos graxos do leite, com atenção especial aos ácidos linoleicos conjugados (CLA), por seus benefícios a saúde humana, principalmente devido suas propriedades anticarcinogênicas, redução na deposição de gordura corporal, efeitos antidiabetogênicos, prevenção da aterosclerose, modulação do sistema imune, entre outros (MCGUIRE & MCGUIRE, 2000). Todavia, seus benefícios ainda são poucos conhecidos pelos consumidores e pouco explorados pela indústria leiteira no Brasil.

Além disso, a atividade da bovinocultura leiteira gera renda, emprego e está presente em 98% dos municípios brasileiros, com grande representatividade de

pequenos produtores na qual o leite tem papel fundamental na subsistência das famílias (IBGE, 2023; EMBRAPA, 2024; FALCON, et al., 2022; VAN DIJK et al., 2021).

No Brasil, mais da metade do leite produzido é oriundo de apenas 7,4% dos produtores, que tem produção maior que 200 litros/dia, os restantes, 92,6%, que correspondem a mais de 1 milhão de produtores, tem produção inferior a 200 litros por dia. Apesar disto, o setor teve avanços expressivos nos últimos 20 anos, reportando aumento em 91% na produção, graças à maior produtividade do rebanho nacional, no qual o produtor tem investido em tecnologias e manejo alimentar cada vez mais eficientes (RENTERO, 2023).

O IBGE (2024) reportou recorde na produção de leite, que atingiu 35,4 bilhões de litros em 2023, enquanto que o número de vacas ordenhadas (15,6 milhões) diminuiu em relação aos anos anteriores, sendo o menor número registrado desde 1979. Esses dados refletem todo o resultado que a tecnificação que o setor leiteiro brasileiro vem empregado há anos e que o colocou em sexto lugar entre os maiores produtores de leite do mundo, atrás da Índia que lidera o ranking, União Europeia, EUA, Paquistão e China (FAO, 2023b).

Ainda assim, o setor leiteiro apresenta desafios, dentre eles a necessidade de implementação de manejos produtivos cada vez mais eficientes e ambientalmente sustentáveis, buscando reduzir drasticamente o impacto ambiental, em vista a atender às exigências legais traçadas nos acordos internacionais entre os países como a diminuição da “pegada de carbono”, às expectativas da sociedade e alcançar, enfim, a sustentabilidade produtiva.

A produção de ruminantes como um todo, considerando bovinos leiteiros e de corte, é uma atividade reconhecida por seu impacto ambiental, principalmente pela emissão de gases do efeito estufa (GEE), especialmente o metano (CH₄) que sem dúvida, se tornou um dos principais problemas a serem resolvidos pelo setor (FAO, 2023b). Ainda no aspecto ambiental, outros problemas que o setor enfrenta, que diminuem a sustentabilidade do sistema produtivo, é a perda ou excreção de nutrientes com alto potencial de modificação do ambiente, principalmente de nitrogênio (N) e fósforo (P), que são eliminados via fezes e urina em dietas desbalanceadas ou com baixa digestibilidade.

Nesse contexto, tecnologias e diferentes formas de manejo vem sendo alvo de pesquisas, com finalidade de aumentar a sustentabilidade do sistema produtivo de bovinos, pois, tanto se tratando das altas emissões de metano, quanto do mal aproveitamento total dos nutrientes da dieta, ambos representam ineficiência do sistema e redução da produtividade animal, já que representam perda energética e proteica, respectivamente.

Muitas pesquisas têm trazido estratégias para aumentar a eficiência fermentativa nos ruminantes, com atenção máxima nas ações de mitigação do metano entérico e no melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. As ações mais comuns envolvem a manipulação da microbiota ruminal e da fermentação, abordagens nutricionais diversas e o uso de aditivos alimentares. A aplicação dessas ações relaciona-se ao aumento da produtividade animal, além de se enquadrar no cumprimento dos dezessete Objetivos do Desenvolvimento Sustentável da ONU, os quais apontam para a necessidade urgente de redução nas emissões dos GEE até 2030 (CONGIO et al., 2021).

Rentero (2023) reportou que a busca pela bioeficiência na produção leiteira deve ser o foco atual, representada pela necessidade de aliar eficiência produtiva e econômica com sustentabilidade ambiental, diminuindo as emissões de GEE e investindo no processo de descarbonização em todos os elos da cadeia produtiva, buscando consumo hídrico eficiente e consciente, bem como adotando práticas regenerativas em áreas degradadas (CAMPBELL et al., 2018).

Neste sentido, o Brasil destaca-se no desenvolvimento de tecnologias que mitigam os impactos ambientais. Dentro desta conjuntura, o Governo Federal brasileiro assumiu voluntariamente, na Conferência da ONU sobre Mudanças Climáticas, realizada em 2009 (COP15), o compromisso de reduzir de 36 a 38,9% das emissões de GEE até o ano de 2020. A partir desta política, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) vem buscando desenvolver Planos Setoriais de Mitigação e de Adaptação às Mudanças Climáticas, no intuito de estabelecer uma economia de baixo carbono nos diversos setores produtivos brasileiros (PAIXÃO e BACHA, 2015).

Uma das ações foi a criação do Plano ABC (Agricultura de Baixo Carbono), implementado de 2010 a 2020 em cumprimento ao Decreto nº 7.390/2010 que

regulamenta a Política Nacional sobre Mudanças do Clima (PNMC). O PNMC é uma política pública que busca desenvolver e aplicar tecnologias produtivas mais limpas nos mais diversos setores da agropecuária brasileira, para adaptação à mudança climática e baixa emissão de carbono. O Plano ABC, atualmente sucedido pelo Plano ABC+, correspondendo ao período de 2020 a 2030, fomenta práticas e tecnologias com efetiva capacidade de redução das emissões de GEE, e que contribuam para o aumento da produtividade na agropecuária (BRASIL, 2021).

Um exemplo das várias ações que vêm sendo desenvolvidas é a Integração Lavoura, Pecuária e Floresta (ILPF), que apresenta a capacidade de neutralização climática, sequestrando eficientemente mais carbono do ar (SILVA et al., 2020). Além desse sistema produtivo, outras tecnologias estão sendo cada vez mais pesquisadas e testadas com o mesmo intuito. Com estas pesquisas científicas e suas aplicações no campo, o Brasil se consolida como um país que não precisa escolher entre produção e conservação ambiental, tornando-se a maior potência agroambiental mundial (ALBUQUERQUE, 2020).

Melhorar as condições nutricionais dos animais, além da genética e manejo de pastagens, vêm como uma estratégia de mitigação dos impactos ambientais (CODOGNOTO et al., 2014), além de reduzir custos e aumentar a produção. Dentro desta conjuntura, expressa-se a necessidade de compreender a fisiologia digestiva dos animais ruminantes. Por serem animais que demandam de alimentos com dieta preferencialmente volumosa, a qualidade deste alimento os faz produzir mais ou menos energia, resultando em mais ou menos emissões (MATRICARDI et al., 2021).

2.2 Processos fermentativos no rúmen e as emissões de CH₄

A produção de bovinos, tanto leiteira quanto de corte, é fundamentada em um sistema de simbiose complexo entre os microrganismos do rúmen e o animal ruminante. Nesse sistema existem abundantes elementos envolvidos, que interagem entre si e com o meio (rúmen), fornecendo produtos com alto nível de interdependência associada especialmente às condições do ambiente ruminal e alimentação do animal (RUSSEL, 2002).

O processo digestivo da espécie bovina envolve o mutualismo com os microrganismos ruminais, em que o animal hospedeiro provê um ambiente ótimo, com pH entre 5,5 e 7,2, umidade de 85 a 90%, temperatura de 38 a 41°C, osmolaridade de 260 a 340 mOsm, além dos substratos apropriados ao desenvolvimento destes, em ambiente anaeróbico, provenientes dos alimentos e da água ingeridos (BERCHIELLI et al., 2006).

Os microrganismos ruminais em compensação, produzem ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e proteína microbiana, que serão convertidos, respectivamente, em energia e proteína para o animal (RUSSEL, 2002). Essa relação benéfica permite converter alimentos de baixa qualidade para os humanos, em proteína de alto valor nutricional.

Todavia, apesar da eficiente dinâmica que ocorre no rúmen, há a produção de subprodutos que representam perdas energéticas, como o metano, o qual representa importante fator de impacto ambiental, conforme já abordado em tópicos anteriores. Para entender o processo fermentativo até chegar à produção dos produtos e subprodutos de fermentação, é necessário que se discorra objetivamente sobre os microrganismos que compõem o rúmen.

Os microrganismos ruminais podem ser agrupados em função da sua estratégia nutricional ou característica, como sendo bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos, que dependem de amônia e ácidos graxos de cadeia ramificada para síntese proteica; fermentadoras de carboidratos não-fibrosos, esse grupo também pode utilizar a amônia para síntese de proteína microbiana, mas também se utiliza de aminoácidos ou peptídeos; proteolíticas ou aminolíticas, que são bactérias que utilizam especialmente aminoácidos como substrato energético, tendo como principal atividade a proteólise; as bactérias que utilizam o ácido láctico como substrato energético são chamadas de lácticas; pectinolíticas, grupo que usa a pectina especialmente; lipolíticas, responsáveis pela hidrólise de triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos; as ureolíticas que liberam a amônia no ambiente ruminal a partir da hidrólise da ureia e por fim as metanogênicas, um grupo distinto de microrganismos que se classificam como arqueobactérias e que utilizam os produtos da fermentação de outras bactérias como dióxido de carbono (CO₂) e gás hidrogênio (H₂) para produzir metano (CH₄) (BERCHIELLI et al., 2006; KOZLOSKI, 2009).

Então, as bactérias ao fermentarem as diferentes porções dos alimentos para obterem energia, geram os ácidos graxos voláteis (AGV's) e quantidades significativas de dinucleotídeo flavina adenina reduzido (FADH_2) e dinucleotídeo nicotinamida adenina reduzido (NADH), CO_2 , H_2 como produtos finais. As arqueobactérias (metanogênicas), entram nesse processo com papel importantíssimo para a manutenção da fermentação ruminal, pois possibilitam, a partir da produção de metano, diminuir as concentrações de H_2 no rúmen e, dessa forma, possibilitar a regeneração de co-fatores como NAD^+ e dinucleotídeo nicotinamida adenina fosfato (NADP^+). A redução das coenzimas NADH e FADH_2 possibilitam que o sistema de transporte de íons e elétrons na membrana celular microbianas do substrato para o interior de sua célula seja adequado, para assim, dar seguimento aos processos de degradação dos alimentos (BERCHIELLI et al., 2006).

Segundo Kozloski (2009), a proporção em que são produzidos os AGV's e o lactato, depende da espécie bacteriana e sua especificidade, mas depende, principalmente, da concentração de NADH e H_2 na célula. O sistema de interdependência, bem como a predominância de algumas espécies de microrganismos, depende da dieta ingerida pelo animal.

As inúmeras relações que existem no meio ruminal, possibilitam que o produto da degradação do alimento de algumas espécies, seja o substrato energético para outras. Esse é o caso do metano, onde as arqueobactérias metanogênicas utilizam o H_2 , para reduzir o CO_2 à CH_4 . Assim, qualquer alteração na dieta que reduza a atividade das bactérias metanogênicas, modula o processo fermentativo, pois favorece o acúmulo de NADH nas bactérias, forçando-as a produzir maiores quantidades de propionato. Todavia, apesar da possibilidade dessas modulações na dinâmica ruminal e da fermentação, o ácido graxo mais frequente sempre será o acetato, sendo a produção de metano relacionada diretamente a ele, pois no processo de produção do acetato maiores quantidades de H_2 são geradas (HOOK et al, 2010).

No rúmen, como em todo os ecossistemas, os princípios operantes têm por base os fundamentos da termodinâmica em que a energia é considerada constante, porém, ela pode tomar diferentes formas como térmica, química, elétrica, cinética, gravitacional, entre outras. Os conceitos da termodinâmica, imperam sobre o ambiente ruminal a constatação de que a quantidade de energia fornecida via

alimentação para o animal, se transforma em diferentes produtos, e sob a ótica da produção de proteína animal seja leite e/ou carne, toda energia fornecida que não acarreta aumento na produtividade, representa perda energética, e um exemplo claro disto é a perda de energia na forma de gás metano e a perda de proteína como amônia e/ou nitrogênio.

Dessa forma, pode-se inserir na revisão o conceito de eficiência energética em que se são analisadas as rotas de fermentação, a partir de seus produtos e, ao final do ciclo, avalia-se a eficiência produtiva do animal frente às estratégias utilizadas no processo produtivo, especialmente na nutrição. Dentro deste contexto, muitos pesquisadores têm buscado formas de modular a fermentação ruminal com a finalidade de aumentar a eficiência produtiva calcada na ótica ambiental de mitigação da emissão de metano e do desperdício de nutrientes.

2.3 Aditivos dietéticos e nutricionais e suas ações mitigatórias sobre o metano

Muitos países produtores e consumidores de carne e leite têm buscado meios de reduzir as emissões em prol de retardar os efeitos do aquecimento global (ALMEIDA et al., 2021). As manobras mais conhecidas são as que se aplicam às dietas dos animais, nas quais os pesquisadores procuram identificar, quantificar e validar aditivos nutricionais que reduzem as emissões entéricas de CH₄.

Black et al. (2021) expuseram que estratégias de mitigação dos impactos causados pelos GEE emitidos pela produção de ruminantes abrangem desde a nutrição até o manejo simples dos animais. Alguns autores como Carega et al. (2017), Neto & Orlandini (2020) relataram a possibilidade de diminuir a produção dos gases do processo de fermentação ruminal, com a melhora da qualidade dos carboidratos ingeridos e a utilização da suplementação das dietas com aditivos alimentares.

Nesse aspecto os ionóforos são aditivos bastante utilizados no intuito de melhorar a eficiência alimentar dos ruminantes. Segundo Tedeschi et al. 2003, com o uso de ionóforos é possível mitigar até 25% das emissões de CH₄, além de reduzir cerca de 4% da ingestão dos alimentos sem prejudicar a produtividade.

Todavia, diante do contexto atual, a busca por novos aditivos capazes de modular a fermentação ruminal, levaram ao aumento substancial nas pesquisas envolvendo compostos secundários de plantas. Esses compostos têm diversas funções para as plantas, como proteção contra fungos, bactérias, insetos e/ou herbívoros. Os taninos, as saponinas e os óleos essenciais são os mais estudados (BERCHIELLI et al., 2006).

Tais compostos são utilizados como aditivos nas dietas para ruminantes, sendo adicionados em baixos níveis de inclusão, com a finalidade de modular a fermentação ruminal. Os compostos são ofertados aos animais no alimento que os contenham ou pela adição dos extratos produzidos industrialmente.

Esses alimentos ou extratos podem diminuir a perda de compostos nitrogenados e a emissão de metano e serem uma alternativa interessante aos antibióticos ionóforos. Todavia, se faz necessário mais estudos para o estabelecimento de níveis adequados de suplementação, suas interações com a microbiota ruminal e os componentes da dieta, bem como o tipo de dieta, espécie e nível produtivo do animal mantendo o atendimento das exigências dos animais.

2.3.1 Monensina sódica

A monensina sódica é um antibiótico ionóforo produzida a partir da bactéria *Streptomyces cinnamonensis* (HANEY & HOEHN, 1967) e utilizada amplamente como aditivo zootécnico na alimentação de ruminantes, com o objetivo de promover a eficiência alimentar por meio da modulação da fermentação ruminal. A ação dos ionóforos na fermentação ruminal ocorre por consequência seleção das bactérias gram-negativas, produtoras de ácido succínio ou que fermentam ácido láctico e inibição das gram-positivas, que produzem ácido acético, láctico e H₂ (HAQUE, 2018).

O mecanismo de ação da monensina sobre as bactérias é denominado bomba iônica, responsável por regular o balanço químico entre o meio interno e externo da célula bacteriana. De maneira resumida, a monensina liga-se à membrana das bactérias gram-positivas, por afinidade, e ao ligar-se estabelecem desequilíbrio de cátions e prótons dentro da célula, de forma que o pH interno se desestabiliza, ocorre

maior concentração de Na^+ e influxo de água para dentro da célula bacteriana, aumentando a pressão osmótica, culminando com o rompimento da célula bacteriana e sua morte (RUSSEL & STROBEL, 1989).

No que diz respeito aos produtos da fermentação, as bactérias que produzem ácido láctico, acético, butírico, fórmico e hidrogênio, são suscetíveis a ação dos ionóforos, já as bactérias que produzem ácido succínico e propiônico, e as que utilizam o lactato, estão entre as resistentes. Dessa forma, de maneira geral, o que se espera ao adicionar a monensina na dieta de ruminantes é que haja aumento da eficiência no metabolismo energético das bactérias ruminais, pela seleção de microrganismos com rotas metabólicas mais eficientes, onde haja menor perda de energia, evidenciado pelo aumento de concentração de propionato ruminal (MOURA et al., 2021) e diminuição na proporção de acetato (AHVANOOEI et al., 2024);

Sobre a produção de metano, os resultados divergem conforme variáveis de tempo de suplementação, dose e tipo de dieta (AHVANOOEI et al., 2023). Frequentemente, pesquisadores relatam que a monensina reduz as emissões de metano a curto prazo (entre 2 a 4 semanas), mas o mesmo não acontece à longo prazo (mais de 6 semanas), demonstrando que o resultado é dependente da inibição que ocorre na população de protozoários ciliados, que se adapta ao meio e se restauradas a partir da 4ª semana de suplementação (GUAN et al., 2006). Isso ocorre pois as bactérias metanogênicas têm relação simbiótica com os protozoários (HOOK et al., 2010). A monensina não inibe as bactérias metanogênicas, mas altera a população bacteriana de gram + para gram -, alterando a fermentação ruminal, diminuindo a proporção de acetato:propionato e consequentemente, a produção de CH_4 (SHAREN et al., 2017; HAQUE, 2018).

No metabolismo proteico, espera-se que a monensina também gere aumento na eficiência, pela diminuição na absorção da amônia e aumento no aporte de proteína alimentar que chega no intestino delgado (DUFFIELD et al., 2008; HORST et al., 2024). Todavia, em metanálise realizada por Ahvanooei et al. (2024) os autores constataram que a monensina não influencia na retenção de nitrogênio em vacas leiteiras, mas foi observada correlação negativa entre a suplementação de monensina e a excreção fecal de nitrogênio (MARTINEAU et al., 2007).

Os efeitos da monensina são dependentes do tipo de dieta, nível (AHVANOOEI et al., 2023) e tempo de suplementação, bem como do estado fisiológico dos animais (DUFFIELD et al., 2008). Um compilado de estudos reunidos em uma meta-análise, apontou para o fato de que a ingestão de matéria seca diminuiu com o aumento da dose da monensina de 22 para 96 ppm, a produção de leite por outro lado aumentou linearmente com a suplementação de até 23 ppm, se manteve estável entre 24 e 38 ppm e, acima de 38 ppm, a produção de leite diminuiu, a composição do leite também variou conforme a dose de monensina administrada (REZAEI AHVANOOEI et al., 2023; AHVANOOEI et al., 2024).

2.3.2 Taninos condensados

Os taninos são compostos secundários das plantas, presentes em forragens, árvores, arbustos e leguminosas nutricionalmente importantes para os ruminantes. Haslam (1966) descreveu quimicamente tais compostos como polifenóis ou como moléculas de alto peso molecular, capazes de se ligar às proteínas, aminoácidos ou polissacarídeos.

A capacidade de formar ligações com outras moléculas depende, no entanto, do tamanho da molécula de tanino, suas características de solubilidade, bem como, das características das moléculas precipitadas, como ponto isoelétrico e quantidade de aminoácidos específicos. Os taninos são divididos em três grupos: hidrolisáveis, condensados e florotaninos, sendo que os dois primeiros estão presentes em várias plantas terrestres e o último está presente em algas marinhas (HASLAM, 1989).

Os taninos condensados (TC) ou proantocianidinas, são flavonóides, responsáveis pela defesa da planta frente à patógenos e insetos. Na nutrição de ruminantes os taninos são estudados principalmente pela capacidade de precipitação de proteínas e atividade antimicrobiana (SCALBERT, 1991), antiparasitária (ATHANASIADOU et al., 2000) e antioxidante, porém, também são descritas atividade anti-inflamatória e antiviral (Huang et al., 2018).

Estudos demonstram que o uso de TC em baixas concentrações na dieta, reduzem a degradação de proteínas no rúmen, aumentando o aporte de proteínas no intestino delgado para absorção (WANG et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2023).

Também foram relatados aumento de perda de proteína nas fezes, em situações em que esses complexos não se desfazem (McNEILL et al., 1998). Contudo, as estruturas dos TC afetam sua capacidade de ligação e seu impacto na digestão. Waghorn (2008) relata que a concentração de proteína bruta e fibra na dieta, são diretamente determinantes sobre o potencial dos mesmos compostos serem prejudiciais ou benéficos.

No que diz respeito à atividade antimicrobiana, Scalbert (1991), descreveu que os mecanismos envolvidos são a inibição de enzimas microbianas extracelulares, privação de substratos necessários ao crescimento microbiano ou ação direta no metabolismo microbiano através da inibição da fosforilação oxidativa. Estudos têm demonstrado que esses compostos têm ação inibitória sobre protozoários e arqueobactérias metanogênicas, ocasionando redução na produção de nitrogênio amoniacal (N-NH_3 , CH_4 e na proporção de acetato e propionato (CIESLAK et al., 2012). Há ainda relatos de que não houve diminuição na digestibilidade da matéria seca ou na produção de leite (MHLONGO et al., 2023).

No entanto, existem muitas controvérsias sobre os efeitos dos taninos na dieta de vacas leiteiras. Lazzari et al. (2023) não observaram efeitos mitigatórios sobre as emissões de CH_4 em relação com consumo de matéria seca (CMS), porém, houve diminuição na digestibilidade da MO e na produção de leite. Oliveira et al. (2023) por outro lado, observaram que não houve diminuição na produção de leite e não efeito sobre o CMS, mas existiu tendência de aumento na proporção acetato:propionato.

A diminuição do nitrogênio urinário parece ser o resultado mais frequentemente observado entre os autores. No entanto, estudos adicionais devem ser realizados, a fim de analisar os efeitos dos taninos e suas interações com a dieta, principalmente quanto às características da forragem presente na dieta, principalmente àquelas determinadas pela fibra e a concentração de proteína bruta (PB; LAZZARI et al., 2023).

2.3.3 Ácidos de lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* Linnaeus) é uma planta trepadeira perene, caracterizada pela produção de frutos e flores ricos em polifenóis e óleos essenciais. Conhecido pelo seu papel na indústria cervejeira, o lúpulo e seus extratos vêm sendo alvo de pesquisas, com a finalidade de usufruir das propriedades fitoquímicas além das utilizadas na cerveja (RETTBERG et al., 2018; DURELLO et al., 2019; SALANTA et al., 2023).

Como ingrediente da cerveja, o lúpulo confere aroma, amargor, estabilidade coloidal à espuma, tem papel antioxidante e antimicrobiano na conservação da bebida (WANNENMACHER et al., 2018). Os cones de lúpulo constituídos pela inflorescência feminina da planta e outras partes da planta, são ricos em diferentes moléculas biologicamente ativas, como resinas, óleo e polifenóis que apresentam potencial para serem utilizados na indústria alimentícia, de saúde e na alimentação animal. Dessa forma, as pesquisas têm concentrado suas atenções nos ácidos de lúpulo, óleos essenciais e flavonóides (DESVIADO et al., 2020).

As resinas são metabólitos secundários, podem ser divididas em resinas moles e duras, caracterizadas de acordo com sua solubilidade em hexano. As resinas macias estão presentes em maiores quantidades (10-25%) do que as duras (3 a 5%), as primeiras são formadas pelos α -ácidos e as segundas pelos β -ácidos. Os α -ácidos são compostos por humolone, cohumulone, adhumulone, prehumulone e posthumulone, enquanto os β -ácidos são formados por lupulonas. O processo de fabricação da cerveja, que consiste em adicionar o lúpulo ao mosto em ebulição, faz com que os α -ácidos sejam isomerizados em iso- α -ácidos, dando o característico sabor amargo à bebida (HRNCIC et al., 2019).

A forma de extração dos compostos interfere diretamente no rendimento dos mesmos (HRNCIC et al., 2019). Na extração por dióxido de carbono (CO₂) há maior rendimento de α -ácidos e β -ácidos. Outras formas de extração utilizadas são sólido-líquido com solventes de diferentes polaridades e extração profunda com solventes eutéticos (SILVA et al., 2023).

Dentre os vários compostos extraídos do lúpulo e suas propriedades, a atividade antimicrobiana é sem dúvida, uma das propriedades fitoquímicas de interesse na produção de ruminantes, com a finalidade de utilização como aditivo alimentar para a manipulação ruminal. Os α -ácidos (humulonas), β -ácidos

(lupulonas) e seus produtos de oxidação, como o tetrahidro-iso-alfa, são as substâncias responsáveis por essa atividade. Na cerveja, a inibição do crescimento de bactérias gram-positivas é reportado mesmo em concentrações muito baixas (BOGDANOVA et al., 2018). Os ácidos α e β , humulonas e lupulonas, e as formas isomerizadas de humulonas também podem ser considerados agentes antimicrobianos em extrato de lúpulo (BOGDANOVA et al., 2018).

Os mecanismos envolvidos na atividade antimicrobiana dos compostos do lúpulo estão ligados a perda da integridade da parede celular do microrganismo ao qual os compostos bioativos se aderem e devido ao seu caráter hidrofóbico alteram o fluxo de água da célula, reduzem o pH intracelular e a atividade redox conduzindo a danos oxidativos e morte celular (BEHR & VOGEL, 2010). A ação antibacteriana dos iso- α - ácidos de lúpulo como ionóforos que transportam H^+ para as células bacterianas e dissipam íons através da membrana citoplasmática, no entanto, é alterada pelos índices de pH e concentração de manganês (BEHR & VOGEL, 2009).

Os extratos de lúpulo, resíduo da indústria cervejeira, podem ser utilizados como fonte de compostos naturais na alimentação de ruminantes, com foco especial nos possíveis efeitos sobre o rúmen.

NARVÁEZ et al. (2011) avaliaram os efeitos do lúpulo na fermentação ruminal *in vitro* em dietas com diferentes teores de forragem (dieta concentrada, dieta somente com forrageiras e uma terceira dieta mista), o suplemento de lúpulo (79g de β -ácidos e 11g de α -ácidos e 44g de taninos condensados por kg de MS) foi incluído nas concentrações de 50, 100, 200 e 400 $\mu\text{g/mL}$ (equivalente à 0,5–16 g/kg MS). Os autores notaram a redução na produção de metano em todos os substratos alimentares estudados, concomitante a redução na proporção acetato:propionato, inferindo que ao incluir o lúpulo, houve maior produção de ácido propiônico do que acético, gerando menor disponibilidade de substrato para as bactérias metanogênicas. A diminuição na proporção acetato:propionato também foi reportado por LAVRENIC et al. (2015) em ensaio *in vitro*.

Resultados diferentes foram reportados por Blanco et al. (2018), que encontraram aumento na proporção de acetato:propionato quando incluído o lúpulo na dieta de cordeiros de engorda. A dieta e sua proporção concentrado:volumoso parece estar diretamente ligada aos seus efeitos, mas ainda é faltam mais estudos

in vivo e a caracterização completa do tipo de extrato utilizado, bem como a concentração dos ácidos presentes e demais compostos do lúpulo e suas interações com o tipo de dieta ofertada.

Usando doses crescentes de β -ácidos ou iso- α -ácidos de lúpulo foram avaliadas *in vitro* em fluidos ruminais de vacas leiteiras em lactação observou-se aumento do pH, todavia, não foi observado efeito sobre a digestão de nutrientes, perfil de AGV ou no metabolismo de nitrogênio (SALFER et al., 2020).

Os efeitos da inclusão de níveis crescentes de lúpulo peletizado (84 g de β -ácidos e 7 g de α -ácidos por kg de MS) foram avaliados na dieta de novilhos em confinamento sendo observado melhor ganho médio diário (GMD) no maior nível de inclusão do lúpulo tanto na fase de crescimento quanto de terminação (476 mg/kg de MS e 952 mg/kg de MS, respectivamente). Todavia, o CMS, crescimento e eficiência não foram afetados. Os autores avaliaram ainda os efeitos do lúpulo na fermentação ruminal num ensaio *in vitro* com fluido ruminal de vacas leiteiras e, neste observaram que ocorreu aumento linear na concentração de AGV, com elevadas proporções de propionato, reduzindo assim a relação acetato:propionato, quando comparado ao tratamento controle, permitindo destacar o efeito dependente da dose de inclusão do suplemento, e o fato de que parece haver uma resposta mais pronunciada quando são utilizadas dietas forrageiras em relação as dietas concentradas (WANG et al., 2010).

Os efeitos da adição do extrato de lúpulo (30,7% de lupulona) sobre as bactérias ruminais produtoras de amônia foram avaliados por FLYTHE (2009) que observou que a produção de amônia foi inibida pelo efeito antimicrobiano do lúpulo frente às bactérias.

Estudos que avaliem os efeitos dos ácidos de lúpulo na dieta de ruminantes, com atenção aos índices zootécnicos em relação a outros aditivos, são necessários.

3 OBJETIVOS

Objetivou-se avaliar o efeito da adição dos ácidos de lúpulo, extraído do lúpulo e do tanino de Acácia, sobre o metabolismo e a produção de leite em vacas leiteiras buscando identificar qual a dose adequada para o seu uso na alimentação de vacas

leiteiras, com a finalidade de propor um aditivo de origem natural alternativo à monensina.

Assim, buscou-se caracterizar, comparar e analisar os efeitos dos ácidos de lúpulo, do tanino e da monensina sobre:

- Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes;
- Produção e composição do leite;
- Perfil lipídico do leite;

Fermentação ruminal quanto ao pH; N-NH₃; e AGV's;

- Estimativa da produção de metano;
- Balanço de nitrogênio;
- Síntese de proteína microbiana.

REFERÊNCIAS

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. **Journal of environmental quality**, v. 32, n. 5, p. 1591–1602, 2003. DOI: 10.2134/jeq2003.1591.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R.L. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 9, p. 1025-1033, 2000. DOI: 10.1016/S0020-7519(00)00083-7.

BEHR, J.; VOGEL, R. F. Mechanisms of hop inhibition include the transmembrane redox reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 142-149, 2010. DOI: 10.1128/AEM.01693-09

BEHR, J.; VOGEL, R. F. Mechanisms of Hop Inhibition: Hop Ionophores. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6074–6081, 2009. DOI: 10.1021/jf900847y

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

BLANCO, C.; BODAS, R.; MORÁN, L.; MATEO, J.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F. J. Effect of hop (*Humulus lupulus* L.) inclusion in the diet for fattening lambs on animal performance, ruminal characteristics and meat quality. **Food Research International**, v. 108, p. 42-47, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.03.030

BOGDANOVA, K.; RÖDEROVA, M.; KOLAR, M.; LANGOVA, K.; DUSEK, M.; JOST, P.; KUBELKOVA, K.; BOSTIK, P.; OLSOVSKA, J. Antibiofilm activity of bioactive hop compounds humulone, lupulone and xanthohumol toward susceptible and resistant staphylococci. **Research in Microbiology**, v. 169, n. 3, p. 127-134. 2018. DOI: 10.1016/j.resmic.2017.12.005

BRASIL, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. **Estimativas Anuais de Emissões de Gases de Efeito Estufa no Brasil**. Brasília-DF, 6º edição, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/acompanhe-o-mcti/sirene/publicacoes/estimativas-anuais-de-emissoes-gee>. Acesso em 9 de janeiro de 2024.

CAMPBELL, B. M.; HANSEN, J.; RIOX, J.; STIRLING, C. M.; TWOMLOW, S.; WOLLENBERG, E. L. Urgent action to combat climate change and its impacts (SDG 13): transforming agriculture and food systems. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 34, p. 13-20, Oct. 2018. DOI: 10.1016/j.cosust.2018.06.005

CIESLAK, A.; ZMORA, P.; PERS-KAMCZYC, E.; SZUMACHER-STRABEL, M. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1–4, p. 102-106. 2012. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.07.012

DESVIADO, G.; GULLON, P.; GULLON, B.; MUNEKATA, P. E. S.; LOURENÇO, J. K. *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. **Applied Sciences**. v. 10, n. 15, p. 5074, 2020. DOI: 10.3390/app10155074

DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 4, p. 1334-1346, 2008. DOI: 10.3168/jds.2007-0607

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR., S. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019. DOI:10.21577/0100-4042.20170412

FAO. 2023a. **Contribution of terrestrial animal source food to healthy diets for improved nutrition and health outcomes - An evidence and policy overview on the state of knowledge and gaps**. Roma, Italy, 296 p. ISBN 978-92-5-137536-5. DOI:10.4060/cc3912en

FAO. 2023b. **Food safety implications from the use of environmental inhibitors in agrifood systems**. Food Safety and Quality Series, No. 24. Rome. DOI: 10.4060/cc8647en

BRASIL, 2021. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Plano Setorial para Adaptação à Mudança do Clima e Baixa Emissão de Carbono na Agropecuária 2020-2030: Plano Operacional** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inovação, Desenvolvimento Rural e Irrigação. Brasília: MAPA/DEPROS, 2021.133p. ISBN: 978-65-86803-63-1.

FAO. 2013. Food and Agriculture Organization. Milk and dairy products in human nutrition. Rome. E-ISBN 978-92-5-107864-8. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/bf75d4cd-54ed-45a8-bf1b-71606320f596/content>. Acesso em 29/04/2025.

CONGIO, G. F. de S.; BANNINK, A.; MOGOLLÓN, O. L. M. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: a meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, v. 312, 127693, 2021. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.127693

FLYTHE, M.D. The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 6, p. 712–717, Jun. 2009. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02600.x

GUAN, H.; WITTENBERG, K. M.; OMINSKI, K. H.; KRAUSE, D. O. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 7, p. 1896–1906, Jul. 2006. DOI: 10.2527/jas.2005-652

HANEY, M.; HOEHN, M. Monensin, a new biologically active compound I: Discovery and isolation. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 7, p. 349-352, 1967.

HAQUE, M. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 60, n. 15, 2018. DOI: 10.1186/s40781-018-0175-7

HASLAM, E. **Chemistry of vegetable tannis**. London: Academic Press, 1966. 179p.

HASLAM, E. Vegetable tannis. In: CONN, E.E. (Ed.) **The biochemistry of plants**. London: Academic Press, 1981. p. 527-556.

HOOK, S. E.; WRIGHT, A. G.; McBRIDE, B. W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. **Archaea**, v. 30, 2010. DOI:10.1155/2010/945785

HORST, E. A.; KVIDERA, S. K.; HAGERTY, S.; FRENCH, P. D.; CARLSON, D. B.; DHUYVETTER, K.; HOLLOWAY, A. W. Effect of monensin on milk production efficiency and milk composition in lactating dairy cows fed modern diets. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 3, p. 1441-1449. 2024. DOI: 10.3168/jds.2023-23849

HRNCIC, M. K.; SPANINGER, E.; KOSIR, I. J.; KNEZ, Z.; URBANO, B. Hop compounds: extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 257, 2019. DOI: 10.3390/nu11020257

HUANG, Q.; LIUB, X.; ZHAO, G.; HUC, T.; WANG, Y. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 137-150, Jun. 2018. DOI: 10.1016/j.aninu.2017.09.004

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v.51, p.1-12, 2023. ISSN 0101-4234. Disponível em: https://www.gov.br/mpa/pt-br/assuntos/noticias/ppm_2023_v51_br_informativo.pdf. Acesso em 01 de maio de 2025.

IPCC, 2023. Summary for policymakers. In: LEE, H.; ROMERO, J. (Eds.). **Climate change 2023: Synthesis report contribution of working groups I, II and III to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change**. Geneva, Switzerland: IPCC, pp. 1-34, 2023. DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001

IPCC, 2006. INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Agriculture, forestry and other land use. In: EGGLESTON, H. S. et al. (eds.). 2006 IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories. Hayama: IGES, 2006. v. 4. Disponível em: <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/>

LAZZARI, G.; MUNGER, A.; EGGERSCHWILER, L.; BORDA-MOLINA, D.; SEIFERT, J.; CAMARINHA-SILVA, A.; SCHRADER, S.; ZAHNER, M.; ZEYER, K.; KREUZER, M. DOHME-MEIER, F. Effects of *Acacia mearnsii* added to silages differing in nutrient composition and condensed tannins on ruminal and manure-derived methane emissions of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 10, p. 6816-6833, Oct. 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22901

McGUIRE, M. A.; McGUIRE, M. K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. **Journal of Animal Science**, v. 77, suppl.E, p. 1–8. 2000. DOI: 10.2527/jas2000.00218812007700ES0033x

MHLONGO, L. C.; KENYON, P.; NSAHLAI, I. Effect of dietary inclusions of different types of *Acacia mearnsii* on milk performance and nutrient intake of dairy cows. **Veterinary and Animal Science**, v. 21, Sept. 2023. DOI: 10.1016/j.vas.2023.100299

MOURA, D. C.; TORRES, R. N. S.; SILVA, H. M.; DONADIA, A. B.; MENEGAZZO, L.; XAVIER, M. L. M.; ALESSI, K. C.; SOARES, S. R.; GHEDINI, C. P.; OLIVEIRA, A. S. Meta-analysis of the effects of ionophores supplementation on dairy cows performance and ruminal fermentation. **Livestock Science**, v. 254, 2021. DOI:10.1016/j.livsci.2021.104729

NARVAEZ, N.; WANG, Y.; XU, Z.; McALLISTER, T. Effects of hops on *in vitro* ruminal fermentation of diets varying in forage content. **Livestock Science**, v. 138, n. 1–3, p. 193-201. 2011. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.12.028.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C. A.; RIBAS FILHO, D.; SORIANO, E. A.; HAUBERT, N. J. B. G. B.; LONGO, S.; AMANCIO, O. M. S. Consensus of the Brazilian Association of Nutrology and the Brazilian Society for Food and Nutrition on the consumption of cow's milk by humans. **International Journal of Nutrology**, São Paulo, v. 17, n. 3, 2024. DOI: 10.54448/ijn24302

OLIVEIRA, L. N.; PEREIRA, M. A. N.; OLIVEIRA, C. D. S.; OLIVEIRA, C. C.; SILVA, R. B.; PEREIRA, R. A. N.; DeVRIES, T.; PEREIRA, M. N. Effect of low dietary concentrations of *Acacia mearnsii* tannin extract on chewing, ruminal fermentation, digestibility, nitrogen partition, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 5, p. 3203-3216, May, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22521

LAVRENČIČ, A; LEVART, A; KOŠIR, I.J; ČERENAK, A. In vitro gas production kinetics and short-chain fatty acid production from rumen incubation of diets supplemented with hop cones (*Humulus lupulus* L.). **Animal**, v. 9, n. 4, p. 576-581, 2015. DOI: 10.1017/S1751731114002936.

MARTINEAU, R.; BENCHAAAR, C.; PETIT, H.V.; LAPIERRE, H.; OUELLET, D. R.; PELLERIN, D.; BERTHIAUME, R. Effects of lasalocid or monensin supplementation on digestion, ruminal Fermentation, blood metabolites, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5714-5725, 2007. DOI: 10.3168/jds.2007-0368

RENTERO, N. Projeção de tendências para o leite aqui e lá fora. In: **Anuário do leite 2023**: Leite baixo carbono, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 118 p. Disponível em: <
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1154264/1/Anuario-Leite-2023.pdf>>

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop aroma and hoppy beer flavor: chemical backgrounds and analytical tools— A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 76, n. 1, p. 1–20, 2018. DOI: 10.1080/03610470.2017.1402574

REZAEI AHVANOUEI, M. R; NOROUZIAN, M. A; PIRAY, A. H et al. Effects of monensin supplementation on lactation performance of dairy cows: a systematic review and dose–response meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 13, n. 568, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-27395-9

REZAEI AHVANOUEI, M. R; NOROUZIAN, M. A; PIRAY, A. H; VAHMANI, P; GHAFFARI, M. H. Effects of monensin supplementation on rumen fermentation, methane emissions, nitrogen balance, and metabolic responses of dairy cows: A

systematic review and dose-response meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 1, p. 607-624, 2024. DOI: 10.3168/jds.2023-23441

RUSSEL, J. B.; STROBEL, H. J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1989. DOI: 10.1128/aem.55.1.1-6.1989.

SALANTA, L. C.; FARCAS, A. C.; BORSA, A.; POP, C. R. Current strategies for the management of valuable compounds from hops waste for a circular economy. **Food Chemistry**, v. 19, Oct., 2023. DOI: 10.1016/j.fochx.2023.100876

SALFER, I. J.; FESSENDEN, S. W.; STERN, M. D. Evaluation of iso- α -acid and β -acid extracts from hops (*Humulus lupulus* L.) on fermentation by rumen microbes in dual-flow continuous culture fermenters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 260, 2020, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114385

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991. DOI: 10.1016/0031-9422(91)83426-L

SILVA, K. F. C.; STRIEDER, M. M.; PINTO, M. B. C.; ROSTAGNO, M. A.; HUBINGER, M. D. Processing strategies for extraction and concentration of bitter acids and polyphenols from brewing by-products: a comprehensive review. **Processes**, v. 11, n. 3, 2023. DOI: 10.3390/pr11030921

WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, n. 1–3, p. 116-139, Nov. 2008. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.09.013

WANG, Y.; CHAVES, A. V.; RIGBY, F. L.; HE, M. L.; MCALLISTER, T. A. Effects of hops on ruminal fermentation, growth, carcass traits and shedding of *Escherichia coli* of feedlot cattle. **Livestock Science**, v. 129, n. 1–3, p. 135-140, 2010. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.01.015

WANG, Y.; WAGHORN, G. C.; McNABB, W. C.; BARRY, T. N.; HEDLEY, M. J.; SHELTON, I. D. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon the digestion

of methionine and cysteine in the small intestine of sheep. **The Journal of Agricultural Science**, v. 127, n. 3, p. 413-421. 1996. DOI: 10.1017/S0021859600078576

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T. Phenolic substances in beer: structural diversity, reactive potential and relevance for brewing process and beer quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 953-988, 2018. DOI: 10.1111/1541-4337.12352

CAPÍTULO II

EFEITO DA INCLUSÃO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO NA DIETA DE VACAS

LEITEIRAS: metabolismo ruminal e produção leiteira

Resumo

Conduziu-se este estudo com objetivo de avaliar diferentes níveis de inclusão de um extrato de lúpulo em dietas de vacas leiteiras, sobre o metabolismo ruminal e a produção leiteira. O experimento foi conduzido na propriedade “Nossa Senhora D’Abadia”, Município de Douradina, Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram utilizadas 8 vacas, sendo quatro da raça Holandês (lactantes) e quatro Jersey (não lactantes, canuladas no rúmen). Os animais foram distribuídos em quadrado latino 4 x 4 (4 tratamentos e 4 períodos), duplo e simultâneo, organizado de acordo com animais fistulados ou não. O período experimental foi de 20 dias, sendo 14 dias para a adaptação e 6 dias para a coleta de dados. As dietas foram constituídas por 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, com base na MS. Os tratamentos consistiram nos seguintes níveis de inclusão 0, 5, 10 e 15 g/dia/animal de ácidos de lúpulo, ricos em tetrahydro-iso-alfa ácido oriundo do extrato de lúpulo. As dietas foram fracionadas em dois tratos diários com sobras de 10% para garantir consumo *ad libitum*. Foram analisados o consumo e a digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, produção e composição do leite, fermentação ruminal, balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se nível de significância de 5%. Os efeitos do tratamento foram decompostos pelo método de regressão polinomial avaliando os efeitos linear e quadrático dos tratamentos sob a resposta variável. Não houve efeito dos níveis de ácidos de lúpulo sobre o consumo da matéria seca e dos nutrientes e do pH ruminal. Houve aumento da digestibilidade da matéria orgânica e dos carboidratos totais até o nível de 8,6 g/dia do ácido de lúpulo. Os parâmetros de produção, densidade, gordura, proteína do leite e perfil lipídico não foram influenciados pelas dietas experimentais. A produção média de leite foi de 25,4-27,10 kg/dia. A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi reduzida pela inclusão dos ácidos de lúpulo, com ponto mínimo

na inclusão de 8,2g/dia. Os ácidos de lúpulo influenciaram a concentração de ácido acético e propiônico, bem como sua relação. A concentração de metano foi influenciada pelos ácidos de lúpulo com ponto mínimo em 10 g/dia. A cada 1g de do aditivo adicionado, diminui-se 1,4 g de nitrogênio nas fezes. Houve aumento linear no N retido com a inclusão do aditivo, no entanto, a síntese microbiana não foi impactada. Houve modulação nas rotas fermentativas, de modo que o uso dos ácidos de lúpulo favoreceu rotas mais eficientes energeticamente, com diminuição na proporção acetato: propionato e, conseqüentemente, na estimativa de produção de metano por kg MS ingerida e leite produzido. O nível que se obteve os melhores resultados foi de 10 g/dia de lúpulo, sendo dessa forma, recomendado na inclusão em dietas de vacas leiteiras.

Palavras-chave: fitobióticos, *Humulus lupulus*, ácidos amargos do lúpulo, metano, consumo

1. INTRODUÇÃO

No rúmen, como em todo ecossistema, os princípios operantes têm por base os fundamentos da termodinâmica nos quais a energia é considerada constante, porém, como energia térmica, química, elétrica, cinética, gravitacional, entre outras formas.

Os conceitos da termodinâmica, imperam sobre o ambiente ruminal e permitem a constatação de que a quantidade de energia fornecida pela alimentação para o animal, se transforma em diferentes produtos e, sob a ótica da produção de proteína animal seja leite e/ou carne, toda energia fornecida que não acarreta aumento na produtividade, representa perda energética e, um exemplo claro disso é a perda de energia na forma de gás metano e a perda de proteína como amônia e/ou nitrogênio.

Dessa forma, pode-se inserir na contextualização o conceito de eficiência energética em que são analisadas as rotas de fermentação, a partir dos seus produtos para, ao final do ciclo observar a eficiência produtiva do animal frente às estratégias utilizadas no processo produtivo, especialmente na nutrição.

Dentro deste contexto, muitos pesquisadores têm buscado formas de modular a fermentação ruminal com a finalidade de aumentar a eficiência produtiva calcada na ótica ambiental de mitigação da emissão de metano e do melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta.

Neste sentido, as ações mais comuns envolvem a manipulação da microbiota ruminal e da fermentação, abordagens nutricionais diversas e o uso de aditivos alimentares. A aplicação destas ações relaciona-se ao aumento da produtividade animal, além de se enquadrar no cumprimento dos dezessete Objetivos do Desenvolvimento Sustentável da ONU, os quais apontam para a necessidade urgente da redução nas emissões dos GEE até 2030 (CONGIO et al., 2021).

Dentre os compostos que recebem atenção como possíveis aditivos alternativos são os extratos de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) ricos em β -ácidos e iso- α -ácidos que têm diversas propriedades fitoquímicas e importante papel antioxidante e antimicrobiano já intensamente utilizados na conservação das cervejas (WANNENMACHER et al., 2018). A atividade antimicrobiana destes compostos desperta maior atenção já que pode ser utilizado na alimentação de ruminantes, em função dos seus efeitos sobre os processos fermentativos do rúmen (NARVÁEZ et al., 2011), e que podem consolidar seu uso como alternativa aos antibióticos, como a monensina, por exemplo.

Os ácidos presentes no lúpulo, são compostos que têm ação semelhante aos ionóforos, já que também tem atividade inibitória sobre as bactérias gram-positivas (FLYTE et al., 2017), todavia, mais pesquisas *in vivo* podem permitir a melhor compreensão dos efeitos dos extratos de lúpulo na fermentação ruminal, inserindo modelos alternativos, com fontes alimentares distintas em condições produtivas diversas.

Assim, objetivou-se avaliar os ácidos de lúpulo como potencial moduladores da fermentação ruminal, reduzindo a produção de N-amoniaco, diminuindo a relação acetato: propionato, a produção de metano (CH_4) entre outros efeitos no metabolismo animal e na produção leiteira, incluindo diferentes níveis de um extrato de lúpulo extraído comercialmente, em dietas de vacas leiteiras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal da Grande Dourados sob número 23016/2023 e foi realizado na fazenda de criação de bovinos leiteiros “Nossa Senhora D’Abadia”, localizada no Município de Douradina, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, coordenadas latitude 22°04’26.9”S e longitude 54°40’52.5”W.

2.1 Animais e delineamento experimental

Foram utilizadas 8 vacas, sendo quatro da raça Holandês com 100 dias em lactação, produção média de 20 kg leite/dia e peso corporal médio de $593,5 \pm 43$ kg e quatro vacas Jersey com peso corporal médio de $432,9 \pm 50$ kg, não lactantes, canuladas no rúmen.

Os animais foram distribuídos em quadrado latino 4 x 4 (4 tratamentos e 4 períodos), duplo e simultâneo, organizados de acordo com o fator animais fistulados ou não, alojados em baias individuais com aproximadamente 8 m², com metade da área de piso cimentado com cocho e bebedouro e outra metade com a cama composta de casca de arroz.

O período experimental foi de 20 dias, sendo 14 dias para a adaptação das dietas experimentais e 6 dias para a coleta de dados, totalizando 80 dias.

2.2 Alimentos, alimentação e tratamentos

As dietas foram formuladas com base no NRC (2001), calculadas para atender às exigências nutricionais de uma vaca de 550 kg de peso corporal, com produção média de 20 kg de leite/dia. As dietas foram constituídas por 70% de silagem de milho e 30% de concentrado (Tabela 1), com base na MS.

Foram adicionados os níveis 0, 5, 10 e 15 g/ dia /animal de um óleo rico em ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa (TIAA), obtido mediante a extração do lúpulo com dióxido de carbono (BetaTec Hop Products®, Washington DC, USA). O óleo foi incluído na dieta total e homogeneizado manualmente. Os animais foram alimentados com a dieta total duas vezes ao dia, às 07h00 e às 13h00. As sobras foram coletadas diariamente para ajuste do consumo mediante a pesagem. Nos dias de amostragem as sobras foram integralmente coletadas para análises químicas posteriores.

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas experimentais com diferentes níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo ² (g/d)			
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>	0	5	10	15
Silagem de milho	700	700	700	700
Milho moído	162	162	162	162
Soja em grão	108	108	108	108
Mineral ¹	24	24	24	24
Ureia	5,4	5,4	5,4	5,4
<i>Composição nutricional (g/kg MS)</i>				
Matéria seca	447,17	447,17	447,17	447,17
Matéria orgânica	926,50	926,50	926,50	926,50
Matéria mineral	73,49	73,49	73,49	73,49
Proteína bruta	147,75	147,75	147,75	147,75
Extrato etéreo	15,58	15,58	15,58	15,58
Fibra em detergente neutro	488,02	488,02	488,02	488,02
Fibra em detergente ácido	253,43	253,43	253,43	253,43
Lignina	37,51	37,51	37,51	37,51

¹Níveis de garantia (kg/produto): Cálcio 190 g/kg, Fósforo 60 g/kg, Enxofre 20 g/kg, Magnésio 20 g/kg, Potássio 35 g/kg, Sódio 70 g/kg, Cobalto 15 mg/kg, Cobre 700 mg/kg, Cromo 10 mg/kg, Ferro 700 mg/kg, Iodo 40 mg/kg, Manganês 1600 mg/kg, Selênio 19 mg/kg, Zinco 2.500 mg/kg, Vitamina A 400.000 UI/kg, Vitamina D3 100.000 UI/kg, Vitamina E 2.400 UI/kg, Flúor 600 mg/kg. ²Ácidos de lúpulo, com maior concentração de ácido tetrahydro-iso-alfa (BetaTec Hop Products®, Washington DC, USA).

2.3 Análises químicas

As amostras da silagem de milho, dos ingredientes do concentrado, sobras e fezes, foram coletadas e levadas para a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72h e após este período foram moídas em moinho do tipo Willey a 1 mm.

Foram utilizadas as metodologias da AOAC (2000) para a determinação da matéria seca (MS, método 950,15), cinzas (MM, método 942,05), matéria orgânica (MO, 1000-cinzas), proteína bruta (PB, $N \times 6,25$, método Kjeldahl 984.13) e extrato etéreo (EE, método 920,39).

Os percentuais de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos seguindo os métodos da AOAC (1995; método 973,18) e Van Soest et al., (1991), respectivamente. A análise de FDN incluiu α -amilase termoestável (MERTENS, 2002). Para a análise de lignina em detergente ácido, os sacos contendo FDA residual foram tratados com ácido sulfúrico (H_2SO_4 12 mol/L) por 3 h (AOAC, 1997). Todas as análises químicas foram calculadas com base na matéria seca (MS). O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado segundo o NRC (2001).

2.4 Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes

Para a avaliação do consumo de MS, PB e FDN as sobras foram pesadas diariamente para o ajuste do fornecimento garantindo consumo *ad libitum*, calculando sobras de 10%.

Para a avaliação da digestibilidade foi realizada a coleta total de fezes nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental e, posteriormente, calculado o coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, PB, EE, FDN e do amido.

2.5 Produção e composição do leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 6h00 e às 16h00 sendo a produção de leite (PL) registrada diariamente durante todo o período experimental para o cálculo da produção média. A produção de leite foi corrigida (PLCG 3,5%) para 3,5% de gordura, segundo fórmula de Sklan et al., (1992):

$$\text{PLCG 3,5\%} = (0,432 + 0,163 * G\%) * \text{PL.}$$

Onde:

PLCG 3,5% = produção de leite corrigida para 3,5% de gordura;

G% = teor de gordura do leite;

PL = produção de leite.

As amostras utilizadas para a análise da composição do leite foram obtidas no 15º, 16º e 17º dias de cada período experimental, provenientes de subamostras das duas ordenhas diárias, proporcionalmente. Foram determinados os teores de gordura, proteína e densidade através de espectrometria de infravermelho pelo equipamento LACTOSCAN®.

Para a determinação da composição dos ácidos graxos do leite, foram coletadas amostras em cada período experimental, sendo uma alíquota na ordenha matutina (60%) e outra na ordenha vespertina (40%) (200 mL total por animal).

O método utilizado foi o de separação lipídica por centrifugação descrito por Feng et al. (2004), seguido pela separação da camada lipídica (FOLCH et al., 1957) e metilação conforme Kramer et al. (1996), e posterior análise por cromatografia gasosa, utilizando cromatógrafo a gás GC-2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

O processo de separação da fração lipídica foi realizado por centrifugação inicial do leite fresco à 12.000 rpm (a ~17 800 × g) por 30 min a 4°C, para separar a camada superior de gordura (FENG et al. (2004). A camada de gordura foi coletada, seguida de centrifugação a 13.000 rpm (~19.300 x g) por 20 min a 4°C, onde separou-se completamente as três fases, lipídios totais (camada superior), proteína e sólidos (intermédio) e fase aquosa (camada inferior). A camada da fração lipídica foi isolada (FOLCH et al., 1957), com solução de clorofórmio e metanol (2:1 v/v) e adição de

solução de NaCl a 1,5%, para separação das fases, sendo que a fase inferior ou clorofórmica, contém os lipídios totais coletada para metilação.

A gordura isolada (~300-400mg) foi metilada para formação dos ésteres de ácidos graxos, utilizando dois padrões internos (C18:0 e C19:0) para corrigir eventuais perdas durante o processo (KRAMER et al., 1997).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram quantificados em cromatógrafo a gás (GC Shimadzu 2010), com coluna SP-2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm) e hidrogênio como gás de arraste. O programa de temperatura variou de 70 a 215 °C, conforme Kramer et al. (1997). A identificação dos picos cromatográficos foi feita por comparação com padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco 37 FAME Mix, Sigma-Aldrich) e padrões específicos de C18:1 t11 e CLA (cis-9, trans-11; trans-10, cis-12).

2.6 Fermentação ruminal

As amostras do líquido ruminal foram coletadas no 19º dia de cada período, com amostragens às 0, 2, 4, 6 e 8 h após a alimentação. Imediatamente à cada coleta, foram mensurados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro digital (MB-10, Marte, Santa Rita do Sapucaí, Brasil). As amostras foram armazenadas em recipientes plásticos a -5 °C.

Foram realizadas as análises de ácidos graxos de cadeia curta e da concentração de nitrogênio amoniacal.

Para a mensuração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 2.000 × g por 15 minutos, foi acrescido 1 mL do sobrenadante em tubo de ensaio e adicionado 0,2 mL de ácido fórmico PA. Após esse processo, as mesmas foram vedadas, identificadas e armazenadas novamente a -20°C. A análise dos AGCC foi realizada seguindo a metodologia descrita por Erwin et al. (1961), com uso da cromatografia gasosa.

Para a mensuração da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), foram pipetados da amostra de líquido ruminal já centrifugadas a 2.000 × g por 15 minutos, 2 mL do sobrenadante, em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N.

As amostras foram analisadas pelo método colorimétrico de fenol-hipoclorito descrito por Broderick & Kang (1980).

A partir da determinação da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, ácido acético (C2), propiônico (C3) e butírico (C4), foi estimada a produção de metano entérico (CH₄), de acordo com a metodologia de Moss et al. (2000).

$$\text{CH}_4 = 0,45 (\text{C}_2) - 0,275 (\text{C}_3) + 0,4 (\text{C}_4)$$

2.7 Parâmetros sanguíneos

As coletas de sangue foram realizadas no 18º dia de cada período experimental por punção da veia coccígea, anteriormente ao fornecimento das dietas no período da manhã. Imediatamente após coleta, as amostras foram refrigeradas e centrifugadas a 2000 rpm 44 durante 15 minutos, para a separação do plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20°C. As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no por meio de kits comerciais (Bioclin®) que utilizam método enzimático colorimétrico, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 CELM) sendo determinados os teores de glicose e creatinina plasmática.

2.8 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

A coleta de urina foi realizada no 19º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação. As análises de alantoína, creatinina e ácido úrico foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado e expressos em mmol/dia.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação:

$$DP = 0,85 \cdot P_{abs} + 0,385 \times PV^{0,75},$$

Em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 \times PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC *et al.* 1990).

Para o cálculo do balanço de nitrogênio foi analisado o conteúdo de nitrogênio da urina, fezes e alimentos através do método de Kjeldhal de acordo com AOAC 2000). O cálculo foi realizado de acordo com as seguintes fórmulas:

$$N_{retido} = N_{consumido} - (N_{fezes} + N_{urina})$$

O volume urinário foi calculado da seguinte maneira:

$$VU \text{ (L/dia)} = (27,36 \times PV) / \text{creatinina}$$

Onde:

PV = peso vivo (em kg);

VU = volume urinário (em L);

27,36 representa o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PV, obtido por Rennó *et al.* (2000).

2.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados com o auxílio do software R (R Core Team, 2023) verificando a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O conjunto de dados foi analisado de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + Q_k + S_l + S_l(Em) + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral;

A_i = efeito do animal ($j = 1$ a 8);

P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4);

Q_k = efeito do quadrado ($k = 1$ to 2);

Sl = efeito do tratamento ($l = 1$ a 4), e;

e_{ijklm} = erro.

O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por $DDFM = kr$.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se o nível de significância de 5%. Os efeitos do tratamento foram decompostos pelo método de regressão polinomial sendo avaliados o efeito linear e quadrático dos tratamentos sob a resposta da variável.

3 RESULTADOS

3.1 Matéria seca e digestibilidade aparente total

Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos totais e carboidratos não fibrosos ($p > 0,05$). Da mesma maneira, a densidade energética da dieta expressa como energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e energia metabolizável de lactação (EM lac) não apresentaram variação significativa ($p > 0,05$; Tabela 2), indicando que o consumo e a concentração energética não foram alterados pela inclusão dos ácidos de lúpulo na dieta.

Tabela 2. Ingestão de matéria seca e nutrientes em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo (g/d) ²				EPM ¹	p-valor		
	0	5	10	15		Trat	Linear	Quad
Ingestão (kg/d)								
Matéria Seca	15,05	14,80	15,21	14,66	0,81	0,96	0,83	0,86
Matéria Seca (% PV)	3,15	3,12	3,25	3,08	0,15	0,87	0,90	0,64
Matéria Seca (PV ^{0.75})	0,14	0,15	0,15	0,15	0,01	0,89	0,59	0,67
Matéria orgânica	13,95	13,71	14,09	13,58	0,75	0,96	0,83	0,85
Proteína bruta	2,22	2,18	2,25	2,17	0,12	0,96	0,84	0,86
Fibra em detergente neutro	7,34	7,22	7,42	7,15	0,39	0,96	0,83	0,85
Carboidratos totais	10,15	10,17	10,34	9,53	0,58	0,77	0,62	0,48
Carboidratos não fibrosos	3,50	3,56	3,50	3,16	0,21	0,51	0,56	0,34
Nutrientes digestíveis totais	9,04	9,58	9,67	8,76	0,67	0,74	0,35	0,29

¹EPM: erro padrão da média. ²Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). Trat: efeito do tratamento. Quad: efeito quadrático. MS %PV: consumo de matéria seca em porcentagem do peso vivo; MS/PV^{0.75}: consumo de matéria seca expresso em função do peso metabólico (peso vivo elevado a 0,75).

No que diz respeito a digestibilidade, houve efeito dos tratamentos sobre a digestibilidade da matéria orgânica ($p < 0,05$), com ajuste dos dados ao modelo quadrático, indicando que houve aumento da digestibilidade até o nível de 8,6 g/dia da inclusão do ácido de lúpulo (ponto máximo), com digestibilidade neste ponto em 76,82%. A digestibilidade dos carboidratos totais (CT) também foi alterada pela inclusão dos ácidos de lúpulo ($p = 0,04$), sendo que os dados se ajustaram melhor ao modelo quadrático, com ponto de máxima resposta obtido no nível de 8,67 g/dia, com 77,51% de digestibilidade (Tabela 3).

Observou-se tendência de aumento na digestibilidade da matéria seca ($p = 0,09$), com ajuste quadrático, bem como na digestibilidade da fibra em detergente neutro ($p = 0,08$), também com ajuste quadrático.

Tabela 3. Digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo (g/d) ²				EPM ₁	P-Valor		
	0	5	10	15		Trat	Linea r	Qua d
Digestibilidade de Matéria seca	66,69	72,58	72,39	70,14	1,75	0,09	0,01	0,03
MO	69,95	76,75	75,55	73,50	1,67	0,04	0,01	0,02
Proteína bruta	66,25	71,74	70,24	68,41	1,84	0,21	0,05	0,06
FDN	70,41	77,56	76,18	73,73	1,95	0,08	0,02	0,02
CT	70,23	77,38	76,17	74,07	1,73	0,04	0,01	0,01
CNF	69,75	76,95	75,95	74,41	2,92	0,34	0,10	0,15
ED (Mcal/kg)	4,48	4,49	4,56	4,20	0,25	0,77	0,61	0,47
EM (Mcal/kg)	4,07	4,08	4,15	3,80	0,26	0,77	0,62	0,48
EM lac (Mcal/kg)	2,10	2,23	2,26	2,03	0,17	0,74	0,35	0,29

¹EPM: erro padrão da média. ² Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; FDN: fibra em detergente neutro; CT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EM lac: energia metabolizável lactação. DIG MO $Y = 70,304 + 1,516X - 0,088X^2$ ($R^2 = 0,90$). DIG CT $Y = 70,60 + 1,595X - 0,092X^2$ ($R^2 = 0,90$).

3.2 Rendimento e composição do leite

Os parâmetros de produção, densidade, gordura e proteína do leite não foram influenciados pelas dietas experimentais ($p>0,05$). A produção média de leite observada neste experimento foi de 26,11 kg/dia e 24,89 kg/dia quando corrigida para 3% de gordura (Tabela 4).

Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo					P-Valor ³		
	(g/d) ²				EPM ¹			
<i>kg/d</i>	0	5	10	15		Trat	Linear	Quad
Produção de leite	26,07	25,40	27,10	25,88	0,87	0,60	0,78	0,76
PLCG 3,5%	24,85	24,18	25,80	24,71	0,86	0,63	0,76	0,81
Dens. do leite	34,15	34,08	33,87	34,30	0,38	0,87	0,57	0,53
Gordura	3,90	3,87	3,95	3,87	0,18	0,98	0,99	0,88
Proteína	3,21	3,20	3,20	3,21	0,23	0,94	0,59	0,58

¹EPM: erro padrão da média. ²Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). ³Efeito linear ou quadrático. PLCG 3,5%: Produção de leite corrigida 3,5% de gordura. Dens. do leite: densidade do leite

Quanto ao perfil lipídico do leite, os tratamentos não geraram efeito sobre os teores de ácidos graxos avaliados no leite ($p > 0,05$) (Tabela 5). Observando tendência de resposta no C14:0 ($p= 0,07$) e ajuste linear.

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com dieta contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo				EPM ¹	P- valor ³		
	(g/d) ²					Trat	Linear	Quad
Ácidos Graxos	0	5	10	15				
C4:0	1,60	1,58	1,59	1,59	0,02	0,87	0,52	0,58
C6:0	1,62	1,63	1,64	1,65	0,03	0,96	0,81	0,91
C8:0	2,91	2,89	2,92	2,94	0,05	0,91	0,81	0,69
C10:0	6,69	6,96	6,86	6,70	0,12	0,41	0,15	0,13
C12:0	4,21	4,18	4,22	4,21	0,02	0,61	0,67	0,57
C14:0	11,25	11,21	11,03	11,12	0,05	0,07	0,04	0,24
C15:0	1,50	1,47	1,46	1,45	0,03	0,54	0,53	0,82
C16:0	27,27	27,09	27,67	27,70	0,36	0,59	0,95	0,79
C17:0	0,19	0,19	0,17	0,18	0,01	0,27	0,46	0,79
C18:0	14,24	14,22	13,99	14,29	0,08	0,14	0,84	0,09
C18:1t11	7,23	7,21	7,20	7,21	0,07	0,99	0,83	0,84
C18:1 c9	13,71	13,73	13,54	13,42	0,22	0,73	0,33	0,76
C18:2 n6	1,55	1,54	1,58	1,56	0,03	0,88	0,71	0,80
C18:3cis	0,86	0,85	0,87	0,86	0,01	0,63	0,92	0,53
9,11trans								
C18:3n3	1,55	1,61	1,62	1,57	0,02	0,25	0,61	0,07
C20:0	0,90	0,88	0,90	0,87	0,02	0,68	0,57	0,78
C22:0	0,86	0,85	0,85	0,85	0,01	0,89	0,97	0,50
C24:0	1,57	1,42	1,25	1,73	0,21	0,33	0,75	0,18

¹EPM: erro padrão da média. ²Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). ³Trat: efeito do tratamento. Quad.: efeito quadrático.

3.3 Fermentação ruminal

A suplementação com diferentes níveis de ácidos de lúpulo não alterou o pH ruminal ($p > 0,05$), mantendo valores médios entre 6,44 e 6,48, dentro da

faixa considerada adequada para a fermentação normal da fibra (Tabela 6). Houve, contudo, efeito significativo do tempo de coleta ($p < 0,001$), indicando flutuações diurnas típicas associadas ao consumo e digestão do alimento, sem interação dieta $\times$ tempo ($p > 0,05$).

Tabela 6. Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas alimentadas com dietas contendo níveis de ácidos de lúpulo

Item	Níveis de ácidos de lúpulo (g/d) ²				EPM ¹	P-Valor ²				
	0	5	10	15		Trat	Tempo	Trat*T	Linear ⁵	Quad
pH	6,44	6,48	6,45	6,46	0,02	0,65	<,01	0,73	<0,05	0,84
N-NH ₃ (mg/dL)	19,00	15,07	14,14	17,55	0,50	0,01	<,01	0,68	<0,05	<0,05
mmol/L										
Acético	61,29	61,00	51,87	60,41	1,13	<,01	0,09	0,88	0,08	0,03
Propiônico	20,33	20,37	23,50	19,86	0,46	0,01	0,24	0,46	0,63	0,02
Butirato	8,06	8,08	7,79	7,43	0,22	0,56	0,10	0,28	0,19	0,60
Isobutirato	1,025	0,944	1,177	1,050	0,06	0,45	0,35	0,77	0,50	0,82
Valerato	0,661	0,550	0,549	0,559	0,16	0,23	0,59	0,41	0,13	0,18
Isovalerato	2,30	2,31	2,35	2,24	0,02	0,97	0,22	0,65	0,85	0,73
AGCR	3,98	3,81	4,07	3,85	0,19	0,83	0,23	0,48	0,88	0,91
Total	93,68	93,27	84,25	91,56	1,37	0,22	0,03	0,66	0,14	0,10
Acético/propiônico	3,12	3,05	2,11	3,16	0,09	<,01	0,58	0,42	0,24	0,06
Metano ⁴ (mmol/100mmol AGV)	25,21	25,08	20,00	24,69	0,55	<,01	0,15	0,78	0,05	0,01

¹EPM: erro padrão da média. ² Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). ³Efeito linear ou quadrático; Trat: efeito de tratamento. TratxT: interação entre tratamento e tempo de coleta (0, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação). ⁴Calculado de acordo com Moss et al. (2000) pela fórmula: CH₄= 0,45 x acetato – 0,275 x propionato + 0,4 x butirato. AGCR: Ácidos graxos de cadeia ramificada. Modelos ajustados com base na significância dos fatores (p<0.05), conforme ANOVA. N-NH₃=Y=0,0734x² - 1,2066x + 19,067 (R²=0,994); Ácido acético = Y = 0,088x² - 1,5599x + 62,616 (R²=0,429); Ácido propiônico = Y = -0,0368x² + 0,5864 +19,837 (R²= 0,4209); Ácidos graxos totais = Y = 0,0772x² - 1,4656x + 94,927 (R²=0,462). Metano = Y = 0,0482x² - 0,8558x + 25,946 (R²=0,425)

A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) foi afetada pela inclusão dos ácidos de lúpulo ($p = 0,017$), com ajuste em modelo quadrático ($p < 0,05$), onde observou-se redução dos teores com ponto mínimo de 8,22g/dia de ácidos de lúpulo (14,10mg/dL), e posteriormente um aumento no nível de 10g/dia (14,14 mg/dL), indicando o intervalo que se observa a curva dos dados e o ajuste quadrático. Os níveis de N-NH_3 , também se alteraram conforme o tempo de coleta ($p < 0,001$).

Quanto aos ácidos graxos voláteis, observou-se que os ácidos de lúpulo influenciaram a concentração de ácido acético ($p < 0,001$), de forma que o modelo quadrático se ajustou de forma moderada aos dados, apresentando um ponto de mínima em 8,86g/dia, porém com resultado estimado em 55,70 mmol/L, todavia, devemos observar nesse caso o R^2 é baixo e que o valor observado em 10g/dia de 51,87 mmol/L é inferior ao ponto de mínima estimado na equação.

Os níveis dos ácidos de lúpulo também alteraram as quantidades de ácido propiônico ($P < 0,05$), de forma que o ponto de máxima ocorreu em 7,97g/dia com 22,17 mmol/L deste AGV, todavia, assim como no caso do ác. Acético, a equação quadrática teve ajuste moderado ($R^2 = 0,462$) e seus valores estimados não justificam da melhor forma os valores observados, já que o nível de 10g/dia apresentou valor 23,50 mmol/L.

Os demais AGV não foram influenciados pelos níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo. Todavia, as diferenças observadas em acetato e propiônico levaram à um efeito sobre a relação acetato/propionato, com o nível de 10g/dia apresentando a menor relação observada.

A estimativa da concentração de metano foi influenciada pelas dietas experimentais ($p < 0,001$), com ajuste ao modelo quadrático ($p = 0,001$). O ponto mínimo estimado pela equação de regressão foi em 8,88g/dia de ácidos de lúpulo com 22,15 mmol/100 mmol de AGV, diferente do ponto mínimo observado nos dados que foi de 20 mmol/100 mmol de AGV com nível de 10g/dia do aditivo testado, diferença ocasionada pelo não ajuste perfeito dos dados à equação ($R^2 = 0,43$).

3.4 Compostos nitrogenados

Os níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo não influenciaram a ingestão de nitrogênio e a quantidade de nitrogênio excretado via urina ($p>0,05$). Todavia, a quantidade de N nas fezes foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 7), com ajuste ao modelo linear dos dados, de forma que a cada 1g de ácido adicionado, diminuiu-se 1,414 g de nitrogênio nas fezes. Dessa forma, o nitrogênio retido também sofreu impacto pela inclusão dos ácidos de lúpulo, de forma que os dados se ajustaram ao modelo linear, à medida que se aumentou em 1g de inclusão dos ácidos de lúpulo, aumentou-se em 1,418 g a retenção de nitrogênio. A síntese microbiana não foi impactada pelas dietas experimentais ($p>0,05$).

Tabela 7- Balanço de nitrogênio e síntese proteica microbiana em vacas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de ácidos de lúpulo

Item g/dia	Níveis de ácido de lúpulo (g/d) ²				EPM ¹	P-Valor		
	0	5	10	15		Trat	Linear	Quad
N-ingerido	325,22	322,91	327,57	336,0	21,95	0,98	0,92	0,85
N-fezes	51,67	47,26	37,65	31,31	2,91	<0,01	<0,01	0,74
N-urina	8,41	8,66	7,67	8,68	0,88	0,83	0,96	0,67
N-retido	39,91	44,07	54,67	60,01	3,20	0,01	<0,01	0,08
<i>Síntese microbiana g/dia</i>								
N-microbiano	117,26	122,16	116,06	106,39	10,60	0,23	-	-
Proteína microbiana	732,86	763,49	725,37	664,94	66,80	0,23	-	-

¹EPM: erro padrão da média. ² Níveis de inclusão dos ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, (BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA). Trat: efeito do tratamento. Quad: quadrático. N-fezes = $\hat{Y} = 52,580 - 1,414X$ ($R^2 = 0,98$). N-retido = $\hat{Y} = 39,032 + 1,418X$ ($R^2 = 0,97$).

4 DISCUSSÃO

Os ácidos de lúpulo não influenciaram o consumo de matéria seca e dos demais nutrientes, todavia, a digestibilidade da matéria orgânica e dos carboidratos totais foi impactada, onde o nível de 8,6 g- 9/dia de inclusão dos ácidos de lúpulo apresentaram ponto de maior digestibilidade. Esse resultado sugere que a suplementação moderada favoreceu a digestão das frações orgânicas e energéticas da dieta. A tendência observada para melhoria da digestibilidade da matéria seca ($p=0,09$) e da fibra em detergente neutro ($p=0,08$), sugere que houve uma melhoria na atividade microbiana ruminal com a inclusão dos ácidos de lúpulo.

Os ácidos de lúpulo não influenciaram a qualidade físico-química do leite (NRC, 2001, Walstra et al., 2005; IN nº 76/2018 – MAPA Brasil), mantendo os valores de produção dentro dos valores esperados para vacas de média a alta produção, recebendo ração totalmente misturada. O perfil energético e proteico da dieta foi adequado à síntese de sólidos do leite, sem efeitos significativos dos ácidos de lúpulo suficientes para afetar a síntese de gordura ou proteína láctea.

A síntese de proteína no leite depende da disponibilidade de energia e aminoácidos absorvíveis, a caseína corresponde a aproximadamente 80% da proteína do leite, sendo sua síntese na glândula mamária influenciada pela absorção de aminoácidos no duodeno, que vem substancialmente da produção de proteína microbiana, proteína não degradável no rúmen e proteína endógena (Clark et al., 1992; NRC, 2001; Walstra et al. 2005).

Dessa forma, a estabilidade na composição do leite, tanto de gordura, proteína e dos ácidos graxos, mostra que os ácidos de lúpulo não provocaram distúrbios ruminais que alterassem substancialmente as vias de fermentação ruminal que modulam a síntese de lipídeos e proteínas na glândula mamária.

A adição de 10g/d dos ácidos de lúpulo alterou o perfil fermentativo de ácidos graxos voláteis do rúmen. Alteração no perfil de AGV foi reportado LAVRENČIČ et al. (2015) num ensaio *in vitro*, onde houve diminuição na produção de ácido acético, mas não alterou a de ácido propiônico, resultando na diminuição da proporção entre o ácido acético e o ácido propiônico. Resultado condizente em parte com o verificado nesse ensaio, a exceção do ácido propiônico, qual foi observado aumento.

A maior produção de propionato quando as vacas foram alimentadas com 10 g/dia de ácidos de lúpulo, reflete a eficiência dos ácidos do lúpulo em modificar o ambiente ruminal, deixando o ambiente propício à proliferação de bactérias produtoras de propionato sem aumento da produção de lactato, dado que o pH ruminal não apresentou variação significativa entre os tratamentos, mantendo-se em faixa adequada para garantir boa relação de microrganismos que digerem a porção fibrosa da dieta (VAN SOEST, 1994).

Os efeitos dos ácidos de lúpulo sobre as proporções de acetato e propionato observadas neste estudo condizem com os efeitos do aditivo sobre as bactérias gram-positivas, na qual estudos sobre os seus compostos bioativos, como os α -ácidos (humulonas), β -ácidos (lupulonas) e seus produtos de oxidação, como o tetrahydro-iso-alfa, são considerados agentes antimicrobianos, e a inibição sobre as bactérias gera menor formação de acetato e butirato (BOGDANOVA et al., 2018). Dessa forma, uma fermentação mais propiônica é favorecida pelo estímulo às bactérias gram-negativas, uma rota mais eficiente energeticamente para o metabolismo ruminal.

A redução de metano apresentada no tratamento com 10g/dia de ácidos de lúpulo, reforça a eficiência do processo de fermentação ruminal apresentado por esta dosagem, esse achado foi concomitante ao de redução na proporção de acetato:propionato, inferindo que ao suplementar com o lúpulo, houve fermentação mais propiônica que acética, tendo como consequência menor disponibilidade de substrato para as bactérias metanogênicas, uma vez que as rotas metabólicas de produção do acetato geram maiores quantidades de hidrogênio (H_2) enquanto a rota do propionato atua como um sumidouro de H_2 (NARVÁEZ et al., 2011; LAVRENČIČ et al., 2015).

Analisando as estimativas das concentrações de metano em relação ao consumo de matéria seca e a produção de leite assumindo o valor de produção de 120 mol ácidos graxos voláteis/dia, faixa observada por Dieho et al. (2016) em vacas holandesas em lactação, para converter os resultados estequiométricos de CH_4 (mmol de CH_4 /100 mmol de AGV), calculados segundo Moss et al. (2000), para g CH_4 /dia. Os cálculos também necessitaram da conversão de massa ou peso molecular utilizando o peso molar do CH_4 que é 16,04 g/mol.

Com base nessas estimativas e conversões foram obtidos os resultados, em g/dia, no tratamento controle (0) 485 g/dia de metano, (5) 482,8 g/dia de CH_4 , (10)

384,9 g/dia e no tratamento com 15 g/dia dos ácidos de lúpulo o valor de 475,5 g/dia de CH₄. Dessa forma, pode-se estimar a produção de CH₄ (g/kg MS) em 32,25 (0g/dia de óleo), 32,62 (5g/dia de óleo), 25,31 (10g/dia de óleo) e 32,44 (15g/dia de óleo).

Segundo os valores observados em estudos com vacas leiteiras, emissões abaixo de 25g/kg MS de CH₄ são consideradas baixas e representam dietas mais eficientes, de 25 a 30 g/kg MS são moderadas e maiores do que 30 g/kg MS são consideradas altas e comuns em dietas fibrosas e ineficientes (IPCC, 2019; KNAPP et al., 2014). Nesse contexto, a inclusão de 10 g/dia de ácido foi a que se mostrou melhor em termos de eficiência fermentativa da dieta, com menor perda de energia pela via metanogênica, reduzindo a emissão de metano em 20,7% em relação ao grupo controle.

A estimativa da produção de metano em g/dia, também permite a relação mais fácil com a produção de leite, sendo possível calcular a mesma dividindo a produção de CH₄ g/dia pela produção de leite (kg/dia). Assim, o tratamento controle gerou 18,61 g de CH₄/kg leite, o tratamento com 5 g de ácidos gerou 19,01 g CH₄/kg leite, a inclusão de 10g gerou o menor valor de 14,20 g de CH₄/kg leite e a inclusão de 15 g/dia 18,37 g CH₄/kg de leite. Dessa forma, pode-se observar que o tratamento com 10 g e ácidos de lúpulo/dia apresentou a menor emissão de metano por kg de leite, gerando melhor eficiência produtiva e ambiental, com apenas 14,87 g de CH₄ por kg de leite produzido, sendo considerada baixa emissão, por estar abaixo da média global (IPCC, 2019; Knapp et al. 2014).

Em relação à emissão de metano, o nível de 10 g ocasionou diminuição de 20% em relação ao grupo controle. O uso de aditivos com esse potencial, ainda precisa ser mais pesquisado, porém, as combinações com várias outras práticas podem gerar ainda melhores resultados. Práticas que visam o aumento na produtividade, melhoram as questões de estresse térmico as quais são muito relevantes no Brasil, e a seleção de animais e permitem reduzir porcentagens significativas de g de CH₄/kg de leite produzido.

Knapp et al. (2014) estimam que de 15 a 30% de CH₄ pode ser mitigado combinando várias práticas de manejo e seleção genética, atentando-se que em sistemas intensivos, onde os animais já atingiram altos índices de produtividade, esses valores são menores, visto que as estratégias listadas, já estão em vigor e não seriam adicionadas.

Seguindo aos efeitos ocasionados com os ácidos de lúpulo, observou-se redução do nitrogênio amoniacal (N-NH_3) ruminal em vacas suplementadas com 10 g/dia, que pode estar relacionada à redução na desaminação ruminal (FLYTHE, 2017), o que leva ao aumento da quantidade de aminoácidos dietéticos absorvidos no intestino delgado, fato que se justifica pelo aumento linear na retenção de nitrogênio observada em animais suplementados com os ácidos de lúpulo, bem como da diminuição da perda de N pela via fecal, denotando melhor eficiência global de utilização do nitrogênio (NRC, 2001).

Flythe (2009) e Flythe (2017) avaliaram os efeitos antimicrobianos do lúpulo sobre três espécies de bactérias produtoras de hiperamônia ruminal e observaram que as mesmas tiveram seu crescimento inibido, assim, a catabolização de aminoácidos e peptídeos no rúmen foi diminuída, auxiliando assim, à diminuição de desperdício de nutrientes, isto ocorre porque a maioria das bactérias produtoras de hiperamônia (HAB) são gram-positivas. LAVRENČIČ et al. (2013) observaram aumento da proteína “by-pass”, ou seja, diminuição da proteólise ruminal, ao utilizar o lúpulo em ensaio *in vitro*.

A concentração de amônia no rúmen é função tanto da taxa de degradação de nitrogênio no rúmen quanto da concentração de proteínas degradável no rúmen acima das quantidades microbianas e da quantidade de energia dietética disponível para os microrganismos ruminais (NRC, 2001). Dessa forma, a ação dos ácidos de lúpulo na fermentação ruminal ocorre por consequência das mudanças que o aditivo ocasiona na flora ruminal, se comportando como um fito-ionóforo ou fitoquímico com mecanismo semelhante aos antibióticos ionóforos, inibindo as bactérias gram-positivas, que levam a menor proteólise ruminal e, conseqüentemente, menor produção de amônia (FLYTE et al., 2017).

A não diferença observada no N urinário, apesar dos níveis diferentes de N-NH_3 , indica que, o N amoniacal foi utilizado eficientemente para síntese de proteína microbiana (Hristov et al., 2004). Apesar da possível diminuição da proteólise ruminal provocada pelos ácidos de lúpulo, a proteína que escapou da fermentação ruminal, não foi eficientemente convertida em proteína do leite, visto que não foi observada diferença entre os tratamentos.

Os ácidos de lúpulo também provocaram alteração no perfil fermentativo no que se refere a relação acetato: propionato devido a inibição das principais bactérias que fermentam ácido acético, láctico e H_2 , assim a produção de metano

também tende a decair já que há menor aporte de substrato fermentativo para as bactérias metanogênicas (FLYTE et al., 2017).

A produção de proteína microbiana é função da quantidade de matéria orgânica digerida no rúmen e do ATP produzido, assim como da eficiência com a qual os microrganismos ruminais utilizam a energia disponível para seu crescimento (OWENS e GOETSCH, 1993). Neste experimento, os ácidos de lúpulo não influenciaram a síntese microbiana em g/dia, como resultado da falta de diferença na digestibilidade da matéria seca entre os tratamentos. Dessa forma, pode-se dizer que os ácidos de lúpulo, nas condições testadas, tiveram efeitos específicos no processo de fermentação ruminal, sem interferir na síntese microbiana.

5 CONCLUSÃO

Os ácidos de lúpulo influenciaram positivamente a digestibilidade da matéria orgânica e dos carboidratos totais, assim como aumentaram a retenção de nitrogênio. Houve modulação nas rotas fermentativas, de modo que o uso dos ácidos de lúpulo favorece rotas mais eficientes energeticamente, com diminuição na proporção acetato: propionato e, conseqüentemente, na estimativa de produção de metano por kg MS ingerida e leite produzido. O nível em que se obteve os melhores resultados foi de 10 g/dia de lúpulo, baseando na resposta principal que foi redução da produção de metano, sendo dessa forma, recomendado na inclusão em dietas de vacas leiteiras.

REFERÊNCIAS

AOAC, 2000. **Association of official agricultural chemists**. Official Method of Analysis. (17th ed).

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed., 3rd rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed. Arlington: AOAC International, 1995.

BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

BOGDANOVA, K.; RÖDEROVA, M.; KOLAR, M.; LANGOVA, K.; DUSEK, M.; JOST, P.; KUBELKOVA, K.; BOSTIK, P.; OLSOVSKA, J. Antibiofilm activity of bioactive hop compounds humulone, lupulone and xanthohumol toward susceptible and resistant staphylococci. **Research in Microbiology**, v. 169, n. 3, 2018, p. 127-134. DOI: 10.1016/j.resmic.2017.12.005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Estabelece os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e do leite pasteurizado tipo A**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Seção 1, p. 9.

BRODERICK, G. A.; KANG, J. H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 64–75, 1980. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. **Rowett Research Institute**, v. 1, n. 1, p. 1-21, 1992.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, Sr. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows¹. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77992-2

CONGIO, G. F. de S.; BANNINK, A.; MOGOLLÓN, O. L. M. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: a meta-analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 312, 127693, 2021. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.127693.

DIEHO, K.; DIJKSTRA, J.; SCHONEWILLE, J. T.; BANNINK, A. Changes in ruminal volatile fatty acid production and absorption rate during the dry period and early lactation as affected by rate of increase of concentrate allowance. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5370-5384, 2016, DOI: 10.3168/jds.2015-10819.

DRACKLEY, J. K; OVERTON, T. R; DOUGLAS, G. N. Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, Supplement, p. E100-E112, June 2001. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70204-4

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 1768–1771, 1961. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6.

FAO. 2023. Food safety implications from the use of environmental inhibitors in agrifood systems. Food Safety and Quality Series, No. 24. Rome. DOI: 10.4060/cc8647en

FENG, S.; LOCK, A. L.; GARNSWORTHY, P. C. Technical note: a rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n.11, p. 3785-37888, 2004. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(04)73517-1.

FLYTE, M. D; KAGAN, I. A; WANG, Y; NARVAEZ, N. Hops (*Humulus lupulus* L.) Bitter Acids: Modulation of Rumen Fermentation and Potential as an Alternative Growth Promoter. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, art. 131, 2017. DOI: 10.3389/fvets.2017.00131

FLYTHE, M.D. The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria Get access Arrow. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 6, p. 712–717, 2009. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02600.x

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)64849-5.

FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E. R.; REEDS, P. J.; SMITH, R. H. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 1, p. 7–12, 1987. DOI: 10.1017/S002185960008102X.

HENDRIX, D. L. Rapid Extraction And Analysis Of Nonstructural Carbohydrates In Plant-Tissues. **Crop Science**, v. 33, p. 1306–1311, 1993.

HRISTOV, A. N.; ETTER, R. P.; ROPP, J. K.; GRANDEEN, K. L. Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11, p. 3219–3229, 2004. DOI: 10.2527/2004.82113219x

HRISTOV, A. N; ROPP, J. K. Effect of Dietary Carbohydrate Composition and Availability on Utilization of Ruminal Ammonia Nitrogen for Milk Protein Synthesis in Dairy Cows, **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p. 2416-2427, 2003. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73836-3.

IPCC, 2023: Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 1-34, DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001

IPCC. 2019 Refinement to the 2006 IPCC **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. Switzerland: IPCC, 2019.

JENKINS, T. C; MCGUIRE, M. A. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition, **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, 2006. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1.

KLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463–2472, 1992.

KNAPP, J. R.; LAUR, G. L.; VANCE, C.; GARNETT, B.; DE PETERS, E. J.; TRICARICO, J. M. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production — Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 3231–3261, 2014. DOI:10.3168/jds.2013-7234

KRAMER, J. K. G., FELLNER, V., DUGAN, M. E. R.; SAUER, F. D.; MOSSOBA, M. M. YURAWECZ, M. P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, p. 1219–1228, 1997. DOI: 10.1007/s11745-997-0156-3

LAVRENČIČ, A; LEVART, A; KOŠIR, I. J; ČERENAK, A. In vitro gas production kinetics and short-chain fatty acid production from rumen incubation of diets supplemented with hop cones (*Humulus lupulus* L.). **Animal**, v. 9, n. 4, p. 576-581, 2015. DOI: 10.1017/S1751731114002936.

LAVRENČIČ, A; LEVART, A; KOSIR, I. J; CERENAK, A. Influence of two hop (*Humulus lupulus* L.) varieties on in vitro dry matter and crude protein degradability and digestibility in ruminants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 6, p. 1248-1252, 2013. DOI: 10.1002/jsfa.6407

MACHADO, F; S; PEREIRA, L. G. R; GUIMARÃES JÚNIOR, R. et al. **Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2011. 92p. (Documentos, 147).

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217–1240, 2002. DOI:10.1093/jaoac/85.6.1217.

MOSS, A. R.; JOUANY, J.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 231–253, 2000.

NARVAEZ, N; WANG, Y; XU, Z; MCALLISTER, T. Effects of hops on in vitro ruminal fermentation of diets varying in forage content. **Livestock Science**, v.138, n. 1–3, p. 193-201, 2011. DOI:10.1016/j.livsci.2010.12.028.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.). Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7. rev. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381 p.

NICHOLS, K; BANNINK, A; PACHECO, S; VAN VALENBERG, H. J.; DIJKSTRA, J; VAN LAAR, H. Feed and nitrogen efficiency are affected differently but milk lactose production is stimulated equally when isoenergetic protein and fat is supplemented in lactating dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 7857-7870, 2018. DOI:10.3168/jds.2017-14276

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed). **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**. 1993. p. 145-171.

RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D. Estimativas de produção de creatinina e depuração renal em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1547–1552, 2000.

RENTERO, N. Projeção de tendências para o leite aqui e lá fora. In: **Anuário do leite 2023**: Leite baixo carbono, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 118 p.
Disponível em:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1154264/1/Anuario-Leite-2023.pdf>.

SALFER, I. J; FESSENDEN, S. W; STERN, M. D. Evaluation of iso- α -acid and β -acid extracts from hops (*Humulus lupulus* L.) on fermentation by rumen microbes in dual-flow continuous culture fermenters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 260, 2020. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114385

SENGER, C. C. D., KOZLOSKI, G. V., BONNECARRÈRE SANCHEZ, L. M. B., MESQUITA, F. R., ALVES, T. P., & CASTAGNINO, D. S. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, n.1-2, p. 169–174, 2008. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.12.008

TAMMINGA, S. Nutrition Management of Dairy Cows as a Contribution to Pollution Control. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 345-357, 1992. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77770-4.

VAN SOEST, P. J.; ALLEN, N. N. Studies on the relationships between rumen acids and fat metabolism of ruminants fed on restricted roughage diets. **Journal of Dairy Science**, v. 42, n.12, p. 1977-1985, 1959. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(59)90842-2

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583, 1991. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, p. 243–248, 1990. DOI: 10.1017/S0021859600072730

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2005. DOI: 10.1201/9781420028010

WANNENMACHER, J; GASTL, M; BECKER, T. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 953-988, 2018. DOI: 10.1111/1541-4337.12352

CAPÍTULO III

EFEITO DOS ÁCIDOS DE LÚPULO E DE ADITIVOS COMERCIAIS NO METABOLISMO E NO DESEMPENHO DE VACAS LEITEIRAS

Resumo

Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar a utilização dos ácidos de lúpulo e taninos condensados de *Acacia mearnsii* como aditivos alternativos à monensina sódica em dietas para vacas leiteiras avaliando seus efeitos sobre o metabolismo ruminal e a produção leiteira. O experimento foi conduzido na propriedade “Nossa Senhora Abadia”, Município de Douradina, Mato Grosso do Sul. Foram utilizadas quatro vacas Jerseys, canuladas no rúmen e quatro vacas Holandesas, no terço médio da lactação, não fistuladas. Os tratamentos foram 1) CON (grupo controle, dieta basal sem aditivos); 2) MON (inclusão de 24 mg / kg MS de monensina sódica); 3) TAN (inclusão de 2,5 g/kg de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A.®, Estancia Velha/RS/Brasil); 4) HOPS (inclusão de 10 g/d de ácidos de lúpulo, ricos em tetrahydro-iso-alfa oriundo do extrato de lúpulo, BetaTec Hop Products®, Washington DC, USA). Os animais foram distribuídos num delineamento em dois quadrados latino, com quatro tratamentos e quatro períodos de coleta de dados. O período experimental se consistiu em 20 dias, sendo 14 dias de adaptação e 6 dias de coleta de dados. As dietas foram balanceadas conforme NRC 2001. O volumoso utilizado foi a silagem de milho e as dietas foram fracionadas em dois tratos diários, com sobras de 10% garantindo consumo *ad libitum*. Os aditivos não ocasionaram efeitos sobre o consumo e a digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes. A produção de leite, densidade, gordura (%) e proteína (%) não apresentaram diferença entre os tratamentos. Já o perfil lipídico do leite variou, apresentando menores valores de C4:0 quando as vacas receberam monensina e ácidos de lúpulo na dieta, enquanto o tanino foi igual ao controle. Os teores de C18:0 foram maiores no leite de vacas alimentadas com os ácidos de lúpulo, enquanto os demais aditivos foram iguais à dieta controle. Os aditivos causaram efeito significativo no pH ruminal, onde a monensina apresentou menor média observada, porém dentro da faixa adequada para a digestibilidade da fibra. O nitrogênio amoniacal não sofreu alteração. Os maiores efeitos dos aditivos foram observados na fermentação ruminal, com modulação na produção de ácido acético e propiônico quando os animais receberam monensina e ácidos de lúpulo, ambos apresentando fermentação mais propiônica, o que levou a diminuição da relação acetato/propionato e a estimativa da produção de metano. O tanino provocou mitigação do metano em relação à dieta controle. Os ácidos graxos de cadeia ramificada indicaram que os ácidos de lúpulo têm potencial de redução da proteólise ruminal, mas, mais estudos a cerca desses efeitos são necessários, visto a não observância na diminuição do nitrogênio amoniacal ou modulação no balanço de nitrogênio. Dessa forma, pode-se concluir que os ácidos de lúpulo têm potencial para uso na nutrição de vacas leiteiras, com vistas a modulação fermentativa em vacas leiteiras, sem alteração sobre a produção de leite, se classificando neste experimento, como substituto potencial para monensina sódica em dietas para vacas leiteiras, enquanto o tanino apresentou efeitos discretos ou ausentes.

Palavras-chave: fito-ionóforos, taninos condensados, metanogênese, ruminantes

1. INTRODUÇÃO

A manipulação da fermentação ruminal é explorada na produção de ruminantes há décadas. O uso de aditivos com esse potencial é baseado na sua capacidade de otimizar os processos fermentativos, para que sejam inibidos os que geram maiores quantidades de resíduos e beneficiados os que geram maior disponibilidade de nutrientes para o animal (RUSSELL & RYCHLIK, 2001). Nesse contexto, os antibióticos promotores de crescimento foram ferramentas que representaram aumento na eficiência econômica e biológica na pecuária por muitos anos (CALLAWAY, 2003).

Os principais resíduos que se deseja diminuir são os nitrogenados, representados pela amônia, e os gases CO_2 e CH_4 . Os produtos finais que são desejáveis são os que podem ser utilizados como fonte de energia pelo animal, sendo os AGV e os aminoácidos as principais fontes. O uso de antibióticos promotores de crescimento entra nesses processos modulando-os de forma a tornar a fermentação ruminal mais eficiente (RUSSELL & RYCHLIK, 2001).

No entanto, é palco de discussões e iniciativas, há alguns anos, a questão de saúde humana e o aumento de bactérias multirresistentes, trazendo a necessidade de redução do uso de antibióticos promotores de crescimento na produção animal. No campo ambiental a urgência por diminuir as emissões de metano (CH_4) no setor é incontestável (IPCC, 2023), com menor foco, mas não menos importância, a pecuária bovina como todo, também precisa lidar com os demais fatores que diminuem a sustentabilidade do sistema produtivo, como o desperdício de nutrientes com alto potencial de modificação do ambiente, principalmente de nitrogênio (N) e fósforo (P; TAMMINGA, 1992).

Dessa forma, com o objetivo de cumprir com as demandas de saúde ambiental, humana e animal, novas alternativas para modulação da fermentação ruminal têm sido foco de pesquisas e, nesse contexto os compostos secundários de plantas e extratos herbáceos, têm tido destaque, entre eles, os taninos e os ácidos de lúpulo.

Os taninos são compostos secundários das plantas, presentes em forragens, árvores, arbustos e leguminosas não forrageiras. Haslam (1966) descreveu quimicamente tais compostos como polifenóis ou como moléculas de

alto peso molecular, capazes de se ligar às proteínas, aminoácidos ou polissacarídeos (SCALBERT, 1991). Inclusões de 2 a 4% na dieta de ruminantes, podem aumentar o fluxo de nitrogênio pós-ruminal, por sua habilidade de formar complexos reversíveis com as proteínas dos alimentos, podendo aumentar a disponibilidade de aminoácidos no intestino delgado (RENNÓ et al., 2025).

Baixas concentrações de tanino de *Acacia mearnsii* (0,14, 0,29 ou 0,43% na MS) não apresentaram efeitos sobre o consumo de MS nem desempenho da lactação em vacas leiteiras, apresentando tendência de redução na excreção de N na urina, segundo Oliveira et al. (2023). Em estudo com baixa concentração (111g/dia), média (222 g/dia) e alta concentração 444g/dia), Griffiths et al. (2013) observou que baixas concentrações foram efetivas para diminuição de N na urina, enquanto altas concentrações (1,4 a 2,9% na MS) ocasionou diminuição na produção de leite. Os autores observaram ainda que a suplementação com taninos ocasionou um aumento de nitrogênio nas fezes, sugerindo partição do N para longe da urina.

Os resultados do uso de taninos condensados na alimentação de vacas leiteiras em menores doses podem minimizar os efeitos negativos dos taninos e melhorar o metabolismo de nitrogênio em vacas leiteiras (RENNÓ et al., 2025). Dessa forma, ainda se carece de estudos, a fim de elucidar os efeitos e interações com a dieta, principalmente quanto às características da fibra e concentração de PB da dieta (LAZZARI et al., 2023).

Outra planta cujos compostos são alvo de estudos em potencial para modulador de fermentação ruminal, é o lúpulo. O lúpulo (*Humulus lupulus* Linnaeus) é uma planta caracterizada pela produção de frutos e flores ricos em polifenóis e óleos essenciais. Os extratos de lúpulo são ricos em α -ácidos (humulonas), β -ácidos (lupulonas) e seus produtos de oxidação, como o tetrahydro-iso-alfa, que são substâncias antimicrobianas (BOGDANOVA et al., 2018). Estudos indicam que os ácidos de lúpulo funcionam como um fito-ionóforo, com ações muito semelhantes aos antibióticos ionóforos como a monensina e alasalocida (FLYTHE et al., 2017).

Assim, a hipótese da pesquisa é que os extratos de plantas podem modificar a fermentação ruminal, reduzindo a produção de N-amoniaco, diminuindo a relação acetato:propionato e a produção de metano (CH₄) no caso dos ácidos extraídos do lúpulo e diminuindo a perda de nitrogênio no caso dos taninos, constituindo-se,

ambos, como aditivos alternativos em potencial à monensina sódica, aditivo ionóforo amplamente utilizado para melhorar a eficiência fermentativa ruminal. Dessa forma, objetivou-se comparar diferentes aditivos alternativos na dieta de vacas leiteiras, sobre o metabolismo ruminal e a produção leiteira.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal da Grande Dourados sob número 23016. O experimento foi realizado em uma fazenda de criação de bovinos leiteiros “Nossa Senhora Abadia”, localizada no Município de Douradina, no Estado de Mato Grosso do Sul, de agosto à outubro de 2021.

2.1 Animais e delineamento experimental

Foram utilizadas oito vacas, sendo quatro da raça Holandês com 100 dias em lactação, produção média de 20 kg leite/dia ($593.5\text{kg} \pm 43.5\text{ kg}$) e quatro Jersey não lactantes, não gestantes e canuladas no rúmen ($432.91\text{ kg} \pm 50\text{ kg}$). Os animais foram distribuídos em um duplo quadrado latino (DQL) 4×4 (4 tratamentos e 4 períodos), organizados considerando animais fistulados ou não. Os animais foram alojados em baias individuais com aproximadamente 8 m^2 , com metade da área de piso cimentado com cocho e bebedouro e outra metade com a cama, composta de casca de arroz. O período experimental foi de 20 dias, sendo 14 dias para a adaptação dos animais às dietas experimentais e 6 dias para a coleta de dados, totalizando 80 dias.

2.2 Alimentos, alimentação e tratamentos

As dietas foram formuladas com base no NRC (2001), calculadas para atender às exigências nutricionais de uma vaca de 550 kg de peso corporal, com

produção média de 20 kg de leite/dia. As dietas foram constituídas por 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, com base na MS (Tabela 1).

As dietas isonitrogenadas com 18% PB, compuseram os tratamentos que foram: 1) CON (grupo controle, dieta basal sem aditivos); 2) MON (inclusão de 24 mg/ kg de MS de monensina sódica); 3) TAN (inclusão de 2,5 g/ kg de MS de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estancia Velha/RS/Brasil); 4) HOPS (10 g/animal/dia; equivalente à inclusão de 660 mg/ kg de MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa). O ácido foi incluído na dieta total e homogeneizado manualmente, enquanto a monensina e o tanino foram incorporados no momento de mistura do concentrado.

Os animais foram alimentados com dieta total duas vezes ao dia, às 07h00 e às 13h00. As sobras foram coletadas diariamente para o ajuste do consumo mediante a pesagem. Nos dias de amostragem foram coletadas para as análises químicas posteriores.

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional das dietas controle e com inclusão de monensina, ácidos de lúpulo e tanino

Ingredientes (% na MS)	Dietas experimentais ²			
	CON	MON	HOPS	TAN
Silagem de milho	700	700	700	700
Milho moído	162	162	162	162
Soja grão	108	108	108	108
Mineral ¹	24	24	24	24
Ureia	5,4	5,4	5,4	5,4
Composição nutricional (g/kg MS)				
Matéria seca	481,69	481,69	481,69	481,69
Matéria orgânica	919,30	919,30	919,30	919,30
Matéria mineral	80,69	80,69	80,69	80,69
Proteína bruta	160,00	160,00	160,00	160,00
Extrato etéreo	20,70	20,70	20,70	20,70
Fibra em detergente neutro	405,48	405,48	405,48	405,48
Fibra em detergente ácido	222,93	222,93	222,93	222,93
Lignina	30,99	30,99	30,99	30,99

¹Níveis de garantia (kg/produto): Cálcio 190 g/kg, Fósforo 60 g/kg, Enxofre 20 g/kg, Magnésio 20 g/kg, Potássio 35 g/kg, Sódio 70 g/kg, Cobalto 15 mg/kg, Cobre 700 mg/kg, Cromo 10 mg/kg, Ferro 700 mg/kg, iodo 40 mg/kg, Manganês 1600 mg/kg, Selênio 19 mg/kg, Zinco 2.500 mg/kg, Vitamina A 400.000 UI/kg, Vitamina D3 100.000 UI/kg, Vitamina E 2.400 UI/kg, Flúor 600 mg/kg.² CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 10 g/animal/dia, equivalente à 660 mg/kg MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (2,58g/kg de MS de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil).

2.3 Análises bromatológicas

Amostras de silagem de milho, ingredientes do concentrado, sobras e fezes, foram coletadas e levadas para pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72h e após este período foram moídas em moinho do tipo Willey a 1 mm, e secas por 16h em estufa a 105 °C para determinar a matéria seca (MS, método 950,15), cinza (método 942,05), matéria orgânica (MO, 1000-cinzas), proteína bruta (PB, $N \times 6,25$, método Kjeldahl 984.13) extrato etéreo (EE, método 920,39), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (método 973,18; AOAC, 2000; VAN SOEST et al, 1991). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991). O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado segundo o NRC (2001).

2.4 Consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes

Para a avaliação do consumo, sobras, silagem e concentrado foram pesados diariamente para o ajuste do fornecimento para o consumo *ad libitum*, calculando-se sobras em 10%, e mensurado o consumo de MS, PB e FDN.

Para a avaliação da digestibilidade, foi realizada a coleta total de fezes nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental e, posteriormente, calculado o coeficiente de digestibilidade aparente total da MS, PB, EE, FDN e amido.

O teor total de carboidratos (TC) foi calculado de acordo com Sniffen et al. (1992): $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$; carboidratos não fibrosos (CNF), de acordo com Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ ureia} + \%ureia) + \%EE + \%MM + \%FDN]$; nutrientes digestíveis totais (NDT), de acordo com Weiss (1999): $NDT (\%) = PB \text{ digestível} + FDN + FDN + (EE \times 2,25)$, em que: PB digestível = proteína bruta digestível; FDN = frações digestíveis de FDN; FDN = carboidratos não fibrosos digestíveis; EE = extrato etéreo digestível; e energia líquida da lactação (NE L), de acordo com o NRC (2001), onde $NE L (Mcal/kg) = [0,703 \times \text{Energia metabolizável (Mcal/kg)}] - 0,19$.

2.5 Produção e composição do leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 6h00 e às 16h00 sendo a produção de leite (PL) registrada diariamente durante todo o período experimental e produção média considerada todos os dias do período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura, segundo fórmula de Sklan et al, (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,163 * G\%) * PL$.

As amostras utilizadas para a análise da composição do leite foram obtidas nos 15, 16 e 17º dias de cada período experimental, na qual cada amostra foi proveniente das duas ordenhas diárias, com amostragens proporcionais. No leite foram determinados os teores de gordura, proteína e densidade, através de espectrometria de infravermelho pelo equipamento LACTOSCAN®.

Para a identificação da composição de ácidos graxos do leite, foram coletadas amostras em cada período experimental, sendo uma alíquota na ordenha matutina e outra na ordenha vespertina (200 mL total por animal).

O método utilizado foi o de separação lipídica por processos de centrifugação descritos por Feng et al. (2004), seguido pela separação da camada lipídica (FOLCH et al., 1957) e metilação conforme Kramer et al. (1996), para posterior análise por cromatografia gasosa (Equipamento GC, da Shimadzu 2010).

O processo de separação da fração lipídica, foi realizada por centrifugação (FENG et al., 2004), com centrifugação inicial do leite fresco à 12.000 rpm (a $\sim 17800 \times g$) por 30 min a 4°C, para separar a camada superior de gordura. A camada de gordura foi coletada, e centrifugada a 13.000 rpm ($\sim 19.300 \times g$) por 20 min a 4°C, onde separou-se completamente as três fases: lipídios totais (camada superior), proteína e sólidos (camada intermediária) e fase aquosa (camada inferior). A camada da fração lipídica foi isolada (FOLCH et al., 1957), onde utilizou-se uma solução de clorofórmio e metanol (2:1 v/v). Os lipídios foram obtidos com misturas de solventes e adição de solução de NaCl a 1,5%, para separação de fases, sendo a fase inferior (clorofórmica), contendo os lipídios totais, qual foi coletada para metilação.

A etapa de metilação dos lipídios foi realizada conforme Kramer et al. (1997), onde a gordura isolada (~300-400 mg) foi metilada para a formação dos ésteres metílicos de ácidos graxos, utilizando dois padrões internos (C18:0 e C19:0) para corrigir eventuais perdas durante o processo de metilação.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram quantificados em análises realizadas em cromatógrafo a gás (Equipamento GC da Shimadzu 2010), com coluna SP-2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm) e hidrogênio como gás de arraste. O programa de temperatura variou de 70 a 215 °C, conforme Kramer et al. (1997). A identificação dos picos cromatográficos foi feita por comparação com padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco 37 FAME Mix, Sigma-Aldrich) e padrões específicos de C18:1 t11 e CLA (cis-9, trans-11; trans-10, cis-12).

2.6 Fermentação ruminal

As amostras do líquido ruminal foram coletadas no 19º dia de cada período, com amostragens às 0 h, 2 h, 4 h, 6 h e 8 h após a alimentação. Imediatamente à cada coleta, foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro digital (MB-10, Marte, Santa Rita do Sapucaí, Brasil). As amostras foram armazenadas em recipientes plásticos a -5 °C. No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2.000 × g por 15 minutos, foi acrescido 1 mL do sobrenadante em tubo de ensaio e adicionado 0,2 mL de ácido fórmico PA.

As amostras foram vedadas, identificadas e armazenadas em congelador a -20°C para determinação de ácidos graxos de cadeia curta, seguindo a metodologia descrita por Erwin et al. (1961). Posteriormente, foram pipetados da amostra 2 mL do sobrenadante, realizado o armazenamento em tubos de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) pelo método colorimétrico de fenol-hipoclorito (BRODERICK & KANG, 1980).

2.7 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

A coleta de urina foi realizada no 19º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação. As análises de alantoína, creatinina e ácido úrico foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressos em mmol/dia.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: $DP = 0,85 \times Pabs + 0,385 \times PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 \times PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al., 1990). Para o cálculo do balanço de nitrogênio foi analisado o conteúdo de nitrogênio da urina, fezes e alimentos através do método de Kjeldhal de acordo com AOAC (2000).

O volume urinário foi calculado da seguinte maneira: $VU \text{ (L/dia)} = (27,36 \times PV) / \text{creatinina}$; PV= peso vivo; VU = volume urinário, Onde 27,36 representa o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PV, obtido por Rennó et al. (2014).

2.8 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados com o auxílio do software R (R Core Team, 2023) verificando a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levenne. O conjunto de dados foi analisados, de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + Q_k + S_l + S_l(Em) + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral;

A_i = efeito do animal ($j = 1$ a 8); P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4);

Q_k = efeito do quadrado ($k = 1$ to 2);

Sl = efeito do tratamento ($l = 1$ a 4) e;

e_{ijklm} = erro.

O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por $DDFM = kr$.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1 Matéria seca e digestibilidade aparente total

Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos totais e carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais (NDT) pelos aditivos experimentais ($p > 0,05$).

A digestibilidade da matéria seca, apesar de apresentar valores médios distintos entres os tratamentos, estatisticamente não foi observada diferença entre os aditivos ($p > 0,05$), o mesmo padrão foi constatado na digestibilidade da matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e carboidratos totais não foram alterados pela inclusão dos ácidos de lúpulo ($p > 0,05$).

As médias indicaram digestibilidade da matéria seca de 61,43 g/kg no tratamento controle, 57,24 g/kg no tratamento com monensina, 61,49 g/kg no tratamento com tanino e 70,02 g/kg no tratamento com ácidos de lúpulo.

Da mesma maneira, a densidade energética da dieta expressa como energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e energia metabolizável lactação (EM lac), não apresentaram variação significativa ($p > 0,05$; Tabela 2), indicando que o consumo e a concentração energética da dieta não foram alterados pela inclusão dos aditivos na dieta.

Tabela 2 - Consumo de matéria seca e digestibilidade aparente total de vacas leiteiras recebendo dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino

Item	Dietas experimentais ¹				EPM	P-Valor
	CON	MON	TAN	HOPS		
<i>Ingestão (kg/d)</i>						
Matéria seca	14,72	13,61	14,37	15,20	0,81	0,57
CMS (% PV)	2,87	2,68	2,83	3,03	0,16	0,47
MO	13,53	12,50	13,21	13,97	0,75	0,58
Proteína bruta	2,41	2,23	2,35	2,49	0,13	0,57
FDN	5,97	5,52	5,83	6,16	0,33	0,59
EE	0,30	0,28	0,30	0,31	0,017	0,66
CNF	4,85	4,49	4,74	5,01	0,27	0,57
CT	9,26	7,99	9,43	9,71	0,57	0,19
NDT	8,87	7,88	8,53	10,20	0,98	0,42
<i>Digestibilidade (g/kg)</i>						
Matéria seca	614,3	572,4	614,9	700,2	5,38	0,42
MO	650,1	614,7	650,8	740,1	5,11	0,38
Proteína bruta	549,2	501,0	533,5	652,6	6,19	0,37
FDN	688,5	630,5	639,1	704,5	4,68	0,62
CNF	624,1	619,0	688,7	800,6	6,37	0,19
CT	658,9	625,3	662,8	748,9	5,07	0,38
ED (Mcal/kg MS)	4,08	3,52	4,16	4,28	0,25	0,19
EM (Mcal/kg MS)	3,67	3,11	3,75	3,88	0,26	0,19
ELiq Lac(Mcal/kg MS)	2,06	1,82	1,98	2,39	0,24	0,41
Glicose <i>plasma</i> (mg/dL)	50,47	56,06	49,47	61,06	3,11	0,06

¹CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 10 g/animal/dia, equivalente à 660 mg/ kg de MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (inclusão de 2,5 g/ kg de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil). EPM: erro padrão da média; MO: matéria orgânica; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; CT: carboidratos totais. ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; ELiq Lac: energia líquida de lactação.

3.2 Produção e composição do leite

A produção de leite, produção de leite corrigida a 3,5% de gordura (PLCG 3,5%), densidade, porcentagem de gordura e de proteína, não variaram com a adição dos diferentes aditivos ($p > 0,05$). A relação entre a produção de leite e o consumo de matéria seca não foi afetada pelas dietas experimentais (Tabela 3).

Tabela 3- Produção e composição do leite e eficiência alimentar de vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino

Item	Dietas experimentais ¹				EPM	P-Valor
kg/d	CON	MON	TAN	HOPS		
Produção de leite	24,52	23,98	23,36	22,57	0,97	0,77
PLCG 3,5%	22,75	21,94	22,13	20,62	0,85	0,66
Dens. do leite	31,76	30,78	33,74	31,32	0,49	0,13
%						
Gordura	4,88	4,65	3,94	4,84	0,21	0,56
Proteína	3,07	2,98	3,19	3,00	0,04	0,08
<i>Eficiência alimentar</i>						
PL/CMS ³	1,76	2,04	1,59	1,68	0,08	0,38

¹CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 660 mg/kg MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (inclusão de 2,58 g/kg MS de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil). PLCG 3,5%: Produção de leite corrigida 3,5% de gordura.

O perfil lipídico do leite foi analisado (Tabela 4) permitindo observar que os aditivos ocasionaram alteração nas quantidades de C4:0, sendo as médias menores e iguais entre a monensina e os ácidos de lúpulo, e maiores e iguais para dieta controle e com tanino. Para o ácido graxo C6:0 observou-se que o tanino gerou a menor média e os demais aditivos foram estatisticamente iguais. Enquanto que as quantidades de C18:0 foram maiores quando os animais foram alimentados com os ácidos de lúpulo, e os demais aditivos foram iguais à dieta controle ($p < 0,05$).

Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, monensina e tanino

Item	Dietas experimentais ¹				EPM	P- valor
	CON	MON	TAN	HOPS		
<i>Ácidos Graxos</i>						
C4:0	1,46a	1,43b	1,46a	1,42b	0,01	0,03
C6:0	1,65a	1,67a	1,62b	1,66a	0,01	0,03
C8:0	2,89	2,93	2,88	2,79	0,03	0,33
C10:0	6,76	6,71	6,74	6,75	0,02	0,89
C12:0	4,23	4,26	4,25	4,26	0,01	0,36
C18:0	14,39b	14,30b	14,36b	14,51a	0,02	0,02
C18:1t11	4,26	7,25	7,25	7,23	0,04	0,60
C18:2 n6	1,61	1,56	1,53	1,56	0,01	0,36
C18:3n3	1,57	1,63	1,57	1,64	0,02	0,19
C20:0	0,90	0,94	0,91	0,91	0,01	0,80
C22:0	0,84	0,84	0,84	0,87	0,01	0,27
C24:0	0,23	0,21	0,22	0,19	0,01	0,45

¹CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 10 g/animal/dia, equivalente à 660 mg/kg MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração de tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (inclusão de 2,58 g/kg MS de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil).

3.3 Fermentação ruminal

Os aditivos alteraram o pH ruminal ($p < 0,0001$). A monensina foi o aditivo que apresentou menor média observada entre os demais (6,30), que foram semelhantes entre si (Tabela 5). Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a variável NH₃.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para os ácidos graxos voláteis, sendo observadas menores quantidades de ácido acético quando os animais receberam monensina e o ácido de lúpulo na dieta, com o grupo controle e o tanino apresentando médias maiores e iguais (Tabela 5). Os teores de ácido

propiónico foram afetados pelos aditivos, apresentando maior média na dieta com monensina e ácidos de lúpulo ($p < 0,05$), o tempo de coleta e a interação entre dieta e tempo não impactaram as médias. As alterações provocadas nestes AGVs afetaram a relação acetato/propionato, apresentando o mesmo padrão, onde a menor relação observada foi nos tratamentos com monensina e ácidos de lúpulo.

As quantidades de valerato e isovalerato, variaram conforme os diferentes aditivos ($p < 0,05$). As vacas alimentadas com monensina e a dieta controle apresentaram maiores valores de valerato (Tabela 5). As quantidades de isovalerato foram maiores quando os animais receberam monensina e tanino, a dieta com ácidos de lúpulo teve média equivalente ao grupo controle, conforme o teste de médias.

Os ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) apresentaram variação entre os tratamentos, de forma que, as vacas alimentadas com monensina e tanino apresentaram as maiores médias observadas, enquanto, o grupo controle e os ácidos de lúpulo foram semelhantes entre si. A estimativa da quantidade de metano produzida também variou ($p < 0,01$), de forma que as menores quantidades foram obtidas quando os animais receberam monensina e os ácidos de lúpulo, seguidos do tratamento com tanino e a maior quantidade no grupo controle (Tabela 5)

Tabela 5- Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo ácidos de lúpulo, tanino e monensina

Item	Experimental diets ¹				EPM	P- valor		
	CON	MON	HOPS	TAN		Dieta	Tempo	D*T
pH	6,74b	6,30c	6,68ab	6,49ab	0,04	<0,0001	0,001	0,84
N-NH ₃ (mg/dL)	15,16	16,47	19,09	18,21	0,72	0,08	0,05	0,17
mmol/L								
Acético	51,41a	40,02b	35,63b	45,05a	1,24	<0,0001	0,84	0,12
Propiônico	19,51b	21,41a	25,80a	18,75b	0,54	0,008	0,88	0,32
Butirato	8,99	9,77	8,70	9,08	0,17	0,06	0,99	0,99
Isobutirato	0,22	0,50	0,35	0,28	0,04	0,13	0,05	0,76
Valerato	0,33a	0,38a	0,24b	0,29b	0,09	0,002	0,86	0,27
Isovalerato	1,47b	2,26a	1,35b	1,94a	0,02	0,001	0,59	0,99
AGCR	2,02b	3,143a	1,95b	2,52a	6,13	0,001	0,09	0,74
Total	81,95	74,35	72,09	99,02	0,11	0,36	0,47	0,33
Acético/propiónico	2,72b	1,91b	1,43b	3,72a	0,29	0,02	0,48	0,39
Metano (g/d) ²	21,37a	16,03c	15,02c	18,75b	0,62	0,001	0,81	0,09

¹CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 10 g/animal/dia, equivalente à 660 mg/kg MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (inclusão de 2,58 g/kg MS de tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil). ²EPM (erro padrão da média). ²Calculado de acordo com Moss et al. (2000) pela fórmula: CH₄ = 0,45 x acetato – 0,275 x propionato + 0,4 x butirato. AGCR: ácidos graxos de cadeia ramificada.

Independentemente do tempo de amostragem, as vacas alimentadas com monensina apresentaram menor faixa de pH observada (Figura 1), com menor observação em 8 horas após a alimentação, com pH de 6,21. O grupo controle apresentou os valores mais elevados em todos tempos de amostragens, exceto às 0 horas (antes da alimentação), qual o grupo que recebeu os ácidos de lúpulo na dieta, apresentaram maior valor observado (pH 6,96). Todos os tratamentos mantiveram o pH dentro da faixa ideal para fermentação ruminal, entre 6,2 a 7,0.

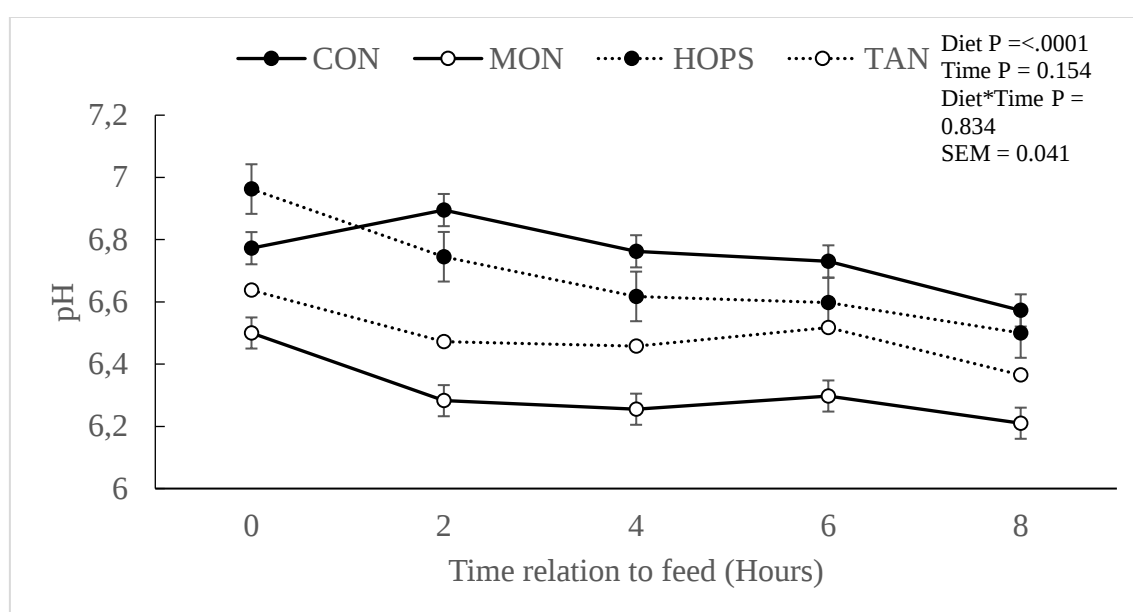


Figura 1- Valores de pH ruminal de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino, em função do tempo de fornecimento da alimentação

Vacas suplementadas com dietas contendo MON ou HOPS apresentaram menores concentrações de acetato (Figura 2) em relação às demais dietas avaliadas. A dieta controle apresentou a máxima concentração de acetato às 8 h após a alimentação (57,54 mmol/L) e ponto mínimo às 4 h (44,18 mmol/L). A dieta com tanino apresentou valores semelhantes a dieta controle, com ponto máximo às 4 h (46,58 mmol/L) e mínimo à 8 h (40,13 mmol/L). A dieta contendo ácidos de lúpulo (HOPS) apresentou os menores valores às 4, 6 e 8 h após alimentação

(Figura 2), enquanto a monensina apresentou menores valores às 0 e 2 h, tendo as duas dietas, média igual perante o teste de médias (Tabela 4).

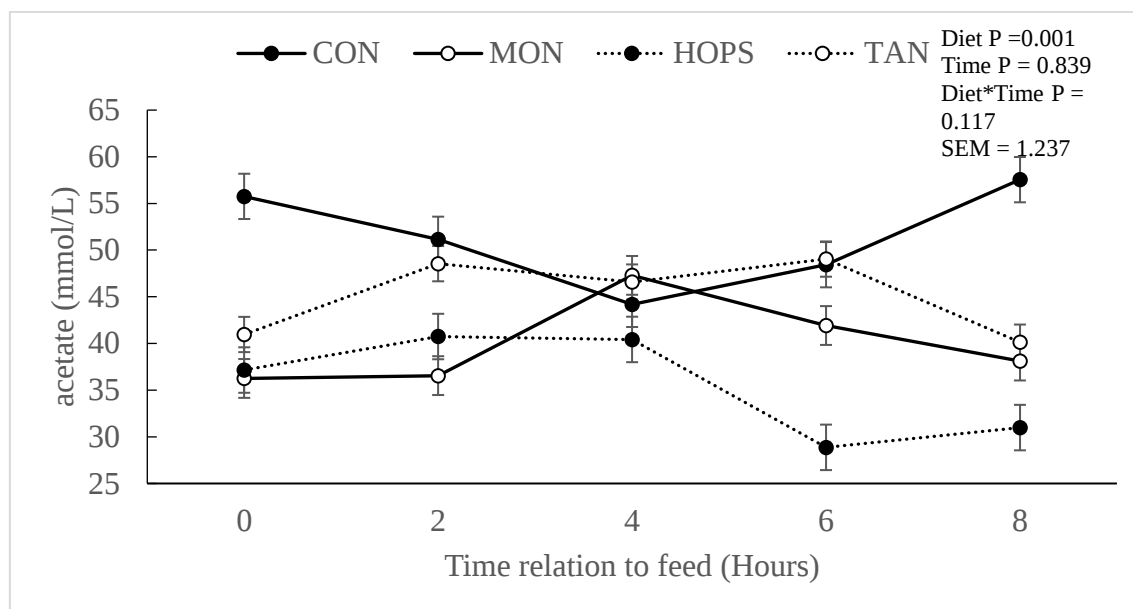


Figura 2- Concentração ruminal de acetato (mmol/L) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino, em função do tempo de fornecimento do alimento

A concentração de propionato das dietas contendo MON e HOPS foi maior que os demais tratamentos, em todos os tempos de avaliação (Figura 3). A menor concentração de propionato foi observada na dieta com tanino às 4 h após fornecimento da ração, tendo o tempo de avaliação, também ocasionado interferência sobre as concentrações desse AGV.

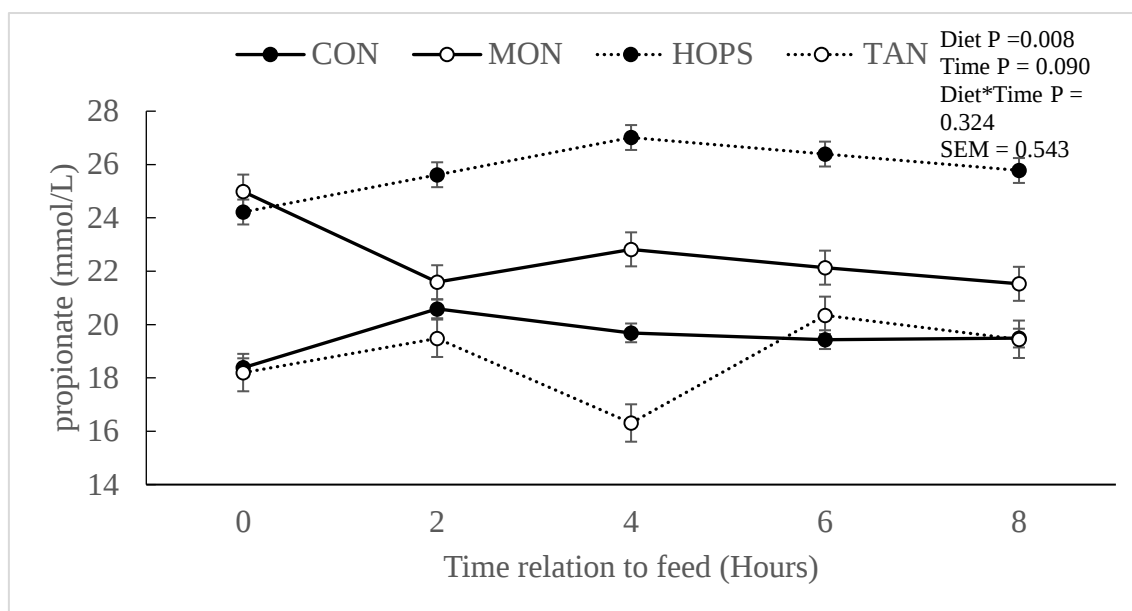


Figura 3- Concentração ruminal de propionato (mmol/L) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino em função do tempo de fornecimento do alimento

As concentrações de metano (g/dia) variaram conforme a dieta experimental ($P = 0,001$) e conforme a interação entre a dieta e o horário de coleta ($P = 0,098$). Os pontos máximos foram observados na dieta controle às 0 h (23,53 g/dia) e às 8 h (24,17g/dia), e o ponto mínimo ocorreu às 4 h (18 g/dia; Figura 4), concomitante ao ponto mínimo de produção de acetato nesse grupo ao mesmo tempo (Figura 2).

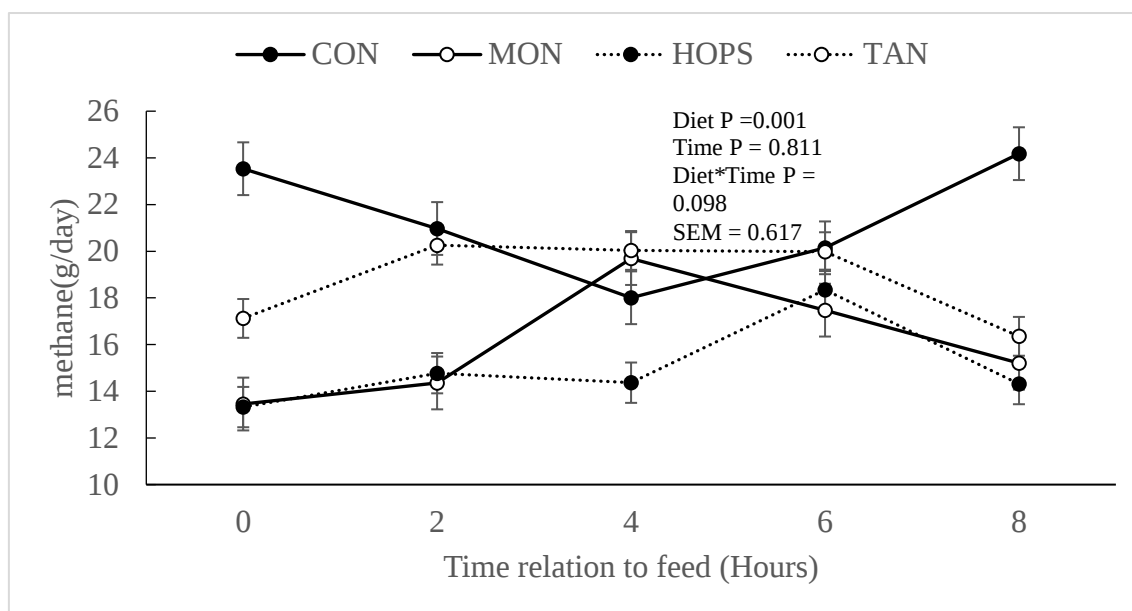


Figura 4- Emissão ruminal de metano (g/dia) de vacas leiteiras recebendo dietas com ácidos de lúpulo, monensina e tanino em função do tempo de fornecimento do alimento

Reduções nas concentrações de acetato (mmol/L; Figura 2) e aumentos nas concentrações de propionato (Figura 3) e nenhuma alteração nas concentrações de butirato proporcionaram reduções nas emissões diárias de metano (g/dia) pelos animais suplementados com HOPS e MON em relação aos animais suplementados com as dietas CON e TAN (Figura 4).

3.4 Compostos nitrogenados

Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) da dieta no consumo de nitrogênio, nitrogênio excretado nas fezes e nitrogênio retido. As dietas experimentais afetaram as quantidades de nitrogênio na urina ($p < 0,05$), de forma que a menor média foi observada quando os animais receberam monensina, e os demais aditivos foram semelhantes à dieta controle.

A síntese microbiana ruminal não foi afetada entre as dietas (Tabela 5), de forma que o N-microbiano e a proteína microbiana foram semelhantes entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Tabela 6- Balanço de nitrogênio e síntese proteica microbiana de vacas leiteiras recebendo dietas com monensina, ácidos de lúpulo e tanino

Item <i>g/dia</i>	Dietas Experimentais ¹				EPM	P- Valor ²
	CON	MON	HOPS	TAN		
N-ingerido	385,28	356,19	376,11	397,86	21,24	0,57
N-fezes	130,99	121,11	127,88	135,27	7,22	0,57
N-urina	26,44	24,68	26,49	27,62	0,53	0,01
N-retido	227,85	210,40	221,74	234,96	14,07	0,66
Creatinina plasma (<i>mg/dL</i>)	0,93	0,84	0,69	1,07	0,88	0,09
<i>Síntese microbiana ruminal g/dia</i>						
N- microbiano	1412,42	1220,83	636,25	1517,31	148,76	0,06
Proteína microbiana	3871,16	3605,47	3437,69	2077,09	397,13	0,33

¹CON (dieta basal sem aditivos); MON (inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica); HOPS (inclusão de 10 g/animal/dia de ácidos de lúpulo, equivalente à 660 mg/kg MS de ácidos de lúpulo, com maior concentração do tetrahydro-iso-alfa, BetaTec Hop Products®, Washington/DC/USA); TAN (inclusão de 2,58 g/ kg MS tanino de *Acacia mearnsii* SETA S.A. ®, Estância Velha/RS/Brasil). ²EPM (erro padrão da média).

4. DISCUSSÃO

Os aditivos experimentais não provocaram alteração significativa sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes. A não diferença, indica que nenhum dos aditivos, nas doses testadas, afetaram o comportamento ingestivo ou os mecanismos fisiológicos que regulam o CMS, como enchimento ruminal, taxa de

passagem, FDN efetivo, densidade energética (NDT sem diferença) e/ou metabolismo hepático (maior produção de propionato).

No caso da monensina e dos ácidos de lúpulo, o modo de ação vinculado que poderia levar a redução do consumo de matéria seca é relacionado ao aumento da concentração de propionato, que é convertido em glicose pelo fígado e ligado diretamente a sinais de saciedade, que reduziriam o consumo (OBA & ALLEN, 2003). Todavia, apesar desses dois aditivos terem apresentado aumento na concentração de propionato (mmol/L) em relação às demais dietas experimentais, essa concentração não significa maior fluxo, observando também que não houve aumento na produção total de AGV entre as dietas, nem na concentração de glicose plasmática entre os tratamentos (ALLEN, 2020).

A digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes está relacionada aos eventos ruminais, como pH, taxa de passagem e degradabilidade dos alimentos pelos microrganismos do rúmen. Os aditivos empregados atuariam como moduladores dessas atividades pela mudança que podem ocasionar na flora ruminal (NRC, 2001). Todavia, apesar das diferenças fermentativas que se observou entre os aditivos, não houve impacto sobre a digestibilidade da MS e nutrientes.

Na literatura, é observada inconsistência dos efeitos desses aditivos sobre a digestibilidade da dieta. McGuffey et al. (2001) na sua revisão extensa sobre os efeitos dos ionóforos para gado leiteiro, observa que os mesmos não causam efeito na digestibilidade da fibra, pois a sua ação sobre os microrganismos fibrolíticos sensíveis pode ser compensado pelo aumento da atividade de outras bactérias fibrolíticas resistentes, e no caso da digestão ruminal do amido, pode ocorrer redução, mas, há aumento da digestão pós-ruminal, a ponto da digestibilidade do trato digestivo permanecer inalterada.

Isso ocorre, pois, os efeitos dos aditivos têm interação direta com os ingredientes da dieta, como tipo de volumoso utilizado, com o nível de produção dos animais, dose dos aditivos utilizada, período de lactação e estado geral do animal, por isso, na literatura se encontra uma variedade de resultados em vacas leiteiras (NRC, 2001).

A produção de leite também não sofreu alteração entre as dietas. A maior produção de propionato (mmol/L) aferida nas dietas com monensina e ácidos de

lúpulo, não foram capazes de aumentar o fluxo de glicogênio hepático e contribuir para aumento de produção (OBA & ALLEN, 2003).

Já o perfil lipídico do leite sofreu alterações com o uso dos aditivos, podemos observar que houve a modulação sutil sobre a síntese de novo na glândula mamária, visto que os ácidos graxos de cadeia curta (C4:0 a C12:0), mantiveram-se estáveis entre as dietas, à exceção do C4:0 e C6:0. As quantidades de ácido butírico (C4:0), principal ácido graxo de cadeia curta do leite, apresentaram menores médias quando os animais foram alimentados com monensina e os ácidos de lúpulo. Isso ocorre, pois, esses ácidos graxos são predominantemente sintetizados de novo na glândula mamária a partir do acetato e do butirato, resultado completamente condizente com a modulação que houve no rúmen, com diminuição da produção de acetato, quando as vacas receberam esses aditivos na dieta (URRUTIA & HARVATINE, 2017).

Houve uma modulação também no ácido caproico (C6:0), onde a menor média foi observada quando as vacas foram suplementadas com tanino em relação aos demais, porém, sem relação direta com o comportamento dos ácidos graxos voláteis, principalmente acetato e butirato (precursores na síntese de novo) com esse aditivo (URRUTIA & HARVATINE, 2017), dessa forma, apesar da diferença entre os tratamentos, esse resultado tem uma relevância biológica limitada e pouco nos permite inferir algo num sentido lógico e confiável.

Em resumo, a baixa variação entre os ácidos graxos de síntese de novo (C4:0-C12:0) apresentaram mudanças discretas que indicam que a lipogênese mamária foi pouco afetada pelos aditivos. Ácidos graxos intermediários da biohidrogenação, como C18:1t11, C18:2 n-6 e C18:3 n-3, não foram influenciados, demonstrando estabilidade do processo de bio-hidrogenação ruminal.

Houve modulação no ácido esteárico (C18:0) do leite, com maior concentração na dieta com os ácidos de lúpulo. Esse ácido indica que houve uma modulação da biohidrogenação pelos ácidos de lúpulo, aumentando a taxa de bio-hidrogenação já que o C18:0 é o produto final desse processo, e levando ao aumento do fluxo duodenal de C18:0. O aumento do fluxo duodenal de C18:0 tem relação positiva com a concentração de C18:0 no leite e negativa e linear com a lipogênese do C4:0 a C16, por mecanismos pouco conhecidos (GLASSER et al., 2008). Esse resultado é condizente com o observado nesse experimento, onde o

tratamento com os ácidos de lúpulo apresentou maior concentração de C18:0 no leite concomitante com uma redução de C4:0.

Vacas suplementadas com os ácidos de lúpulo e a monensina apresentaram mudança no perfil fermentativo de ácidos graxos voláteis, evidenciada por maiores quantidades de ácido propiônico, gerando menor relação A:P, em relação ao tanino, e menor produção de metano em relação ao controle e ao tanino. Ipharraguerre & Clark (2003) relatam que um dos principais benefícios da suplementação com ionóforos para vacas leiteiras em lactação é a potencial alteração na proporção acetato:propionato, com maior produção de propionato e, consequentemente, diminuição da metanogênese.

Os ácidos de lúpulo, aqui caracterizado como um fito-ionóforo, e a monensina, reduzem a atividade fermentativa das bactérias gram-positivas, levando a redução da produção de H₂ e CO₂ e, consequentemente, a redução na produção de metano, bem como, aumento na produção de propionato, por favorecerem o crescimento das bactérias gram-negativas. Os mesmos aditivos são listados por reduzirem a oxidação de aminoácidos no rúmen e reduzirem a quantidade de amônia (KOZLOSKI, 2009; FLYTHE et al., 2017), todavia, esse mecanismo não foi evidenciado neste experimento, visto a não observância da redução do nitrogênio amoniacal entre as dietas (Tabela 5; $P > 0,05$).

A adição dos ácidos de lúpulo e do tanino nas dietas, reduziu ($P < 0,05$) a concentração de valerato em relação à dieta controle e a com monensina. Já o isovalerato foi reduzido ($P < 0,05$) na dieta com ácidos de lúpulo em relação à monensina e ao tanino, mas igual à dieta controle. Esses dois ácidos graxos e os ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) são produzidos, principalmente, por bactérias com alta atividade desaminativa, a partir da fermentação de aminoácidos (KOZLOSKI, 2009). Dessa forma, a redução desses ácidos graxos sugere diminuição da atividade proteolítica ruminal, mas no caso dos AGCR, eles também estão associados a uma diminuição de atividade das bactérias que degradam a fibra, pois as mesmas, utilizam desses ácidos graxos como substrato (ALLISON et al., 1962; ROMAN-GARCIA et al., 2021; FIRKINS et al., 2024).

A concentração de metano em função do tempo de fornecimento das dietas experimentais (0, 2, 4, 6, 8h) do grupo que recebeu tanino, se assemelha com o observado na concentração de acetato desse mesmo tratamento, observando que houve um aumento na produção de metano concomitante à de acetato nas 2, 3 e

6 horas após a alimentação, tendo uma queda na produção de metano e de acetato nas 8 horas após fornecimento da dieta.

O resultado sugere que houve maior fermentação acética qual gera maiores quantidades de substratos para produção de metano no ambiente ruminal, assim que houve menor uso dessa via de fermentação às 8h, houve também uma queda na produção de metano. Resultado semelhante ocorreu na dieta controle com queda na produção de acetato e metano ao mesmo tempo de medição (4h após fornecimento da ração), concordando ao que diz Kozloski (2009), que a produção de metano é proporcional à produção de acetato.

Observando a dieta controle em seus níveis de concentração de acetato em função do tempo de fornecimento das dietas experimentais, observou-se que houve menor produção de acetato até 4 horas e aumento a partir das 6 e 8 horas, possivelmente resultado da degradação mais lenta dos carboidratos estruturais. Ao mesmo modo houve aumento na produção de propionato às 2h, sugerindo que neste tempo houve rápida fermentação dos carboidratos não fibrosos da dieta (VAN SOEST, 1994).

Adicionalmente ao resultado acima mencionado da relação direta entre a produção de acetato e metano, observou-se que não houve diferença entre os tratamentos nas concentrações de butirato, outro importante ácido graxo volátil, que similarmente ao acetato gera subprodutos de fermentação (CO_2 e H_2) que são metabolizados em CH_4 pelas bactérias metanogênicas (ELLIS et al., 2008). A relação dos resultados também se deve a metodologia de cálculo que permitiu estimar a concentração de metano, na qual Moss et al. (2000) insere que para cada molécula de acetato produzida, são geradas duas moléculas de H_2 que ficam disponíveis para a metanogênese, enquanto o butirato gera uma molécula e o propionato consome uma molécula.

Houve redução na produção de metano (g/d) quando as vacas receberam tanino em comparação à dieta controle, Cieslak et al. (2013) sugerem que o efeito dos taninos na mitigação de metano se dá tanto pela redução do número de protozoários quanto pelo efeito tóxico direto que causa sobre as bactérias metanogênicas. A redução na produção de metano diária foi observada em outros estudos utilizando taninos condensados de acácia (FAGUNDES et al., 2020).

Não houve diferença entre os aditivos na quantidade de nitrogênio ingerido, resultado correspondente à dieta isonitrogenada. Também não houve diferença de

nitrogênio excretado nas fezes, mostrando que os aditivos não foram capazes de diminuir a degradação das proteínas no rúmen, que permaneceram dentro da mesma faixa que o observado na dieta controle. Para quantidade de nitrogênio excretado na urina, pode-se observar que a monensina ocasionou uma mitigação na perda desse nutriente, sugerindo diminuição da deaminação ruminal e melhor aproveitamento dos compostos nitrogenados quando utilizado esse aditivo. Assim, observou-se que as concentrações de N-NH_3 permaneceram semelhantes entre as dietas experimentais, o que pode nos indicar que o metabolismo ruminal, quando recebeu monensina, pode ter se adaptado por meio da reciclagem de ureia, diminuindo as perdas de N-urina, para conversão novamente em amônia no rúmen e assim a manutenção da fermentação e a estabilidade ruminal (NRC, 2001).

Pode-se observar que os aditivos não promoveram grandes modulações no balanço de nitrogênio no rúmen, de modo que a quantidade de N retido se manteve igual entre as dietas, assim como a síntese de proteína microbiana.

5. CONCLUSÃO

Os efeitos dos aditivos testados concentraram-se, principalmente, na modulação da fermentação ruminal, com efeitos semelhantes entre a monensina e os ácidos de lúpulo, que se apresentou como potencial aditivo, agindo como um fito-ionóforo. Dessa forma, os ácidos de lúpulo na dieta de vacas leiteiras geraram fermentação mais propiônica, com menor produção de metano, assim como a monensina enquanto a dieta com tanino gerou menor produção de metano estimado, em relação ao controle. Os ácidos graxos de cadeia ramificada indicaram que os ácidos de lúpulo têm potencial de redução da proteólise ruminal, mas, mais estudos em relação a esses efeitos são necessários, uma vez que não houve redução do nitrogênio amoniacal ou modulação no balanço de nitrogênio. A produção de leite não foi impactada pelos aditivos testados.

Dessa forma, concluí-se que os ácidos de lúpulo apresentam potencial para uso na nutrição de vacas leiteiras, objetivando a modulação fermentativa em substituição a monensina sódica em dietas, visando sobretudo a mitigação de metano, sem afetar a produção de leite.

REFERÊNCIAS

- ALISSON, M. J.; BRYANT, M. P.; DOETSCH, R. N. Studies On The Metabolic Function Of Branched-Chain Volatile Fatty Acids, Growth Factors For Ruminococci I: Incorporation of Isovalerate into Leucine. ASM Journals, **Journal of Bacteriology**, v. 83, n. 3, 1962. DOI: 10.1128/jb.83.3.523-532.1962
- ALLEN, M. S. Review: Control of feed intake by hepatic oxidation in ruminant animals: integration of homeostasis and homeorhesis. **Animal**, v. 14, p. s55-s64, 2020, DOI: 10.1017/S1751731119003215
- BAUMAN, D. E; GRIINARI, J. M. Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003. DOI: 10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408
- BOGDANOVA, K.; RÖDEROVA, M.; KOLAR, M.; LANGOVA, K.; DUSEK, M.; JOST, P.; KUBELKOVA, K.; BOSTIK, P.; OLSOVSKA, J. Antibiofilm activity of bioactive hop compounds humulone, lupulone and xanthohumol toward susceptible and resistant staphylococci. **Research in Microbiology**, v. 169, n. 3, p. 127-134, 2018. DOI: 10.1016/j.resmic.2017.12.005.
- BORGES, L.F.O.; PASSSINI, R.; MEYER, P.M.; PIRES, A. V.; RODRIGUES, P. H.M. Effects of enramycin and sodium monensin on dry matter intake, ruminal fermentation and alimentary behavior in bovine fed high-concentrate diets. Ruminantes. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n. 4, 2008. DOI: 10.1590/S1516-35982008000400014
- CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; RYCHLIK, J. L.; GENOVESE, K. J.; POOLE, T. L.; JUNG, Y. S.; BISCHOFF1, K. M.; ANDERSON, R. C., NISBET, D. J. Ionophores: Their Use as Ruminant Growth Promotants and Impact on Food Safety. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 4, p. 43-51, 2003. Disponível em: <https://www.caister.com/backlist/ciim/v/v4/05.pdf>. Acesso em 31/05/2026.
- CIESLAK, A; SZUMACHER-STRABEL, M; STOCHMAL, A; OLESZEK, W. Plant components with specific activities against rumen methanogens. **Animal**, v. 7, Supl. 2, p. 253-265, 2013. DOI: 10.1017/S1751731113000852

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR., S. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019. DOI: 10.21577/0100-4042.20170412

ELLIS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; ODONGO, N. E.; McBRIDE, B. W.; FRANÇA, J. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modeling of methane production in cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 146, n. 2, 2008, p. 213-233, 2008. DOI: 10.1017/S0021859608007752

FAGUNDES, G. M.; BENETEL, G.; WELTER, K. C.; MELO, F. A.; MUIR, J. P.; CARRIERO, M. M.; SOUZA, R. L. M.; MEO-FILHO, P.; FRIGHETTO, R. T. S.; BERNDT, A.; BUENO, I. C. S. Tannin as a natural rumen modifier to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: Friend or foe to biogas energy production? **Research in Veterinary Science**, v. 132, p. 88-96, 2020. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.05.010

FIRKINS, J. L.; MITCHELL, K. E.; BRANCO, A. F. Invited Review: Role for isoacids in dairy nutrition. **Applied Animal Science**, v. 40, n. 4, p. 466-477, 2024. DOI: 10.15232/aas.2024-02537

FLYTHER, M.D. The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 6, p. 712–717, 2009. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02600.x

FLYTHER, M. D.; KAGAN, I.; WANG, Y.; NARVAEZ, N. Hops (*Humulus lupulus* L.) Bitter Acids: Modulation of rumen fermentation and potential as an alternative growth promoter. **Frontiers Veterinary Science**, vol. 4, n.131, 2017. DOI: 10.3389/fvets.2017.00131

GANDRA, J. R.; RENNÓ, F. P.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; SANTOS, M. V.; PRADA e SILVA, L. F.; ARAÚJO, A. P. C. Desempenho produtivo e composição da fração protéica do leite em vacas sob suplementação com monensina sódica. Ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n.8, 2010. DOI: 10.1590/S1516-35982010000800025

GLASSER, F.; FERLAY, A.; DOREAU, M.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; CHILLIARD, Y. Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Dairy Cows: A Meta-Analysis of Milk Fatty Acid Yield in Relation to Duodenal Flows and De Novo Synthesis.

Journal of Dairy Science, v. 91, n. 7, p. 2771-2785, 2008. DOI: 10.3168/jds.2007-0383

GRIFFITHS, W. M.; CLARK, C. E. F.; CLARK, D. A.; WAGHORN, G. C. Supplementing lactating dairy cows fed high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. **Animal**, v. 7, n. 11, p. 1789 -1795, 2003. DOI: 10.1017/S1751731113001420

HASLAM, E. Vegetable tannis. In: CONN, E.E. (Ed.) **The biochemistry of plants**. London: Academic Press, 1981. p. 527-556.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Summary for Policymakers. In: **Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Core Writing Team, Lee, H.; Romero, J. (eds.). Geneva: IPCC, 2023. p 1-34. DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001

IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, n. 1–4, 21, p. 39-57, 2003. DOI: 10.1016/S0377-8401(03)00065-8

KOZLOSKI, G. **Bioquímica dos ruminantes**, 2. Ed. – Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216 p. ISBN 978-85-7391-090-2

LAVRENČIČ, A.; LEVART, A.; KOSIR, I. J.; CERENAK, A. Influence of two hop (*Humulus lupulus* L.) varieties on in vitro dry matter and crude protein degradability and digestibility in ruminants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 6, p. 1248-1252, 2013. DOI: 10.1002/jsfa.6407

LAZZARI, G; MUNGER, A; EGGERSCHWILER, L; BORDA-MOLINA, D; SEIFERT, J; CAMARINHA-SILVA, A; SCHRADER, S; ZAHNER, M; ZEYER, K; KREUZER, M. DOHME-MEIER, F. Effects of *Acacia mearnsii* added to silages differing in nutrient composition and condensed tannins on ruminal and manure-derived methane emissions of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 10, 2023, p. 6816-6833. DOI: 10.3168/jds.2022-22901

MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. E suppl., p. E194-E203, 2001. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Dose-Response Effects of Intrauminal Infusion of Propionate on Feeding Behavior of Lactating Cows in Early or Midlactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2922-2931, 2003. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73889-2

OLIVEIRA, L. N.; PEREIRA, M. A. N.; OLIVEIRA, C. D. S.; OLIVEIRA, C. C.; SILVA, R. B.; PEREIRA, R. A. N.; DeVries, T. K.; PEREIRA, M. N. Effect of low dietary concentrations of Acacia mearnsii tannin extract on chewing, ruminal fermentation, digestibility, nitrogen partition, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 5, p. 3203-3216, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22521

RENNÓ, F. P.; TAKIYA, C. S.; CERON, B. M.; POLETTI, G.; VITOR, A. C. S.; SILVA, J. R.; GRIGOLETTO, N. T. S.; SILVA, G. G.; PEREIRA, N. M.; BRUTTI, D. D.; SILVA, V. M.; MAYSONNAVE, G. S. Low levels of condensed tannins enhance lactation performance in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 322, 2025. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2025.116349.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools— A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 76, n. 1, p. 1–20, 2018. DOI: 10.1080/03610470.2017.1402574

ROMAN-GARCIA, Y.; DENTON, B. L.; MITCHELL, K. E.; LEE, C.; SOCHA, M. T.; FIRKINS, J. L. Conditions stimulating neutral detergent fiber degradation by dosing branched-chain volatile fatty acids. I: Comparison with branched-chain amino acids and forage source in ruminal batch cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6739-6755, 2021. DOI: 10.3168/jds.2020-20054

RUSSEL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors That Alter Rumen Microbial Ecology. **Science**, v. 292, n. 5519, p.1119-1122, 2001. DOI: 10.1126/science.105883

SALANTA, L. C.; FARCAS, A. C.; BORSA, A.; POP, C. R. Current strategies for the management of valuable compounds from hops waste for a circular economy. **Food Chemistry: X**, v. 19, art. 100876, 2023. DOI: 10.1016/j.fochx.2023.100876

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991. DOI: 10.1016/0031-9422(91)83426-L

TAMMINGA, S. Nutrition Management of Dairy Cows as a Contribution to Pollution Control. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 345-357, 1992. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77770-4.

URRUTIA, N.L.; HARVATINE, K.J. Acetate Dose-Dependently Stimulates Milk Fat Synthesis in Lactating Dairy Cows. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 5, p. 763-769, 2017. DOI: 10.3945/jn.116.245001

URRUTIA, N.L; HARVATINE, K.J. Acetate Dose-Dependently Stimulates Milk Fat Synthesis in Lactating Dairy Cows. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 5, p. 763-769, 2017. DOI: [10.3945/jn.116.245001](https://doi.org/10.3945/jn.116.245001)

RIBEIRO, S. S.; VEDOVATTO, M.; PALMER, E. A.; FRANCO, G. L. Effects of *Acacia mearnsii* De Wild. extract and monensin on intake, digestibility, and ruminal variables of lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 53, e20200138, 2024. DOI: 10.37496/rbz5320200138

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os aditivos nutricionais atuam como moduladores específicos de processos ruminais e podem ser ferramentas relevantes na estratégia de mitigação das emissões de metano, tornando-se aliados importantes na transição para sistemas de produção mais sustentáveis do ponto de vista produtivo e ambiental. No entanto, seu uso isolado não é suficiente para resolver questão de tão elevada complexidade biológica e ecológica. Isso ocorre porque os aditivos são capazes de modular, mas não de eliminar ou substituir completamente as vias fermentativas que levam à formação de metano, essenciais para a manutenção da homeostase ruminal e para a continuidade da fermentação realizada por comunidades microbianas altamente interdependentes. É justamente essa simbiose que permite aos ruminantes converter alimentos fibrosos, de baixo valor nutricional para humanos, em produtos de elevado valor biológico, como o leite e a carne.

Assim, os aditivos devem ser compreendidos como componentes dentro de um conjunto mais amplo de práticas, incluindo manejo nutricional e de pastagens, bem-estar, genética e outras estratégias de mitigação, que juntas podem contribuir para uma pecuária que não degrada e sim regenera o meio ambiente.

Nesse contexto, os ácidos de lúpulo surgem como um aditivo natural promissor, com potencial para modular rotas fermentativas específicas sem comprometer o consumo de matéria seca ou a produção de leite, conforme observado nos dois ensaios conduzidos. Entretanto, a consolidação do conhecimento sobre o uso desse aditivo exige estudos adicionais envolvendo condições ambientais distintas, diferentes estágios de lactação, variações no manejo alimentar e maior número de animais, a fim de elucidar a amplitude, a consistência e os limites da resposta biológica que pode promover.

Ainda assim, os experimentos realizados permitiram esclarecer efeitos relevantes de um aditivo ainda pouco usado na pecuária leiteira, principalmente em ensaios *in vivo*, demonstrando seu potencial para integrar dietas de vacas leiteiras com impacto positivo sobre a fermentação ruminal. Ao influenciar rotas metabólicas associadas ao aproveitamento dos nutrientes e à eficiência fermentativa, os ácidos de lúpulo podem contribuir de forma complementar em estratégias de redução da

produção de metano entérico e, conseqüentemente, para a melhoria da eficiência ambiental dos sistemas de produção.