

INFLUÊNCIA DE COMPONENTES FENÓLICOS NA
ATIVIDADE DOS MICRORGANISMOS DO RÚMEN*

D.M.S.S. VITTI¹ - A.L. ABDALLA¹

J.C. SILVA FILHO¹

R E S U M O

Em vista da toxicidade de ácidos fenólicos para os microrganismos, experimentos "*in vitro*" foram desenvolvidos para se avaliar o efeito da concentração de ácido tânico na atividade da flora do rúmen. Amostras de conteúdo do rúmen de bovino foram incubadas em meio contendo bicarbonato, glicose e diferentes quantidades de ácido tânico (0, 0,1; 0,4; 0,8 e 1,2 g). 1 μ Ci de ³²P foi adicionado e após 6 horas, a radioatividade incorporada foi medida.

O crescimento dos microrganismos foi afetado pela adição do composto e observou-se uma relação negativa entre a concentração e a atividade microbiana.

INFLUENCE OF PHENOLIC COMPOUNDS ON
RUMEN MICROBIAL ACTIVITY

S U M M A R Y

In view of toxicity of phenolic acids on many microorganisms, an "*in vitro*" experiment was carried out to examine the effect of tannic acid on rumen microbial activity. Rumen content was incubated

*Financiado pela Universidade de São Paulo/USP, Comissão Nacional de Energia Nuclear-CNEN e Agência Internacional de Energia Atômica-IAEA.

¹Seção de Ciências Animais - CENA/USP.

Recebido em 05/03/86
Aprovado em 12/06/86

CENA - BIBLIOTECA

with sodium bicarbonate, glucose and different quantities of tannic acid (0; 0,1; 0,4; 0,8; 1,2 g). 1 μ Ci of 32 P-labelled phosphate was added and after 6 hours the incorporated radioactivity was measured.

Microorganisms growth was affected by addition of tannic acid and it was observed a negative correlation between its concentration and microbial activity.

1. INTRODUÇÃO

Os ácidos fenólicos, são constituintes comuns de forragens para ruminantes e alguns, como o ácido ferúlico e p-cumárico podem representar acima de 2,5% do peso das paredes celulares de gramíneas tropicais (HARTLEY e JONES, 1977; KUWATSUKA e SHINDO, 1973).

Esses compostos são tóxicos às bactérias e protozoários do rúmen (CHESSON *et alii*, 1982; AKIN, 1982) e estudos "*in vitro*" indicam que certas forragens contendo ácidos fenólicos inibem a digestibilidade da celulose. VAREL e JUNG (1984) observaram um decréscimo de 10 a 50% na digestibilidade de celulose de forragens devido à presença desses compostos e um aumento foi observado após a remoção de tais ácidos com álcalis (HARTLEY e JONES, 1977). JUNG e FAHEY (1984) relataram que a digestibilidade da celulose e proteína da alfafa aumentou após a extração de compostos fenólicos.

Os taninos são compostos polifenólicos que formam complexos com proteínas vegetais e enzimas digestivas (SWAIN in SCHULTZ *et alii*, 1981), reduzindo a digestibilidade e atuando como fatores antinutritivos (FEENY, 1969; PRIDHAM, 1963; GOLDSTEIN e SWAIN, 1965).

Alguns estudos da ação dos microrganismos do rúmen sobre os ácidos fenólicos foram feitos (MARTIN in CHESSON *et alii*, 1982) mas, os efeitos sobre o metabolismo da flora ruminal não foram relatados.

O objetivo do presente trabalho foi examinar o efeito de diferentes concentrações de ácido tânico na atividade da flora do rúmen.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de 32 ml de conteúdo do rúmen de bovino foram incubadas, a 39°C, em meio anaeróbico contendo solução de bicarbonato de sódio (3 g/l), 0,2 g de glucose e 1 μ Ci de 32 P como Na_2HPO_4 . Diferentes concentrações (0, 0,1, 0,4, 0,8 e 1,2 g) de ácido tânico puro foram adicionados aos frascos de incubação.

Após 6 horas, a fermentação foi interrompida com ácido sulfúrico 5M e os microrganismos separados por centrifugação (15.000 rpm - 10 minutos).

Os pelets foram lavados 3 vezes com salina (0,85%) e digeridos com ácido perclórico. A radioatividade foi medida nos sobrenadantes e pelets por efeito Cerenkov.

O teor de fósforo inorgânico no conteúdo centrifugado do rúmen foi determinado e a quantidade de fósforo incorporado calculada com base nos trabalhos de VAN NEVEL e DEMEYER (1973).

O experimento foi repetido 10 vezes, com 2 frascos por tratamento. Para a análise estatística considerou-se 10 blocos com 5 tratamentos em um esquema fatorial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da incorporação de 32 P são mostrados na Tabela 1.

A análise estatística indicou que houve efeito dos tratamentos (1%) e o teste de Tukey revelou que:

- o valor do fósforo incorporado foi significativamente maior para os frascos controles, em que não foi adicionado ácido tânico;

- houve diferenças significativas na incorporação, em relação ao controle, quando foram usadas as concentrações de 0,1 ou 0,4 g do composto. Os resultados entre esses 2 tratamentos não diferiram entre si.

Tabela 1 - Incorporação de ^{32}P (mg) pelos microrganismos do rúmen em meio contendo diferentes concentrações de ácido tânico.

Concentrações de ácido tânico (g)	E x p e r i m e n t o s										Médias
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	0,401	0,336	0,454	0,378	0,250	0,677	0,790	0,839	0,478	0,529	0,513 ^a
0,1	0,234	0,226	0,278	0,218	0,240	0,422	0,544	0,599	0,347	0,311	0,342 ^b
0,4	0,146	0,178	0,177	0,202	0,193	0,458	0,443	0,482	0,369	0,406	0,305 ^{bc}
0,8	0,140	0,137	0,167	0,161	0,180	0,327	0,326	0,271	0,264	0,381	0,235 ^{cd}
1,2	0,113	0,122	0,113	0,154	0,173	0,233	0,280	0,240	0,108	0,304	0,184 ^d

DMS = 0,0933.

a, b, c, d = Médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

- para as concentrações de 0,8 e 1,2 g, os resultados foram estatisticamente significativos em relação ao controle e à concentração de 0,4 g, mas eles não diferiram entre si.

A Figura 1 ilustra a relação entre a incorporação de ^{32}P e a concentração de ácido tânico. Houve uma alta correlação negativa ($r = -0,89$) entre os valores, indicando que à medida que a quantidade de ácido tânico aumenta, a incorporação diminui.

Considerando o significado do teste de incorporação proposto originalmente por VAN NEVEL e DEMEYER (1973), como medida de crescimento celular, pode-se dizer que este foi afetado pela adição de tanino.

Esses resultados concordam com aqueles citados por JUNG e FAHEY (1984), de que o crescimento de bactérias aeróbicas ou anaeróbicas é inibido por componentes fenólicos que causam danos na membrana e lise das células, com a liberação de seus conteúdos.

Um dos aspectos importantes na nutrição de ruminantes, relacionados a esse efeito, reside no fato de que os radicais fenólicos fazem parte da estrutura da lignina e no processo de digestão poderiam ser liberados.

Sabe-se que durante o tratamento físico de resíduos fibrosos usados na alimentação animal, ocorre um aumento de radicais fenólicos livres (CAMPBELL *et alii*, 1973; VITTI, 1984). Este fato também foi observado em certas espécies de gramíneas tratadas com NaOH (HARTLEY e JONES, 1977).

Além disso, a existência de certas espécies de forragens que contêm naturalmente concentrações maiores de taninos (BARRY e DUNCAN, 1984) pode levar os ruminantes a consumir quantidades significativas de fenóis, o que acarretaria em efeitos adversos, como redução no consumo e depressão na digestão das proteínas.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo indicou que a atividade da flora do rúmen foi afetada pela adição de ácido tânico ao meio de incubação, havendo

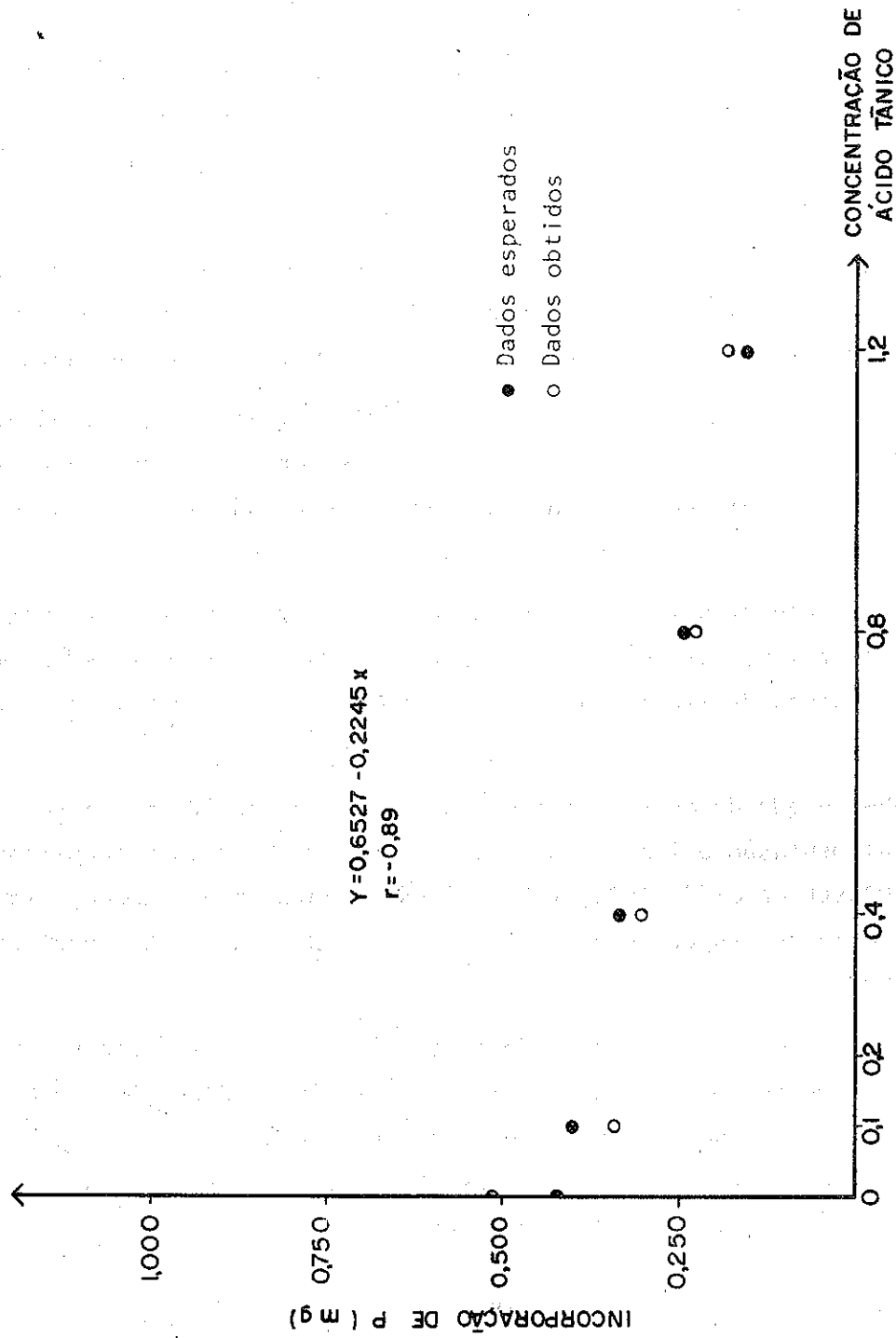


Figura 1 - Relação entre a concentração de ácido tânico e a incorporação de fósforo pelos microorganismos do rúmen.

uma alta correlação negativa ($r = -0,89$) entre a concentração desse composto e o crescimento dos microrganismos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIN, D.E. Forage cell wall degradation and p-coumaric, ferulic and sinapic acids. *Agron. J.*, 74(2):424-428, 1982.
- BARRY, T.N. & DUNCAN, S.J. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. I- Voluntary intake. *Brit. J. Nutrition*, 51(3):485-491, 1984.
- CAMPBELL, L.M.; WAYMAN, O.; STANLEY, R.W.; KAMSTRA, Z.D.; OLBRICH, S.E. HO-A, E.O.; NAKAYAMA, T. Effects of pressure treatment of sugarcane bagasse upon nutrient utilization. *Proc. Western Section American Soc. of Animal Sci.*, 24:178-184, 1973.
- CHESSON, A.; STEWART, L.S.; WALLACE, R.J. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44(3):597-603, 1982.
- FEENY, P.P. Inhibitory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypsin. *Phytochemistry*, 8(11):2119-2126, 1969.
- GOLDSTEIN, J.L. & SWAIN, T. The inhibition of enzymes by tannins. *Phytochemistry*, 4(1):185-192, 1965.
- HARTLEY, R.D. & JONES, E.C. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume species. *Phytochemistry*, 16(10):1531-1534, 1977.
- JUNG, H.G. & FAHEY Jr., G.C. Influence of phenolic acids on forage structural carbohydrate digestion. *Can J. Anim. Sci.*, 64 (Supl.): 50-51, 1984.
- KUWATSUKA, S. & SHINDO, H. Behaviour of phenolic substances in the decaying process of plants. I. Identification and quantitative determination of phenolic acids in rice straw and its decayed products by gas chromatography. *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 19:219-227, 1973.

- SCHULTZ, J.C.; BALDWIN, I.T.; NOTHNAGLE, P.J. Hemoglobin as a binding substrate in the quantitative analysis of plant tannins. *J. Agric. Food*, 29(4):823-826, 1981.
- VAN NEVEL, C.J. & DEMEYER, D.I. Determination of microbial cells synthesis in the rumen "*in vitro*" by measurement of ^{32}P labelled phosphate incorporation. In: ANIMAL MEETING OF THE EUROPEAN SOCIETY OF NUCLEAR METHODS IN AGRICULTURE (ESNA), Loovaim, Belgium, 1973.
- VAREL, V.H. & JUNG, H.G. Influence of forage phenolics on cellulolytic bacteria and "*in vitro*" cellulose degradation. *Can. J. Anim. Sci.*, 64 (Suppl.):39-40, 1984.
- VITTI, D.M.S.S. Tratamento à pressão de vapor do bagaço de cana-de-açúcar. *Energ. Nucl. Agric.*, 6(2):120-133, 1984.
- WILLIAMS, A.H. Enzyme chemistry of phenolic compounds. New York, MacMillan, 1963. 87p.