

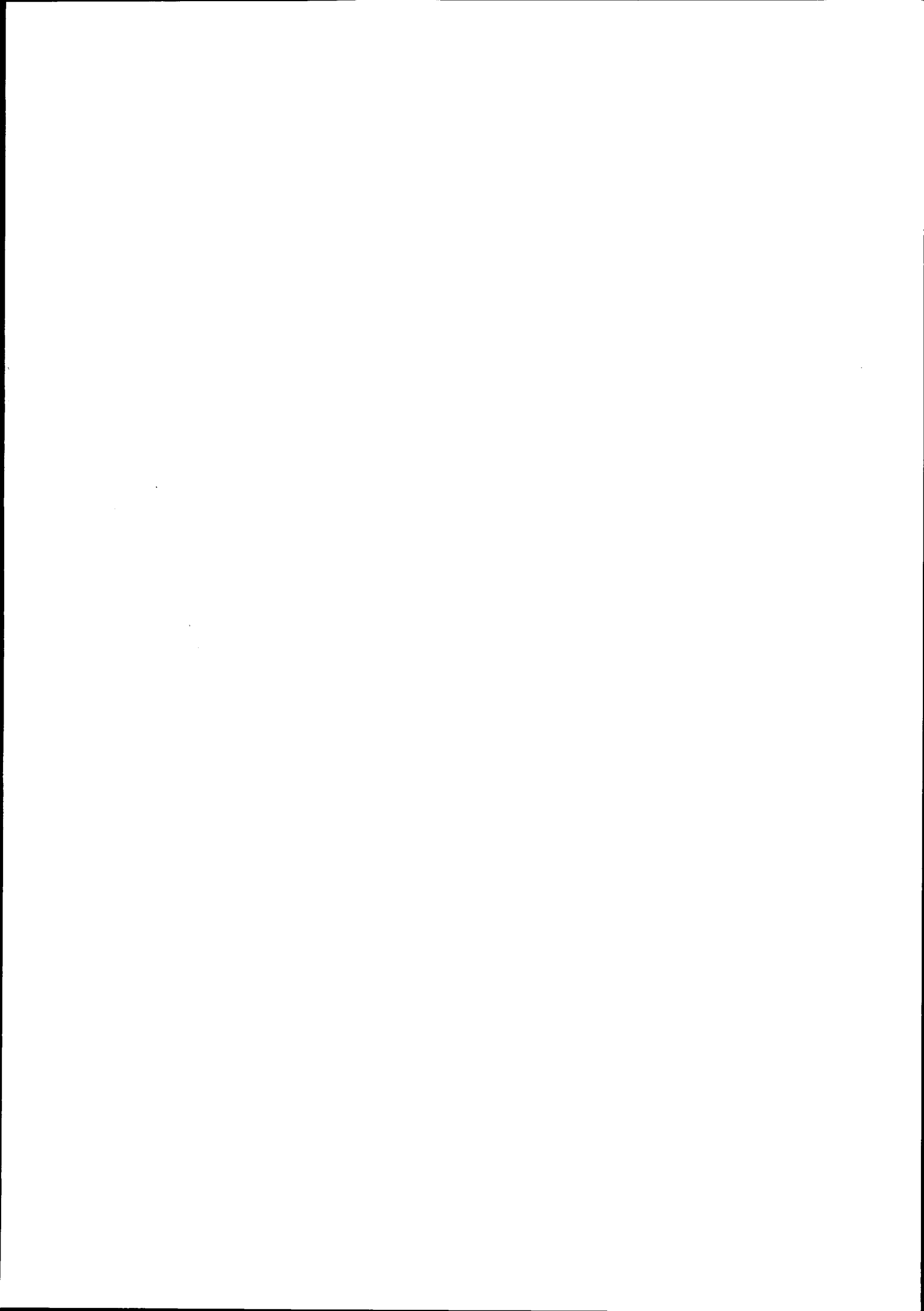
UNIVERSIDADE DE ÉVORA



**CONTRIBUTO PARA O ESTUDO  
DA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS VEGETAIS  
PELO VITELO PRÉ-RUMINANTE:  
SOJA, TREMOÇO, GLÚTEN DE TRIGO E BATATA**

*Paulo Reis Branco Pardal*

1996  
ÉVORA



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

CONTRIBUTO PARA O ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DE  
PROTEÍNAS VEGETAIS PELO VITELÓ PRÉ-RUMINANTE:  
SOJA, TREMOÇO, GLÚTEN DE TRIGO E BATATA

*Paulo Reis Branco Pardal*



82392

1996  
ÉVORA

Dissertação apresentada à Universidade de  
Évora para a obtenção do Grau de Doutor  
em Ciências Agrárias

TRABALHO REALIZADO NO INSTITUT NATIONAL DE LARECHERCHE  
AGRONOMIQUE - CENTRE DE RECHERCHES DE RENNES, SOB A  
ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR DOUTOR ARTUR FIGUEIREDO NUNES

Bolsas de estudo financiadas pela Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica

(Bolsas de estudo BD / 1712 / 91 - IE e Praxis XXI BD / 3308 / 94)

## DECLARAÇÃO

Declaro que esta Tese e o trabalho que lhe deu origem foi por mim realizada e não foi apresentada previamente a qualquer Grau ou Título Académico.

Toda a orientação e colaboração recebidas são registadas.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'P. Pardal', with a stylized, cursive script.

(Paulo Reis Branco Pardal)

# ÍNDICE

	pág.
ÍNDICE DE QUADROS E DE FIGURAS	
AGRADECIMENTOS	
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS UTILIZADOS	
RESUMO	
I. <u>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO</u>	1
II. <u>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	3
II.1. DIGESTÃO DAS MATÉRIAS PROTEICAS PELO VITELo PRÉ-RUMINANTE	3
II.1.1. Caracterização das proteínas do leite	3
II.1.2. Digestão no abomaso	4
II.1.2.1. Secreções digestivas	4
II.1.2.2. Digestão e evacuação gástrica das proteínas do leite	5
II.1.3. Digestão no intestino delgado	8
II.1.3.1. Secreções digestivas	8
II.1.3.1.1. Secreções pancreáticas	8
II.1.3.1.2. Secreções intestinais	9
II.1.3.2. Absorção de proteínas intactas	10
II.2. A UTILIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DE SUBSTITUIÇÃO NA ALIMENTAÇÃO DO VITELo PRÉ-RUMINANTE	11
II.2.1. Caracterização de algumas fontes proteicas vegetais utilizadas nos leites de substituição	12
II.2.1.1. Características físico-químicas	12
II.2.1.1.1. Leguminosas	12
II.2.1.1.2. Glúten de trigo	14
II.2.1.1.3. Batata	15
II.2.1.2. Composição em ácidos aminados	15
II.2.1.3. Factores antinutricionais associados às proteínas vegetais	17
II.2.1.3.1. Métodos de análise	19
II.2.1.3.2. Tratamentos tecnológicos	21
II.2.2. Efeitos da utilização das proteínas vegetais nos leites de substituição	22



II.2.2.1.	Desempenho produtivo dos animais	22
II.2.2.2.	Utilização digestiva e metabólica das proteínas de substituição	24
II.2.2.2.1.	Perfis das proteínas em ácidos aminados	24
II.2.2.2.2.	Digestão das proteínas de substituição	25
II.2.2.2.2.1.	Secreções digestivas	25
II.2.2.2.2.2.	Evacuação gástrica	26
II.2.2.2.2.3.	Taxa circulante de nutrientes	27
II.2.2.2.3.	Efeitos fisiológicos dos factores antinutricionais	29
II.2.2.2.3.1.	Inibidores de proteases	30
II.2.2.2.3.2.	Lectinas	31
II.2.2.2.3.3.	Proteínas antigénicas	32
II.2.2.2.3.3.1.	Etiologia e patogénese da hipersensibilidade alimentar	33
II.2.2.2.3.3.2.	Alterações da capacidade de absorção intestinal	35
II.2.2.2.3.4.	Outros factores antinutricionais	37
II.3.	DIGESTIBILIDADE DAS MATÉRIAS AZOTADAS E ORIGEM DAS FRACÇÕES INDIGERIDAS	38
II.3.1.	Digestibilidade fecal aparente das matérias azotadas	38
II.3.2.	Relações entre as digestibilidades ileal e fecal aparentes	40
II.3.3.	Digestibilidade ileal das matérias azotadas	41
II.3.3.1.	Digestibilidade ileal aparente	41
II.3.3.2.	Composição dos digesta em ácidos aminados e origem das fracções indigeridas	42
II.3.3.3.	Digestibilidade real	45
II.4.	CONCLUSÃO	47
III.	<u>CAPÍTULO III - OBJECTIVOS</u>	61
IV.	<u>CAPÍTULO IV - METODOLOGIA GERAL</u>	64
IV.1.	DIETAS LÍQUIDAS	64
IV.2.	ANIMAIS E ALIMENTAÇÃO	64
IV.3.	INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS	66
IV.4.	MANEIO GERAL DOS ANIMAIS	67
IV.5.	CÁLCULOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	67
V.	<u>CAPÍTULO V - EXPERIÊNCIA 1: AVALIAÇÃO DA</u>	

	PERMEABILIDADE INTESTINAL A DIVERSOS MARCADORES NO VITELO PRÉ-RUMINANTE QUE INGERE PROTEÍNA DE SOJA	70
V.1.	MATERIAIS E MÉTODOS	70
V.1.1.	Dietas experimentais	70
V.1.1.1.	Caracterização das dietas experimentais	70
V.1.1.2.	Preparação e distribuição das dietas experimentais	72
V.1.2.	Animais e alimentação	72
V.1.3.	Parâmetros avaliados	73
V.1.3.1.	Testes de permeabilidade intestinal	73
V.1.3.1.1.	Marcadores utilizados	74
V.1.3.1.2.	Administração dos marcadores	74
V.1.3.1.3.	Colheitas e amostras realizadas	75
V.1.4.	Análises laboratoriais	75
V.1.5.	Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados	75
V.1.5.1.	Relações entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina	76
V.1.5.2.	Efeito das dietas e da idade na excreção e/ou concentração plasmática dos marcadores	77
V.2.	RESULTADOS	77
V.2.1.	Relações entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina	77
V.2.2.	Efeito das dietas e da idade na excreção e/ou concentração plasmática dos marcadores	78
V.3.	DISCUSSÃO DE RESULTADOS	80
V.3.1.	Alguns aspectos relacionados com a excreção de marcadores pelo vitelo pré-ruminante	80
V.3.2.	A excreção de marcadores no vitelo pré-ruminante vs outras espécies	81
V.3.3.	Efeito das dietas na excreção e/ou concentração plasmática dos marcadores	84
V.4.	CONCLUSÕES	86
VI.	<u>CAPÍTULO VI - EXPERIÊNCIA 2: DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS DA SOJA E DO TREMOÇO PELO VITELO PRÉ-</u>	

	RUMINANTE: EVACUAÇÃO GÁSTRICA, DIGESTIBILIDADE E COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS AMINADOS DO DIGESTA ILEAL	101
VI.1.	MATERIAIS E MÉTODOS	101
VI.1.1.	Dietas experimentais	101
VI.1.1.1.	Caracterização das dietas experimentais	101
VI.1.1.2.	Preparação e distribuição das dietas experimentais	102
VI.1.2.	Animais e alimentação	104
VI.1.3.	Parâmetros avaliados	104
VI.1.3.1.	Evacuação gástrica	104
VI.1.3.2.	Determinação das digestibilidades dos alimentos	105
VI.1.3.2.1.	Colocação dos catéteres e das cânulas	105
VI.1.3.2.2.	Colheitas e amostras realizadas	105
VI.1.4.	Análises laboratoriais	106
VI.1.5.	Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados	107
VI.2.	RESULTADOS	109
VI.2.1.	Ingestão alimentar, crescimento e estado de saúde dos animais	109
VI.2.2.	Concentração plasmática de triglicéridos e glucose	110
VI.2.2.1.	Triglicéridos	110
VI.2.2.2.	Glucose	110
VI.2.3.	Digestibilidade dos nutrientes	111
VI.2.4.	Composição em ácidos aminados das fontes proteicas e digesta ileal	112
VI.3.	DISCUSSÃO DE RESULTADOS	114
VI.3.1.	Desempenho produtivo dos animais	114
VI.3.2.	Concentração plasmática de triglicéridos e glucose	115
VI.3.3.	Digestibilidade e composição dos digesta em ácidos aminados	116
VI.4.	CONCLUSÕES	120
VII.	<u>CAPÍTULO VII - EXPERIÊNCIA 3: DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS DO GLÚTEN DE TRIGO E DA BATATA PELO VITELO PRÉ-RUMINANTE: DIGESTIBILIDADE, COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS AMINADOS E PROTEÍNAS IMUNOREACTIVAS NO DIGESTA ILEAL</u>	132
VII.1.	MATERIAIS E MÉTODOS	132

VII.1.1.	Dietas experimentais	132
VII.1.1.1.	Caracterização das dietas experimentais	132
VII.1.1.2.	Preparação e distribuição das dietas experimentais	133
VII.1.2.	Animais e alimentação	134
VII.1.3.	Parâmetros avaliados	134
VII.1.4.	Análises laboratoriais	135
VII.1.5.	Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados	137
VII.2.	<b>RESULTADOS</b>	138
VII.2.1.	Ingestão alimentar, crescimento e estado de saúde dos animais	138
VII.2.2.	Digestibilidade dos nutrientes	138
VII.2.3.	Composição em ácidos aminados das fontes proteicas e digesta ileal	139
VII.2.4.	Proteínas imunoreactivas no digesta ileal	141
VII.3.	<b>DISCUSSÃO DE RESULTADOS</b>	142
VII.3.1.	Desempenho produtivo dos animais	142
VII.3.2.	Digestibilidade e composição dos digesta em ácidos aminados	143
VII.3.3.	Proteínas imunoreactivas	148
VII.4.	<b>CONCLUSÕES</b>	149
VIII.	<b><u>CAPÍTULO VIII - CONCLUSÕES GERAIS</u></b>	164
IX.	<b><u>CAPÍTULO IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u></b>	167
	ANEXO 1 - Experiência 1	
	ANEXO 2 - Experiência 2	
	ANEXO 3 - Experiência 3	

# ÍNDICE DE QUADROS E DE FIGURAS

## Quadros

	pág.	
II.1.	Caracterização das proteínas do leite.	48
II.2.	Evolução, em função da idade, das actividades dos enzimas proteolíticos intervenientes na digestão das matérias azotadas (unidades / kg peso vivo, em % dos valores observados aos 2 dias de vida).	49
II.3.	Composição bioquímica (% da matéria seca) de alguns grãos de leguminosas.	50
II.4.	Massas relativas das principais globulinas da soja e das suas sub-unidades.	51
II.5.	Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA determinados) das principais proteínas da soja e do tremçoço.	52
II.6.	Composição média em ácidos aminados (AA) (% dos AA determinados) das principais proteínas do trigo e de um glúten de trigo experimental.	53
II.7.	Composição média em ácidos aminados (AA) das proteínas da batata e de um concentrado proteico experimental (g / 16 g azoto).	54
II.8.	Composição (g / 16 g de azoto) em alguns ácidos aminados (AA) de algumas leguminosas, do leite de vaca e do músculo do vitelo.	55
II.9.	Modo de acção de alguns factores antinutricionais.	56
II.10.	Valores de referência de 5-6 horas de excreção urinária de açucares marcadores em várias espécies.	57
II.11.	Digestibilidade fecal aparente (Da) de algumas matérias azotadas de substituição no vitelo pré-ruminante (em % do valor observado para o leite; medidas efectuadas depois de um mês de vida).	58
II.12.	Quantidade de ácidos aminados (AA) e de azoto indigeridos, por kg de matéria seca ingerida, com alimentos cujas matérias azotadas foram provenientes de leite em pó desnatado.	59
II.13.	Digestibilidade ileal aparente da dieta (Da, registada) e real da fonte proteica (Dr, estimada) e fluxo ileal de matérias azotadas de origem alimentar (Fa), endógena (Fe) e bacteriana (Fb) no vitelo pré-ruminante.	60
IV.14.	Plano de alimentação dos animais durante o período pré-experimental e experiência 1 (2 refeições / dia).	69
V.15.	Composição química das dietas (% da matéria seca).	88
V.16.	Composição das dietas experimentais.	89
V.17.	Principais resultados de crescimento, digestibilidade, níveis circulantes de anticorpos contra a soja e de alterações da morfologia intestinal obtidos em trabalhos paralelos realizados por outros autores.	90
V.18.	Correlações lineares entre a excreção urinária dos marcadores (y) e o volume de urina (x) obtido, durante um período de 6 horas.	92
V.19.	Correlações lineares entre as taxas de excreção urinária dos diversos	

	marcadores de permeabilidade, durante um período de 6 horas.	93
V.20.	Excreção urinária (média $\pm$ erro padrão da média) de sacarose e D-manitol (% da dose oral) e razão sacarose / D-manitol, durante um período de 6 horas.	94
V.21.	Excreção urinária (média $\pm$ erro padrão da média) de sacarose e D-manitol (% da dose oral) e razão sacarose / D-manitol, durante um período de 6 horas (valores corrigidos para um volume de urina "standard").	97
V.22.	Excreção urinária de Cr-EDTA (% da dose oral; média $\pm$ erro padrão da média; valores corrigidos para um volume de urina "standard").	98
V.23.	Excreção urinária de D-xilose (% da dose oral; média $\pm$ erro padrão da média; valores corrigidos para volume de urina "standard").	99
VI.24.	Composição química das fontes proteicas e dietas (% da matéria seca, partes por milhão para os oligoelementos).	121
VI.25.	Composição das dietas experimentais.	123
VI.26.	Composição de ácidos aminados (AA) das fontes proteicas e dietas (g / 100 g AA).	124
VI.27.	Crescimento, ingestão e eficiência alimentar (média $\pm$ erro padrão da média).	125
VI.28.	Digestibilidades aparentes ileal e fecal (média e erro padrão da média) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), azoto (N), matéria gorda (MG), extractivo não azotado (ENA) e matéria mineral (MM).	127
VI.29.	Digestibilidade aparente ileal (média $\pm$ erro padrão da média) e verdadeira (calculada) dos ácidos aminados.	128
VI.30.	Distâncias de $\chi^2$ entre os digesta ileais e misturas teóricas de proteínas.	130
VI.31.	Quantidade (mg / kg matéria seca ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente indigeridos (média $\pm$ erro padrão da média) e composição da proteína adicional indigerida (% dos AA analisados).	131
VII.32.	Composição química das fontes proteicas e dietas (% da matéria seca, partes por milhão para os oligoelementos).	151
VII.33.	Composição das dietas experimentais (%).	152
VII.34.	Composição de ácidos aminados (AA) das fontes proteicas e dietas (g / 100 g AA).	153
VII.35.	Crescimento, ingestão e eficiência alimentar (média $\pm$ erro padrão da média).	155
VII.36.	Digestibilidades aparentes ileal e fecal (média e erro padrão da média) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), azoto (N), matéria gorda (MG), extractivo não azotado (ENA) e matéria mineral (MM).	156
VII.37.	Digestibilidade aparente ileal (média $\pm$ erro padrão da média) e verdadeira (calculada) dos ácidos aminados.	157
VII.38.	Distâncias de $\chi^2$ entre o digesta ileal e misturas teóricas de proteínas.	159
VII.39.	Distâncias de $\chi^2$ entre o digesta ileal e misturas teóricas de proteínas (prolina e ácido glutâmico excluídos).	160
VII.40.	Quantidade (mg / kg de matéria seca ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente indigeridos (média $\pm$ erro padrão da média) e composição da proteína adicional indigerida (% dos AA determinados).	161

## FIGURAS

		pág.
V.1.	Frequência de distribuição dos valores de excreção urinária dos marcadores (% da dose oral) durante o período 0 a 6 horas de vitelos que receberam dietas baseadas em leite em pó desnatado.	91
V.2.	Quantidade (% da dose oral; média $\pm$ erro padrão da média) de Cr-EDTA excretada durante os períodos 0 a 6 horas (A), 6 a 24 horas (B) e 0 a 24 horas (C) na urina dos vitelos que receberam diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).	95
V.3.	Quantidade (% da dose oral; média $\pm$ erro padrão da média) de D-xilose excretada durante o período 0 a 6 horas na urina dos vitelos que receberam diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).	96
V.4.	Concentração plasmática (média $\pm$ erro padrão da média) de D-xilose durante os períodos P <sub>0</sub> (A), P <sub>1</sub> (B) e P <sub>2</sub> (C) dos vitelos que receberam diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).	100
VI.5.	Electroforese SDS-PAGE dos pesos moleculares "standards" (pista 1), farinha de tremço (pista 2), concentrado de tremço (pista 3), farinha de soja (pista 4), concentrado de soja (pista 5), glicina purificada (pista 6), $\beta$ -conglucina (pista 7) e $\alpha$ -conglucina (pista 8).	122
VI.6.	Efeito das dietas na concentração plasmática pós-prandial de triglicéridos (A) e glucose (B) com os animais que receberam as dietas testemunha, soja e tremço.	126
VI.7.	Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais com as dietas testemunha, soja e tremço.	129
VII.8.	Electroforese SDS-PAGE dos pesos moleculares "standards" (pista 1), concentrado de batata (pista 2), concentrado de batata extraído em SDS (pista 3) e concentrado de glúten de trigo (pista 4).	154
VII.9.	Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais com as dietas testemunha, glúten e batata.	158
VII.10.	Exemplo da análise "dot-blotting" do concentrado de batata e respectivo digesta.	162
VII.11.	Análise "immuno-blotting" da batata nativa (pista 1), do concentrado de batata (pista 2) e respectivos digesta (pista 3,4,5,6 e 7).	163

## ÍNDICE DE QUADROS DOS ANEXOS

		pág.
41.	Idade (d) e peso vivo (kg) dos grupos de animais (média e erro padrão da média).	I
42.	Valores individuais dos volumes de urina (ml) e da quantidade de marcadores (% da dose oral) excretados e de concentração plasmática de D-xilose (g / l).	II
42.1.	Volumes de excreção urinária (ml).	II
42.2.	Excreção urinária de sacarose e de D-manitol (% da dose oral).	III
42.3.	Excreção urinária de Cr-EDTA (% da dose oral).	IV
42.4.	Excreção urinária de D-xilose (% da dose oral).	V
42.5.	Concentração plasmática de D-xilose (g/l).	VI
43.	Análise do efeito das dietas e da idade na excreção urinária dos marcadores.	VII
43.1.	Efeito das dietas.	VII
43.2.	Efeito da idade.	XV
44.	Análise do efeito das dietas na concentração plasmática de D-xilose.	XXII
45.	Excreção urinária (% da dose oral) e/ou concentração plasmática (g / l) dos marcadores (média $\pm$ erro padrão da média).	XXIV
45.1.	Excreção urinária de Cr-EDTA.	XXIV
45.2.	Excreção urinária de D-xilose.	XXIV
45.3.	Concentração plasmática de D-xilose.	XXV
46.	Relações entre o volume de urina e a taxa de excreção de marcadores.	XXV
46.1.	Regressões lineares.	XXV
46.2.	Correlações de Spearman.	XXVII
47.	Relações entre as taxas de excreção de marcadores entre si.	XXXVIII
47.1.	Regressões lineares.	XXXVIII
47.2.	Correlações de Spearman.	XXXI
48.	Regressões entre o volume de urina (log) e a taxa de marcadores excretados.	XXXII
49.	Análise do efeito das dietas e da idade na excreção urinária dos marcadores após correcção (c) para um volume de urina "standard".	XXXVIII
49.1.	Efeito das dietas.	XXXVIII
49.2.	Efeito da idade.	XLII
50.	Relações entre o volume de urina e a taxa de marcadores excretados, após correcção (c) para um volume de urina "standard".	XLVIII
50.1.	Regressões lineares.	XLVIII
50.2.	Correlações de Spearman.	L
51.	Relações entre as taxas de excreção de marcadores entre si, após correcção (c) para um volume de urina "standard".	LI
51.1.	Regressões lineares.	LI
51.2.	Correlações de Spearman.	LIII
52.	Características dos animais do ensaio 1: Idade (d), PV (kg) e GPV	



	(kg/d).	LV
53.	Características dos animais do ensaio 2: Idade (d), PV (kg) e GPV (kg/d).	LV
54.	Valores individuais do GPV (kg / d) dos animais do ensaio 1.	LVI
55.	Análise do efeito das dietas no GPV dos animais.	LVI
56.	Valores individuais da ingestão de MS / GPV dos animais do ensaio 1.	LVI
57.	Análise do efeito das dietas na ingestão de MS / GPV dos animais.	LVI
58.	Valores individuais de excreção fecal (g) dos animais do ensaio 1.	LVII
59.	Análise do efeito das dietas na excreção fecal dos animais.	LVII
60.	Valores individuais da concentração plasmática de triglicéridos (mg / l).	LVIII
61.	Análise do efeito das dietas e do tempo na concentração plasmática de triglicéridos.	LIX
61.1.	Efeito das dietas.	LIX
61.2.	Efeito do tempo.	LXI
62.	Valores individuais da concentração plasmática de glucose (mg / l).	LXII
63.	Análise do efeito das dietas e do tempo na concentração plasmática de glucose.	LXIII
63.1.	Efeito das dietas.	LXIII
63.2.	Efeito do tempo.	LXIV
64.	Concentração plasmática de triglicéridos e glucose (mg / 100 ml) (média e erro padrão da média).	LXV
65.	Valores individuais de digestibilidade aparente da MS, MO, MG, ENA e MM.	LXVI
65.1.	Digestibilidade fecal.	LXVI
65.2.	Digestibilidade ileal.	LXVI
66.	Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos nutrientes.	LXVII
66.1.	Nível fecal.	LXVII
66.2.	Nível ileal.	LXIX
67.	Efeito do nível (fecal ou ileal) na digestibilidade dos nutrientes.	LXXII
68.	Valores individuais de digestibilidade aparente dos ácidos aminados.	LXXVI
69.	Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos ácidos aminados.	LXXVII
70.	Proporções teóricas de proteínas alimentar, endógena e bacteriana que constituem a proteína dos digesta.	LXXXIII
71.	Valores individuais da composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.	LXXXVI
72.	Análise do efeito das dietas na composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.	LXXXVII
73.	Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais (média e erro padrão da média).	XC
74.	Valores individuais da quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.	XCI
75.	Análise do efeito das dietas na quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.	XCII
76.	Características dos animais do ensaio 1: Idade (d), PV (kg) e GPV (kg/d).	XCVII
77.	Características dos animais do ensaio 2: Idade (d), PV (kg) e GPV	

	(kg/d).	XCVII
78.	Valores individuais do GPV (kg / d) dos animais do ensaio 1.	XCVIII
79.	Análise do efeito das dietas no GPV dos animais.	XCVIII
80.	Valores individuais da ingestão de MS / GPV dos animais do ensaio 1.	XCVIII
81.	Análise do efeito das dietas na ingestão de MS / GPV dos animais.	XCVIII
82.	Valores individuais de excreção fecal (g) dos animais do ensaio 1.	XCIX
83.	Análise do efeito das dietas na excreção fecal dos animais.	XCIX
84.	Valores individuais de digestibilidade aparente da MS, MO, MG, ENA e MM.	C
84.1.	Digestibilidade fecal.	C
84.2.	Digestibilidade ileal.	C
85.	Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos nutrientes.	CI
85.1.	Nível fecal.	CI
85.2.	Nível ileal.	CII
86.	Efeito do nível (fecal ou ileal) na digestibilidade dos nutrientes.	CIII
87.	Valores individuais de digestibilidade aparente dos ácidos aminados.	CVII
88.	Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos ácidos aminados.	CVIII
89.	Proporções teóricas de proteínas alimentar, endógena e bacteriana que constituem os digesta ileais.	CXI
90.	Valores individuais da composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.	CXIV
91.	Análise do efeito das dietas na composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.	CXV
92.	Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais (média e erro padrão da média).	CXVIII
93.	Valores individuais da quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.	CXIX
94.	Análise do efeito das dietas na quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.	CXX

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Apolinário Vaz Portugal, na sua qualidade de Director da Estação Zootécnica Nacional, pelo seu empenho e esforços efectuados no sentido que fosse possível a minha deslocação ao Laboratório do Jeune Ruminant para a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Artur Figueiredo Nunes, na sua qualidade de orientador científico, o meu profundo reconhecimento pelo seu apoio ao longo destes últimos anos, pelas sugestões e leitura crítica desta dissertação.

Ao Doutor René Toullec por me ter acolhido no Laboratório do Jeune Ruminant de que é Director e facultado todos os meios materiais necessários que permitiram levar a bom termo este trabalho. Exprimo o meu reconhecimento pela sua competência científica que sempre guiaram e inspiraram os meus trabalhos e pela forma amigável com que sempre me acompanhou.

Ao Doutor Jean-Paul Lallès por toda a orientação e colaboração científicas prestadas. Exprimo o meu reconhecimento pela sua amizade, total disponibilidade e pelo seu inestimável empenho na realização deste trabalho.

Ao Doutor Paul Guilloteau, pela preparação cirúrgica dos animais.

Ao meu colega Hussaini Tukur, Doutorando no Laboratório do Jeune Ruminant, pelos seus conselhos científicos e pela amizade que sempre demonstrou.

À Dr.<sup>a</sup> Jeannine Quillet, Documentalista do Laboratório do Jeune Ruminant, pelo precioso apoio bibliográfico prestado.

Aos técnicos de laboratório do Jeune Ruminant, M. Formal e J. Lareynie, pelo seu valioso apoio e colaboração prestados na execução das análises laboratoriais realizadas e pela amizade de que sempre deram mostras.

Aos Srs. P-M. Lucas, S. BouSSION, Gerard Savary e H. Flageul pela ajuda prestada no manuseio dos animais utilizados nos ensaios.

A todos os outros funcionários do Laboratório do Jeune Ruminant, pela forma amiga com que me acolheram e de alguma forma me apoiaram na realização deste trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Marguritte Beaufile e sua família exprimo o meu reconhecimento pela relação de profunda amizade e simpatia com que me acolheu ao longo de toda a minha estada em França.

Ao Professor Doutor Manuel Domingos da Lage, o meu profundo reconhecimento pelo seu apoio e estímulo ao longo destes anos da minha vida profissional.

À Maria Isabel, minha mulher, por todo o seu apoio e compreensão demonstrada ao longo destes anos de trabalho.

A todos os familiares e pessoas amigas, em particular aos meus irmãos João Pedro e Luís Miguel, à Dr.<sup>a</sup> Maria Eduarda Casal e à D. Manuela de Deus Ferrari, que com a sua indispensável ajuda tornaram possível a minha ausência durante tão longo período de tempo, exprimo o meu reconhecimento.

# ABREVIATURAS E SÍMBOLOS UTILIZADOS

## ABREVIATURAS

AA	- ácido aminado
AC	- anticorpo
ALA	- alanina
ARG	- arginina
ASP	- ácido aspártico
B	- dieta batata
C	- celobiose
Cb	- concentrado de batata
Cgt	- concentrado de glúten de trigo
CIS	- cisteína
Cp	- concentrado proteico
Cr	- Cr-EDTA
Cs	- concentrado de soja
CSNA	- concentrado de soja não antigénico
Ctr	- concentrado de tremço
Cv	- coeficiente de variação
D	- digesta
Da	- digestibilidade aparente
Dec	- declive
Df <sub>a</sub>	- digestibilidade fecal aparente
Di <sub>a</sub>	- digestibilidade ileal aparente
dN	- digestibilidade aparente do azoto
Dr	- digestibilidade real
Dt	- digesta testemunha
E	- proteína endógena
ENA	- extractivo não azotado
F <sub>a</sub>	- fluxo ileal de matérias azotadas de origem alimentar
FAN	- factor antinutricional
F <sub>b</sub>	- fluxo ileal de matérias azotadas de origem bacteriana
F <sub>e</sub>	- fluxo ileal de matérias azotadas de origem endógena
FEN	- fenilalanina
Fi <sub>B</sub>	- fluxo ileal bacteriano
FSA	- farinha de soja antigénica
G	- dieta glúten
G.L.	- graus de liberdade
GLI	- glicina
Gli	- gliadinas totais
Gli e	- gliadinas de elevado peso molecular
GLU	- ácido glutâmico
Glu	- gluteninas
Glu p	- gluteninas purificadas
GPV	- ganho de peso vivo
HIS	- histidina
Hm	- hematócrito

Ig	- imunoglobulina
ILE	- isoleucina
I.N.R.A.	- Institut National de la Recherche Agronomique
Interc	- intercepção
IPSHE	- isolado de proteína de soja hidrolisado experimental
L	- lactulose
LEU	- leucina
LIS	- lisina
LPD	- leite em pó desnatado
Ma	- D-manitol
MET	- metionina
MG	- matéria gorda
MM	- matéria mineral
MO	- matéria orgânica
MPEB	- mistura de proteínas endógenas e bacterianas
Mr	- Massa realativa
MS	- matéria seca
n	- número de observações
NAA	- azoto dos ácidos aminados
NC	- nitrocelulose
ND	- não determinado
NI	- não indicado
P	- período
p	- peso
PB	- proteína bruta
Pb	- proteína da batata
PBS	- solução tampão fosfato
Pgt	- proteínas do glúten de trigo
PRO	- prolina
PV	- peso vivo
Q.M.	- quadrado médio
r	- coeficiente de correlação
Ra	- ramanose
T	- dieta testemunha
t	- tempo
TIR	- tirosina
Tr	- dieta tremoço
TRI	- trionina
TS	- taxa de substituição
S	- dieta soja
Sa	- sacarose
SER	- serina
S.Q.	- soma dos quadrados
TPF	- triptofano
UIT	- unidades de inibidor de tripsína
v	- volume
VA	- vilosidades anormais
VAL	- valina
VN	- vilosidades normais
vs	- <i>versus</i>
Xi	- D-xilose

## SÍMBOLOS

$\mu\text{l}$	- microlitro
%	- percentagem
B	- boro
C	- carbono
$^{\circ}\text{C}$	- grau centígrado
Ca	- cálcio
Cl	- cloro
Cu	- cobre
Fe	- ferro
g	- grama
H	- hidrogénio
K	- potássio
kg	- quilograma
l	- litro
log	- logaritmo
<i>M</i>	- molar
m	- metro
mM	- milimolar
Mn	- manganês
Mg	- magnésio
mg	- miligrama
ml	- mililitro
N	- azoto
<i>N</i>	- normal
Na	- sódio
O	- oxigénio
P	- fósforo
Zn	- zinco
$\chi^2$	- qui quadrado
#	- cardinal
$\sqrt{\quad}$	- raiz quadrada
$\Sigma$	- soma
>	- maior que
$\geq$	- maior ou igual que
<	- menor que
$\leq$	- menor ou igual que
$\pm$	- mais ou menos

## RESUMO

O trabalho apresentado aborda o problema da utilização de proteínas de origem vegetal como alternativa às de origem láctea, em leites de substituição para vitelos. Estudaram-se aspectos relacionados com a excreção de marcadores utilizados para avaliação de alterações da permeabilidade intestinal e/ou da utilização digestiva dos constituintes do alimento a diferentes níveis do tracto digestivo. Para o referido estudo realizaram-se três experiências.

Na primeira experiência avaliou-se a permeabilidade intestinal, a vários marcadores, em 28 vitelos pré-ruminantes e em três períodos distintos. Os animais, distribuídos por quatro grupos experimentais, receberam diferentes leites de substituição incorporando como fontes proteicas leite em pó desnatado (dieta testemunha) ou lactosoro e produtos de soja (71% do total da proteína) diferindo entre si pela sua actividade antigénica (dieta isolado de soja experimental, concentrado de soja de baixa actividade antigénica e farinha de soja antigénica). No período pré-experimental, a excreção média do D-manitol, da sacarose e do Cr-EDTA representou, respectivamente, 2,78, 3,05 e 2,22% da dose oral. Pelo contrário, a excreção de D-xilose foi 10 vezes superior (25,7% da dose oral) e apresentou um tipo frequência de distribuição "skewly". A excreção urinária de todos os marcadores apresentou uma elevada correlação com o volume de urina excretado. Assim, para as comparações das excreções urinárias entre marcadores e avaliação do efeito da dieta, determinou-se uma fórmula de correcção, utilizando-se para tal um volume de urina "standard". Os valores corrigidos da excreção de D-manitol, de sacarose e de Cr-EDTA apresentaram uma elevada correlação entre si, assim como também a razão de excreção sacarose / D-manitol e Cr-EDTA / D-manitol. Pelo contrário, a D-xilose foi excretada na urina independentemente dos outros marcadores testados. Considerando os três períodos de avaliação da permeabilidade intestinal, a excreção urinária de sacarose e de D-manitol, durante um período de 6 horas, variou entre 1 e 3% da dose oral independentemente das dietas ou idade dos animais. A excreção de Cr-EDTA foi em média de 2 e 4% da dose oral após 6 e 24 horas de recolha de urinas, respectivamente. A excreção de Cr-EDTA, durante o período de 24 horas, foi diminuída transitoriamente, duas semanas após o início do ensaio, nos animais que receberam a dieta farinha de soja antigénica, em relação aos que receberam a dieta testemunha (2,9 vs 6,0%,  $p \leq 0,05$ ). O mesmo foi observado em relação à excreção urinária de D-xilose com as dietas baseadas no concentrado de soja de baixa antigenicidade e na farinha de soja antigénica (respectivamente, 19 e 16 vs 33,8%,  $p \leq 0,05$ ). No que concerne à concentração plasmática deste açúcar, embora não se tenham registado efeitos significativos da idade ou das dietas ( $0,15 \leq p \leq 0,84$ ), observou-se uma depressão considerável da



concentração de D-xilose 2,5 horas após a sua administração, nos animais que receberam as dietas baseadas nos produtos de soja. Concluiu-se que os marcadores utilizados no presente trabalho são apropriados para avaliação da permeabilidade intestinal no vitelo pré-ruminante apesar das taxas de excreção terem diferido entre marcadores. Alterações da permeabilidade intestinal, em resposta à proteína de soja antigénica, foram de fraca magnitude e transitórias e detectadas apenas quando da utilização do Cr-EDTA e da D-xilose como marcadores. Finalmente, no vitelo pré-ruminante, a excreção urinária dos marcadores utilizados na presente experiência, difere substancialmente do observado em outras espécies.

Na segunda experiência ofereceram-se sucessivamente, a vitelos pré-ruminantes, intactos ou munidos de uma cânula íleo-cecal, três leites de substituição nos quais a proteína foi proveniente exclusivamente de leite em pó desnatado (dieta testemunha) ou maioritariamente (71%) de um concentrado comercial de soja ou de tremoço (dietas soja e tremoço, respectivamente). Os testes *in vitro* mostraram que ambos os concentrados proteicos foram parcialmente proteolisados e apresentaram baixas actividades antigénica e antitripsínica. O nível plasmático de triglicéridos pós-prandial foi superior com ambas as dietas de leguminosas sugerindo uma mais rápida evacuação gástrica das matérias gordas e provavelmente da proteína. A digestibilidade aparente fecal do azoto foi inferior ( $p \leq 0,05$ ) com as dietas soja e tremoço em relação à dieta testemunha (0,86, 0,88 e 0,95, respectivamente). Ao nível ileal, as diferenças observadas foram menores e já não significativas (0,90, 0,88 e 0,92) para o azoto, mas permanecendo ainda significativas para a valina e tirosina com a dieta soja, e para a prolina, valina, metionina, leucina e lisina com a dieta tremoço. No entanto, as diferenças em relação à dieta testemunha foram pequenas. Em conclusão, a desnaturação das proteínas da soja e do tremoço por processos como a sua hidrólise parcial permitem suprimir as suas actividades antigénicas e torna-las muito digestíveis.

Finalmente, na terceira experiência ofereceram-se sucessivamente, a vitelos pré-ruminantes, intactos ou munidos de uma cânula íleo-cecal, três leites de substituição nos quais a proteína foi proveniente exclusivamente de leite em pó desnatado (dieta testemunha) ou parcialmente (52%) substituída pela de um concentrado proteico de glúten de trigo nativo ou de batata (dietas glúten e batata, respectivamente). A digestibilidade aparente fecal do azoto foi inferior ( $p \leq 0,05$ ) com a dieta batata em comparação com as dietas glúten e testemunha (0,90, 0,93 e 0,95, respectivamente). O mesmo foi observado ao nível ileal (0,83, 0,87 e 0,91, respectivamente). A digestibilidade aparente da maioria dos ácidos aminados foi inferior com a dieta batata em comparação com a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$  com o ácido glutâmico, prolina, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e lisina). O mesmo foi observado com a dieta glúten, mas apenas com diferenças significativas para a

lisina. A digestibilidade aparente do ácido glutâmico e da cisteína foram ainda inferiores ( $p \leq 0,05$ ) com a dieta batata, em comparação com a dieta glúten. Foram detectadas, por análise imunoquímica, fracções proteicas de massas relativas de 43 000 e inferiores a 14 000 no digesta ileal correspondente à dieta batata, mas nenhuma imunoreactividade foi detectada no digesta da dieta glúten. No entanto, o considerável enriquecimento do digesta em ácido glutâmico e prolina com a dieta glúten indica que fracções proteicas alimentares ricas nestes dois ácidos aminados escaparam à digestão do intestino delgado. Com a dieta batata, as fracções indigeridas apresentaram níveis elevados de ácido aspártico, ácido glutâmico e cisteína.

## CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

A produção industrial de alimentos de aleitamento começou na Europa em 1957-58. Os primeiros alimentos eram essencialmente constituídos por leite no qual as matérias gordas (MG) eram substituídas por fontes de energia de menor custo (lipídios de substituição e produtos amiláceos). Estes produtos, resultantes da manipulação da fracção energética do leite, revelaram-se satisfatórios. A etapa seguinte, que consistiu em diversificar as fontes proteicas, revelou-se mais delicada.

A aplicação da política de quotas leiteiras levou a uma redução drástica da quantidade de leite em pó desnatado (LPD) disponível no mercado para o fabrico de leites de substituição e a fortes flutuações do seu preço. A partir de 1988, com o desaparecimento dos "stocks" da União Europeia, o subsídio pago aos produtores de leites de substituição deixou de estar sujeito a uma taxa mínima de incorporação de 60% de proteína láctea nos seus alimentos de aleitamento. A menor disponibilidade desta matéria prima tornou indispensável a diversificação das fontes proteicas utilizáveis nos alimentos de aleitamento e relançou mesmo as pesquisas empresariais sobre os lactosubstitutos.

O actual valor económico da proteína láctea justifica certamente o seu uso em aplicações mais nobres. Consequentemente, as pesquisas actuais na área animal interessam-se particularmente pela substituição da proteína láctea por fontes proteicas alternativas, de origem vegetal ou mesmo animal, de menor valor comercial. Face ao exposto, afigura-se interessante explorar a possibilidade técnica de dispor de um "pool" de diversas fontes proteicas e por outro lado encontrar soluções alternativas (proteínas de substituição) que permitam diminuir o custo dos alimentos de aleitamento. Este interesse assume particular importância nos sistemas de produção de vitelos para produção de carne cujas dietas são constituídas exclusivamente por leites de substituição até uma fase tardia do seu desenvolvimento.

Neste contexto julgou-se pertinente estudar o efeito da utilização de proteínas vegetais, como fontes alternativas à proteína de origem láctea nos leites de substituição, sobre a fisiologia digestiva do vitelo pré-ruminante.

## CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O vitelo pré-ruminante recebe obrigatoriamente na sua alimentação leite inteiro ou leites de substituição preparados a partir de alimentos apropriados. Graças ao fenómeno do fecho da goteira esofágica estes alimentos escapam à digestão do rúmen e passam directamente ao abomaso onde são digeridos segundo os mecanismos de um monogástrico. No abomaso, o leite coagula rapidamente retardando-se a libertação das caseínas e lipidos, que são retidos no coágulo, em relação aos constituintes hidrosolúveis que são rapidamente expulsos. No abomaso ocorre igualmente a desnaturação das proteínas e a hidrólise parcial destas e dos lipidos. Os glúcidos não são notoriamente modificados naquele órgão.

### II.1. DIGESTÃO DAS MATÉRIAS PROTEICAS PELO VITELO PRÉ-RUMINANTE

A digestão das matérias azotadas concerne não somente às de origem alimentar, mas também às de origem endógena (secreções digestivas e descamação).

#### II.1.1. Caracterização das proteínas do leite

As proteínas do leite podem ser classificadas em dois grupos: as caseínas e as proteínas do lactosoro. As caseínas são as principais proteínas do leite, já que representam 80% da componente proteica do leite. As caseínas são fosfoproteínas que compreendem quatro grupos:  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  e  $\kappa$  (Quadro II.1); as suas proporções são respectivamente de 38, 11, 38 e 13 % (Davies e Law 1977).

O lactosoro contém as proteínas solúveis que não coagulam. Estas podem ser classificadas em cinco grupos principais. A  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactalbumina constituem respectivamente 50 e 20% das proteínas do lactosoro (Malige 1982) (Quadro II.1). As

imunoglobulinas (Ig), a albumina bovina sérica e os peptídeos provenientes da degradação da caseína  $\beta$ , representam 25% da composição do lactosoro. Os peptídeos provenientes da degradação da caseína  $\beta$  resultam da degradação desta por acção da plasmina, enzima naturalmente presente no leite (Kaminogawa e Yamauchi 1972). Finalmente, podem ainda mencionar-se outras proteínas, tais como a lactoferrina que, no entanto, estão presentes em pequenas quantidades.

## **II.1.2. Digestão no abomaso**

### **II.1.2.1. Secreções digestivas**

Como a saliva é desprovida de enzimas proteolíticos (Sissons 1981) a digestão das matérias azotadas inicia-se no abomaso sob acção das proteases gástricas. O abomaso secreta 3 endopeptidases principais, a quimosina e as pepsinas A e B. Estes enzimas são secretados sob a forma de zimogénos inactivos e a activação tem lugar mediante uma hidrólise limitada que liberta uma fracção N-terminal da cadeia peptídica (Rérat e Corring 1991). Este processo, iniciado pelo ácido clorídrico (HCl) é muito rápido a pH 2, prosseguindo mais lentamente a pH 4 (cerca de 20 minutos após a refeição), onde se torna autocatalítico.

A secreção de ácido clorídrico aumenta entre o nascimento e as 4 semanas (Hill 1956, Ternouth *et al.* 1976). No entanto, a quantidade de iões  $H^+$  secretados por kg de peso vivo (PV) numa "golfada" gástrica varia pouco com a idade do vitelo (Guilloteau *et al.* 1980). A quantidade de pepsina presente na mucosa gástrica, por kg PV, não varia significativamente com a idade do vitelo pré-ruminante (Quadro II.2), mas a de quimosina, é máxima aos 2 dias de vida, momento a partir do qual diminui (Guilloteau *et al.* 1984, Le Huërou-Luron *et al.* 1992). A actividade coagulante total parece, no entanto, ser sempre suficiente para coagular rapidamente a totalidade do leite, pelo menos até aos 5 meses de vida do vitelo pré-ruminante (Lallès e Toullec 1991). A quimosina tem uma actividade coagulante 2 a 3 vezes mais elevada que a da pepsina A (Martin *et al.* 1981). A pepsina B

tem actividades coagulante e proteolítica mais fracas que as da pepsina A (Martin *et al.* 1982) mas representa apenas, em média, 5% da soma das pepsinas (Vallés 1980). O pH óptimo de acção para a proteólise é de 3,5 para a quimosina e de 2,1 para a pepsina (Henschel 1973).

As secreções digestivas podem ser influenciadas pelo regime alimentar: modo de distribuição do alimento, processamento tecnológico do leite, natureza das proteínas, desmame... (Toullec *et al.* 1983). Assim, a quantidade de suco gástrico secretado aumenta após a refeição (Hill *et al.* 1970, Williams *et al.* 1976, Guilloteau e Toullec 1983), até à primeira hora pós-prandial (Ash 1964) e diminui durante as 5 horas que se seguem ao pico da secreção (Williams *et al.* 1976, Guilloteau e Toullec 1983). A quantidade de suco gástrico é ainda maior quando o leite é bebido à tetina, tomando como referência o consumo em balde (Ternouth e Roy 1973), e quando a componente gorda do leite é reduzida (Ternouth *et al.* 1975). As quantidades de ácido e de proteases secretadas aumentam com a quantidade de leite ingerido (Ash 1964), mas diminuem quando o leite é submetido a um tratamento térmico excessivo (Williams *et al.* 1976).

#### **II.1.2.2. Digestão e evacuação gástrica das proteínas do leite**

As caseínas coagulam no abomaso 3 a 4 minutos após a ingestão da refeição sob a acção das pepsinas e sobretudo da quimosina. A coagulação resulta da rápida ruptura, em meio ácido, da ligação fenilalanina-metionina situada entre as posições 105-106 da cadeia polipeptídica da caseína  $\kappa$  (Ribadeau-Dumas 1979). Esta hidrólise leva à formação do paracaseinato  $\kappa$  (fragmento insolúvel) e de um glicopeptido solúvel, o caseínomacropéptido (Alais 1984). A hidrólise da caseína  $\kappa$  é seguida da agregação das micelas de caseínas para formar o coágulo. As caseínas interagem entre si e com os iões ou sais (fosfato de cálcio em particular) para formar os complexos micelares. A integridade da caseína  $\kappa$  é indispensável para a estabilidade deste edifício micelar (Cheftel *et al.* 1985).

A eficácia da coagulação é de particular importância para o vitelo com menos de 2 a 3 semanas de vida cuja produção de enzimas proteolíticos e lipolíticos, ao nível intestinal, é

insuficiente para assegurar a hidrólise das proteínas e lipídios, e cujo fluxo não digerido poderá favorecer a proliferação de bactérias (Stobo e Roy 1978). A formação e a degradação ulterior do coágulo no abomaso é um processo que garante o fluxo diferencial de nutrientes para a área de absorção intestinal. O coágulo contrai-se expulsando a água e as substâncias hidrosolúveis. Assim, a lactose, as proteínas séricas, o caseínomacropeptido e a maioria dos minerais (com excepção do cálcio e do fósforo) abandonam o abomaso muito mais rapidamente que as caseínas e os lipídios, que são retidos no coágulo e libertados à medida que decorre a degradação deste (Toullec *et al.* 1983), permitindo-lhes um aproveitamento mais eficaz. Assim, as quantidades de lactose, de matéria mineral (MM), de proteínas e de lipídios que atingem o duodeno no decurso das primeiras 6 horas pós-prandiais representam respectivamente 80, 80, 55 e 47% das quantidades ingeridas (Toullec *et al.* 1971, 1983).

As caseínas, contrariamente às proteínas séricas, são fortemente degradadas antes de abandonar o abomaso. Assim, o digesta que atinge o duodeno não contém caseínas, na sua forma intacta, depois dos primeiros 10 minutos pós-prandiais (Yvon *et al.* 1986, Scanff *et al.* 1990). Esta hidrólise, tem lugar sob a acção da quimosina e da pepsina. A actividade da pepsina aumenta ao longo do tempo graças à diminuição progressiva do pH. Imediatamente após a refeição, o pH da fase líquida que envolve o coágulo eleva-se frequentemente (4,5 a 6,2) devido principalmente à excelente capacidade tampão do leite, mas à medida que o lactosoro é drenado para o duodeno e mais ácido gástrico é adicionado, o pH diminui (2,0 a 2,8, depois de 4 horas) (Mylrea 1966) aproximando-se do valor óptimo para a proteólise pela pepsina e quimosina. A lactoferrina, a  $\alpha$ -lactalbumina e a  $\beta$ -lactoglobulina encontram-se presentes sob a forma imunoreactiva no digesta duodenal do vitelo durante respectivamente 1h30, 2h30 e 7h (Yvon *et al.* 1984, Scanff *et al.* 1991). As quantidades de lactoferrina e  $\beta$ -lactoglobulina pouco ou não degradadas correspondem em média a 22 e 74% das quantidades ingeridas, respectivamente. A quantidade da  $\alpha$ -lactalbumina não foi determinada, mas esta é provavelmente intermédia em relação às duas precedentes. Quantidades importantes de Ig (Yvon *et al.* 1993) e de outras proteínas séricas (revisito por



Reiter 1978, Koldovsky 1989) encontram-se igualmente no duodeno sob forma não degradada. As proteínas séricas são assim bastante menos hidrolisadas no abomaso que as caseínas.

A ingestão de uma refeição de leite provoca no vitelo pré-ruminante uma elevação imediata e transitória da evacuação gástrica, seguida de uma diminuição gradual durante um período de 5 a 6 horas (Mylrea 1966, Smith e Sissons 1975, Guilloteau *et al.* 1975, 1979, Pélissier *et al.* 1983). A alteração ou a supressão da coagulação do leite, por exemplo por um tratamento térmico excessivo, são responsáveis por uma aceleração da velocidade de evacuação gástrica e pela diminuição da extensão da hidrólise das caseínas (e dos lípidos) no abomaso (Ternouth *et al.* 1974). Por exemplo, após a ingestão de leite inteiro tratado termicamente a 80-85°C, durante 30 minutos, 84% das proteínas marcadas abandonam o abomaso em 12 horas em comparação com 53% no caso do leite que não sofreu tratamento térmico (Ternouth *et al.* 1974). Os mesmos autores compararam dois regimes alimentares, com leites submetidos a tratamentos térmicos elevados (74°C durante 30 minutos) e moderados (77°C durante 15 segundos). No primeiro caso os autores encontraram uma fracção mais elevada de proteína verdadeira no abomaso (55% vs 38% no decurso das primeiras 6 horas e 30 minutos pós-prandiais). Mais recentemente, foi demonstrado que um tratamento térmico do leite a 95°C durante 45 segundos provocou um prolongamento do tempo de coagulação e de detecção das caseínas intactas ao duodeno de 10 para 30 minutos após a refeição (Scanff *et al.* 1990). Nestas condições, a  $\beta$ -lactoglobulina forma complexos com as caseínas e a sua evacuação gástrica é retardada; assim, no decurso das primeiras 7 horas pós-prandiais, apenas 40% da quantidade de  $\beta$ -lactoglobulina ingerida abandona o abomaso sob a forma imunoreactiva, em vez de 74% como observado com o leite não processado (Scanff *et al.* 1991, 1992). A lactoferrina é totalmente desnaturada pelo tratamento térmico (Lallès e Toullec 1991). Globalmente, a evacuação gástrica das matérias azotadas (totais e sobretudo proteicas) é apenas ligeiramente acelerada (Scanff *et al.* 1990, 1991). A evacuação das caseínas é notoriamente acelerada enquanto que a das proteínas

séricas é, pelo contrário, consideravelmente retardada. A degradação das caseínas é reduzida já que a fracção não proteica representa apenas 23% da quantidade total evacuada ao fim de 7 horas, em lugar de 30, enquanto que a degradação das proteínas séricas permanece fraca (Lallès e Toullec 1991).

### **II.1.3. Digestão no intestino delgado**

Após uma fase de pré-digestão gástrica, a digestão e absorção dos produtos da hidrólise têm lugar essencialmente ao nível do intestino delgado.

#### **II.1.3.1. Secreções digestivas (revisito por Rérat e Corring 1991)**

A digestão das matérias azotadas ao nível do intestino delgado está a cargo das proteases secretadas pelo pâncreas e intestino.

##### **II.1.3.1.1 Secreções pancreáticas**

A tripsina, a quimotripsina e a elastase são as três principais endopeptidases secretadas pelo pâncreas. A tripsina é secretada sob a forma de tripsinogéneo cuja activação se faz por acção da enteroquinase, secretada pela mucosa intestinal, por ruptura de um peptido N-terminal de 6 a 7 ácidos aminados (AA). A tripsina activa as formas zimogéneas de outros enzimas (proquimotripsinogéneo, proelastase, procarboxipeptidases...) em formas activas. A quimotripsina existe no vitelo sob duas formas: a quimotripsina A e B provenientes de dois precursores diferentes. As principais exopeptidases secretadas pelo pâncreas são as carboxipeptidases A e B. São também secretadas na sua forma inactiva, procarboxipeptidases A e B, e activadas pela tripsina na presença do zinco. As exopeptidases libertam os AA mediante a ruptura da extremidade C-terminal dos peptidos resultantes da acção das endopeptidases.

O pH óptimo para a actividade dos enzimas pancreáticos está compreendido entre 7,5 e 8. A actividade da maior parte dos enzimas secretados pelo pâncreas intervenientes na

digestão das matérias azotadas é mínima após o nascimento, aumentando seguidamente até aos 2 meses (Quadro II.2). Estudos anteriores demonstraram igualmente que a quantidade de proteases pancreáticas secretadas por litro de leite ingerido aumentou até às 10 semanas de vida dos animais (Ternouth *et al.* 1976). A quantidade de proteases secretadas (em particular a quimotripsina), por litro de leite ingerido, diminuiu de 33% quando o leite foi submetido a um tratamento térmico excessivo (Ternouth e Roy 1973). A secreção pancreática não parece variar após a refeição no vitelo com menos de 7 dias de vida, mas a partir dos 24 dias, a secreção máxima observa-se 2 horas após a refeição, seguindo-se um segundo pico entre as 6 e as 10 horas que se seguem à refeição (Ternouth *et al.* 1976).

Por analogia com os fenómenos que foram postos em evidência em diversas espécies de mamíferos podemos admitir que a acção do suco pancreático sobre os prótidos que abandonam o abomaso leva à formação de uma mistura que compreende em média 70% de pequenos peptidos (2 a 6 AA) e 30% de AA livres, no lúmen intestinal. A digestão intraluminal é assim incompleta. Esta é ainda desigual segundo a natureza dos AA.

#### **II.1.3.1.2. Secreções intestinais**

A hidrólise dos di- tri- e oligopeptidos prossegue por acção das peptidases presentes na membrana dos enterocitos e que incluem uma endopeptidase, as aminopeptidases, a dipeptidilpeptidase IV e uma ou várias carboxipeptidases. A evolução das actividades peptidásicas do intestino delgado em função da idade e do estado fisiológico tem sido pouco estudada. Sabe-se, no entanto, que as actividades das aminopeptidases A e N são máximas aos 2 dias de vida, diminuindo brutalmente até aos 7 dias e evoluindo pouco seguidamente (Le Huërou-Luron *et al.* 1992) (Quadro II.2). Sob acção dos enzimas intestinais os oligopeptidos são completamente transformados em tri- e dipeptidos e em AA livres. Em média, 60% dos tripeptidos e 10% dos dipeptidos são igualmente hidrolisados a este nível. Os peptidos restantes penetram no citoplasma onde são hidrolisados sob acção de uma aminotripeptidase e de uma série de aminopeptidases. Os AA livres são geralmente considerados como sendo a principal forma de passagem no sangue mesentérico. No

entanto, uma parte dos di- e tripeptidos encontram-se no sangue, mas os resultados sobre a amplitude deste fenômeno são pouco numerosos (revisto por Webb *et al.* 1992, 1993).

### **II.1.3.2. Absorção de proteínas intactas**

Apesar do processo de digestão, algumas macromoléculas podem atravessar o lúmen intestinal sob forma pouco ou não degradada, e serem absorvidas. A importância da ingestão do colostro pelo ruminante recém-nascido para a aquisição de imunidade passiva contra os agentes patogênicos é bem conhecida. Durante as primeiras 36 a 48 horas que se seguem ao nascimento as Ig colostrais atravessam a parede intestinal na sua forma intacta (revisto por Bush e Staley 1980). Esta permeabilidade é contudo transitória. Durante a "impermeabilização" do intestino as células "absorventes" do intestino delgado são gradualmente substituídas por células "maturas", que durante alguns dias, conservam uma capacidade limitada para absorver as proteínas, mas que são incapazes de as transferir para os capilares linfáticos. Depois dos 16 dias de idade, em média, a aptidão das células para a absorção de proteínas não degradadas é muito fraca e a "impermeabilidade" do intestino às macromoléculas é então considerada praticamente como completa (Jeffcott 1972).

O vitelo recém-nascido apresenta uma proteinúria transitória após a ingestão do colostro. A maior parte das proteínas assim excretadas na urina são fragmentos de Ig colostrais (Mc Carthy e Mc Dougall 1953), mas de  $\beta$ -lactoglobulina estão igualmente presentes (Deutsch e Smith 1957, Pierce 1960). Esta observação demonstra que outras proteínas não degradadas que não as Ig são absorvidas pelo vitelo recém-nascido. Assim, a taxa circulante de  $\beta$ -lactoglobulina aumenta depois da primeira refeição de colostro, após a qual diminui rapidamente. A partir de 2 a 4 semanas de idade do animal, a referida taxa não é superior a 4 a 20  $\mu\text{g} / \text{l}$  de plasma, sendo de 20 a 25  $\text{mg} / \text{l}$  8 horas após a primeira refeição (Geraldo dos Santos, Nunes do Prado, Grongnet e Toullec, resultados não publicados). Torna-se assim clara a "impermeabilização" do tubo digestivo do vitelo às proteínas alimentares, depois das 2 a 4 semanas de idade.

No entanto, este bloqueio não é total, pois constata-se que pequenas quantidades de macromoléculas intactas continuam a atravessar a barreira intestinal sob forma pouco ou nada degradadas, e serem responsáveis pela estimulação crónica dos tecidos linfóides do tracto digestivo. As quantidades absorvidas, embora insignificantes do ponto de vista nutricional, podem exercer um papel imunológico importante (Cornell *et al.* 1971, Walker *et al.* 1975, Warshaw *et al.* 1974). Os antígenos absorvidos desta forma representam até 2% das proteínas ingeridas e as consequências imunológicas desta absorção traduzem-se quer por uma resposta imunitária ou quer pelo desenvolvimento de uma tolerância (Mowat 1987). A natureza da resposta imunológica que se desenvolve depende da espécie e da idade do animal, do local de absorção, e da qualidade e quantidade das proteínas absorvidas.

Os mecanismos de absorção destas macromoléculas realiza-se por duas vias principais (Heyman e Desjeux 1992). A primeira, majoritária, é uma transcitose degradativa, que conduz à degradação das proteínas interiorizadas pelos enterócitos. Esta hidrólise parcial é capaz de gerar de novo determinantes antigénicos que podem reagir com as células imunitárias. A segunda via de absorção, minoritária (10% das proteínas absorvidas), é uma transcitose não degradativa. Além destas duas vias de absorção principais, a absorção paracelular pode ser observada em situações patológicas particulares. A amplitude de absorção das macromoléculas depende do estado de maturação dos enterócitos, dos diferentes estados inflamatórios que modificam a estrutura do epitélio intestinal, e ainda do local de absorção.

## **II.2. A UTILIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DE SUBSTITUIÇÃO NA ALIMENTAÇÃO DO VITELÓ PRÉ-RUMINANTE**

Por razões económicas existe actualmente um elevado interesse em utilizar fontes proteicas alternativas à proteína láctea na alimentação do vitelo pré-ruminante. As principais

fontes proteicas utilizadas nestes últimos anos, para substituição das proteínas do leite, foram as animais de origem leiteira (lactosoro) ou não leiteira (peixe, carne) e as vegetais. Entre estas últimas, que assumem um protagonismo considerável na alimentação do vitelo pré-ruminante, as leguminosas são as mais utilizadas devido ao seu elevado teor em proteína. Embora a soja ocupe um lugar de destaque neste grupo de proteínas existe igualmente interesse em utilizar outras espécies (ervilha, tremoço) adaptadas às condições climáticas temperadas (Kolar e Wagner 1991). Outras proteínas preparadas a partir de grãos de outras leguminosas (fava, colza), de grãos de cereais (glúten de trigo, e de milho), da batata, da luzerna ou ainda provenientes de organismos unicelulares (leveduras de alcanes, bactérias cultivadas em metanol) têm sido também utilizadas para substituição da proteína láctea.

## **II.2.1. Caracterização de algumas fontes proteicas vegetais utilizadas nos leites de substituição**

### **II.2.1.1. Características físico-químicas**

#### **II.2.1.1.1. Leguminosas**

Os grãos de leguminosas podem ser fraccionados por diferentes processos industriais, de forma a obter produtos enriquecidos em matérias azotadas (Bérot e Davin 1985). As farinhas são obtidas a partir dos grãos por eliminação dos compostos celulósicos parietais (descorticação) e de outros compostos não proteicos tais como o amido (caso da ervilha e da fava) e o óleo (caso da soja e eventualmente do tremoço). O teor em matérias azotadas das farinhas está geralmente compreendido entre 50 e 60% da matéria seca (MS). Os concentrados são obtidos a partir das farinhas por extracção selectiva de compostos não proteicos solúveis em solventes aquosos, tais como  $\alpha$ -galactosidos. Esta eliminação eleva o teor em matérias azotadas para 60 a 80% na MS. Os isolados resultam de uma solubilização preferencial das matérias azotadas, seguida de uma precipitação selectiva. Estes produtos

apresentam teores em matérias azotadas vizinhos de 90% na MS. Finalmente, a proteólise destes diferentes produtos, principalmente dos concentrados e dos isolados, permite obter os hidrolisados (Anantharaman e Finot 1993). Como veremos posteriormente, estes processos permitem eliminar ou inactivar determinados compostos antinutricionais e melhorar o valor nutricional dos produtos.

O teor em matérias azotadas dos grãos de leguminosas varia de 20 a 43% na MS (Quadro II.3). Entre as leguminosas distinguem-se dois grupos segundo a natureza dos constituintes energéticos de reserva: aquelas que apresentam um teor elevado em lipídios, como seja o caso da soja e do tremoço, por oposição aquelas que são ricas em amido como a ervilha e a fava (Guéguen 1983). A utilização destas últimas pelo vitelo pré-ruminante pode estar limitada pelo seu teor elevado em amido pouco digerido por este animal.

As globulinas da maior parte dos grãos de leguminosas são constituídas principalmente por duas fracções caracterizadas pelos coeficientes de sedimentação médios de 11S (glicinina) e 7S ( $\beta$ -conglucina). Para além destas duas principais fracções proteicas encontra-se também frequentemente fracções menores como é o caso da  $\alpha$ -conglucina com um coeficiente de sedimentação de 2S (Catsimpoolas e Ekenstam 1969). A glicinina representa 30 a 50% das proteínas da soja (Hughes e Murphy 1983, Brooks e Morr 1985). É uma estrutura com uma massa relativa ( $M_r$ ) média de 360 000, constituída por seis polipeptidos ácidos ( $M_r \approx 40\ 000$ ) e seis polipeptidos básicos ( $M_r \approx 20\ 000$ ) (Kitamura *et al.* 1976, Nielsen 1985) (Quadro II.4). A  $\beta$ -conglucina, a principal globulina da fracção 7S (Roberts e Briggs 1965), representa em média 20% da fracção proteica no caso da soja. É uma glicoproteína de  $M_r$  compreendida entre 140 000 e 180 000. É constituída por três sub-unidades principais (duas ácidas e uma básica) de  $M_r$  compreendidas entre 53 000 e 76 000 (Brooks e Morr 1985, Guéguen e Azanza 1985). A fracção 2S compreende três moléculas de  $M_r$  que variam entre 21 900 e 32 500 (Koshiyama *et al.* 1981). Esta contém a  $\alpha$ -conglucina cuja  $M_r$  é idêntica à do inibidor de Kunitz. No caso do tremoço (proteínas cujas estruturas têm sido menos estudadas que no caso da soja) Blagrove e Gillepise (1974,

1975, 1978) puseram em evidência duas globulinas principais, as  $\alpha$ - e  $\beta$ -conglutinas e uma menor, a  $\gamma$ -conglutina. Estas globulinas apresentaram coeficientes de sedimentação de 11S, 7S e 10S, respectivamente. Duranti *et al.* (1981) separaram dois tipos de  $\alpha$ -conglutinas de Mr de 330 000 e 430 000, e quatro formas de  $\beta$ -conglutinas de Mr compreendidas entre 143 000 e 26 000. As  $\alpha$ -conglutinas do *Lupinus albus* são constituídas por quatro tipos de polipeptidos ácidos de Mr de 43 000 a 52 000 (Duranti *et al.* 1988), podendo cada um destes estar ligado a um polipeptido básico de Mr médio de 2 000 (Restani *et al.* 1981).

A fracção albumina compreende proteínas de Mr mais fraca que as das globulinas. Esta representa 10 a 20% da fracção proteica. Podem ser postas em evidência duas classes de albuminas nos grãos de soja. Uma primeira, que apresenta um coeficiente de sedimentação de 2S, compreende os inibidores de tripsínicos de Kunitz e de Bowman-Birk, e uma segunda, apresentando um coeficiente de sedimentação de 7S, que compreende a  $\beta$ -amilase, as hemaglutaminas e as lipoxigenases (Guéguen e Azanza 1985).

#### **II.2.1.1.2. Glúten de trigo**

O teor em matérias azotadas dos cereais varia entre 9 e 10% na MS. A farinha de trigo não é suficientemente rica em proteínas e apresenta um importante teor em amido pelo que o seu limite de utilização é rapidamente atingido. Utiliza-se assim o glúten de trigo que constitui a fracção rica em proteínas. O glúten de trigo é extensamente utilizado na alimentação humana. Este pode igualmente ser uma fonte proteica alternativa para os leites de substituição destinados ao vitelo pré-ruminante. A sua extracção da farinha permite preparar um produto com um elevado teor em proteína (82%) que apresenta propriedades viscoelásticas particulares na sua forma nativa. Esta última característica pode limitar a incorporação do glúten em dietas que sejam oferecidas na forma líquida. O glúten de trigo é chamado de vital se é capaz de recuperar as suas características originais em contacto com a água ou desvitalizado em caso contrário. A desvitalização pode ser conseguida por exemplo por tratamento térmico. Esta permite melhorar a sua manutenção em suspensão sem que tenha efeito sobre a digestibilidade. Finalmente, a hidrólise enzimática parcial parece ser



particularmente interessante uma vez que resolve o problema colocado pelas propriedades funcionais do glúten de trigo vital (Bush *et al.* 1992b).

As principais proteínas do trigo são as gliadinas e as glutelinas cujas proporções de cada grupo representam 40 a 45% do total da proteína, e as proteínas solúveis residuais cuja maior parte é eliminada no decurso da lavagem (Popineau 1985).

### **II.2.1.1.3. Batata**

A proteína da batata, como co-produto da indústria processadora da batata, constitui outro potencial ingrediente para os leites de substituição. No entanto, a sua utilização nos leites de substituição para vitelos está possivelmente limitada pela sua fraca suspensibilidade e disponibilidade (Kolar e Wagner 1991). Anteriormente, os efluentes desta indústria eram eliminados como resíduos nos cursos e canais de água ou utilizados nos campos cultivados como fertilizantes. A recuperação destas proteínas é de grande interesse não só pela sua contribuição para os problemas de ordem ambiental mas também pelo facto das proteínas da batata serem consideradas entre as proteínas vegetais de maior valor (Nuss e Hadziyev 1980, Lindner *et al.* 1981). A recuperação industrial das proteínas dos efluentes da indústria do amido da batata é correntemente levada a cabo mediante coagulação térmica (Oosten 1976, De Boer e Hiddink 1977, Knorr *et al.* 1977). Os concentrados proteicos obtidos são muito ricos em matérias azotadas (em média 86% na MS, Toullec e Coroller, resultados não publicados). As proteínas da batata compreendem: tuberina (globulina I), 76,4%; globulina II, 1,4%; albumina 4,0%; prolamina, 1,8%; glutelina, 5,5% (revisto por Davin 1985). Ahldén e Trågårdh (1992) identificaram três proteínas principais da batata com Mr de 44 000, 20 000 e 14 000.

### **II.2.1.2. Composição em ácidos aminados**

As diversas fontes proteicas, por apresentarem teores em matérias azotadas e azoto (N) aminado muito diferentes e variáveis segundo os seus processos de preparação

(farinhas, concentrados, isolados), são caracterizadas pelas suas diferentes composições em AA.

A composição em AA das globulinas 11S e 7S é característica da das proteínas de reserva: um forte teor em arginina, ácido aspártico, e em ácido glutâmico e um fraco teor em AA sulfurados (Quadro II.5). Os polipeptidos ácidos são mais ricos em ácido glutâmico e prolina enquanto que os polipeptidos básicos apresentam teores mais elevados em AA hidrófobos (leucina, tirosina, fenilalanina, valina, alanina) e em AA básicos (arginina em particular) (Moreira *et al.* 1979, 1981). A associação dos polipeptidos ácidos e básicos não é feita casualmente o que conduz a associações privilegiadas com teores variáveis em metionina (Staswick *et al.* 1981). O número de polipeptidos ácidos e básicos da glicinina varia segundo o cultivar, de 6 a 7 e de 3 a 8 respectivamente (Mori *et al.* 1981). No que concerne à  $\beta$ -conglucina, esta parece ser mais rica em lisina e mais pobre em AA sulfurados que a glicinina. A fracção albumina apresenta uma composição em AA mais elevada em metionina e triptofano que a fracção globulina (Guéguen e Azanza 1985).

No que concerne ao tremço a  $\beta$ -conglutina apresenta um teor muito baixo de AA sulfurados enquanto que a  $\alpha$  contem menos de 1% e a  $\gamma$  aproximadamente 2% (Blagrove e Gillepsie 1975). A composição média em AA das principais proteínas do tremço é igualmente apresentada no Quadro II.5.

O glúten de trigo constitui uma fonte proteica atípica, muito rica em ácido glutâmico (36%), em prolina (12%) e em cisteína (3%) mas pelo contrário muito pobre em ácido aspártico e sobretudo em trionina e lisina (2 vs 9% no leite) (Lallès e Toullec 1991). A composição em AA das principais proteínas do trigo e de um glúten de trigo experimental (vital e desvitalizado) é apresentada no Quadro II.6.

As proteínas da batata apresentam teores elevados em AA essenciais. A soma dos seus teores corrigidos é de 54,7 g por 16 g de N (revisto por Toullec *et al.* 1975). Por outro lado, estas proteínas parecem ser bem equilibradas em AA com excepção de uma relativa ligeira deficiência em lisina e histidina (Toullec e Coroller, resultados não publicados). No

Quadro II.7 apresenta-se a composição média em AA da batata e a de um concentrado proteico preparado a partir desta para incorporação em leites de substituição.

### **II.2.1.3. Factores antinutricionais associados às proteínas vegetais**

A maior parte dos vegetais contem compostos que intervêm nos seus mecanismos de defesa contra os parasitas, chamados de factores antinutricionais (FAN). Entre estes contam-se os inibidores das proteases, as lectinas e outros FAN como os oligosidos, as saponinas, os fitatos, os taninos e os alcalóides. A estes FAN clássicos, adiciona-se cada vez mais frequentemente as proteínas ditas antigénicas.

Os inibidores proteásicos são compostos de natureza proteica, distinguindo-se duas famílias: os inibidores de Kunitz e os inibidores de Bowman-Birk com Mr médias de 21 000 e 8 000, respectivamente. O inibidor de Kunitz é inativado pelo calor e pelo suco gástrico. O inibidor de Bowman-Birk é fortemente resistente à acção dos enzimas proteolíticos. Apresenta uma certa estabilidade ao calor, embora alguns autores refiram que o inibidor de Bowman-Birk, no seu estado puro, é menos estável ao calor que o inibidor de Kunitz (Di Pietro e Liener 1989). Os inibidores proteásicos podem representar até 6% das proteínas da soja (Rackis *et al.* 1986) enquanto que no tremço são considerados inexistentes. No caso do glúten de trigo, a literatura refere que este contem alguns inibidores de proteases (Liener e Kakade 1972). Também praticamente todos os tubérculos apresentam um factor antitripsínico no qual a batata parece ser relativamente rica, sendo o seu teor variável segundo o estado fisiológico do tubérculo (Davin 1985).

As lectinas são glicoproteínas de Mr compreendida entre 50 000 e 120 000. São sensíveis à temperatura e resistentes à proteólise intestinal, sendo esta última variável segundo a origem botânica. As lectinas podem representar 1 a 3% das proteínas dos grãos de soja (Guégen e Azanza 1985, Kik *et al.* 1989b). Outras fontes proteicas como o tremço (Hudson 1979) e o glúten de trigo (Liener e Kakade 1972) são consideradas como sendo desprovidas deste FAN.

A maior parte das leguminosas contem oligosídeos que não são degradados no intestino delgado do vitelo devido à ausência da actividade da  $\alpha$ -galactosidase e sacarase (Sissons 1981). Estes são encontrados no bagaço de soja em grande quantidade, em pequena quantidade nos concentrados, sendo inexistentes nos isolados (Rackis *et al.* 1970). O glúten de trigo é considerado como sendo desprovido deste FAN (Liener e Kakade 1972).

As saponinas são estruturas glicosídicas que podem representar 5% na MS dos grãos de soja (Fenwick e Ockenfull 1981) e que se encontram na maioria dos produtos à base de soja, com excepção dos concentrados extraídos a álcool (Ireland *et al.* 1986). Os fitatos podem constituir 1 a 5% na MS das leguminosas. No entanto, Sissons e Tolman (1991) referem que as saponinas e fitatos parecem ser negligenciáveis no caso dos produtos de soja destinados à alimentação do vitelo. Pelo contrário, no que respeita à batata as saponinas podem ser encontradas em quantidades consideráveis (Davin 1985).

Os alcalóides são diversos compostos que se encontram em numerosas espécies vegetais mas entre as leguminosas apenas no tremço no qual foram identificados pelo menos 12 alcalóides de toxicidade diferente (Cheeke e Kelly 1989). No entanto, o desenvolvimento de variedades de baixos teores em alcalóides, por selecção genética, permitiu utilizar o tremço nos alimentos para monogástricos (Ballester *et al.* 1980). Nas variedades selvagens os alcalóides podem atingir 2,5% do peso da semente do tremço, mas representando apenas 0,01% nas variedades doces, o que as torna aceitáveis para consumo humano e animal (Hudson 1979). Os alcalóides podem ser igualmente encontrados na batata (revisto por Noordewier e van Kempen 1983a). A presença de tais factores exige um certo número de precauções quanto à utilização dos tubérculos (eliminação da pele, cozedura em água, etc.) que nem sempre são compatíveis com o tratamento industrial de extracção de proteínas mas que convém dominar se se pretende a valorização destas.

Alguns constituintes alimentares têm ainda um efeito antigénico. As principais proteínas de armazenamento da soja (glicinina e  $\beta$ -conglucina) são consideradas

antigénicas (Sissons 1982). A  $\alpha$ -conglícinina é suspeita de ser alérgica (Pedersen 1986) mas até agora não há evidência experimental. As albuminas da soja não parecem ser antigénicas (Kilshaw e Sissons 1979b). Outros vegetais como a ervilha (Bush *et al.* 1992a) e o glúten de trigo (Kilshaw e Slade 1982) apresentam igualmente proteínas antigénicas.

#### II.2.1.3.1. Métodos de análise

A actividade antiproteásica é geralmente avaliada pela determinação *in vitro* da inibição da actividade da protease pelos produtos a estudar, quando da degradação de um substracto natural ou sintético. Os substractos sintéticos são utilizados mais frequentemente por razões de especificidade, permitindo assim a distinção entre as actividades dos vários enzimas. Existem vários protocolos que utilizam condições experimentais diferentes (volumes, relação enzima-substracto, extracção dos produtos) (Kakade *et al.* 1974, Valdebouze *et al.* 1980, Liu e Markakis 1989) o que justifica a grande variação de teores de inibidores proteásicos encontrados entre laboratórios. O método de Kakade *et al.* (1974) é o método oficial do AOCS (1983) e o utilizado mais frequentemente para o doseamento da actividade antitripsínica dos produtos provenientes da soja. Estes métodos enzimáticos permitem determinar a actividade inibidora global de um produto, que inclui as actividades ligadas a outros compostos (taninos, fitatos, ácidos gordos...) (Liener 1989). Os métodos imunoquímicos, pela sua maior especificidade, permitem distinguir a contribuição das diferentes moléculas para a referida inibição (Bradon *et al.* 1987, 1988, 1989). No entanto, os anticorpos utilizados devem permitir distinguir as actividades entre inibidores nativos (activos) e os inibidores desnaturados (Guéguen *et al.* 1993).

Para a determinação e quantificação das lectinas utiliza-se frequentemente a aglutinação dos eritrocitos *in vitro*. No entanto, os resultados dependem muito da origem dos eritrocitos (Huisman *et al.* 1990, Huisman e Jansman 1991). Os métodos ELISA (Gabius *et al.* 1987) permitem melhorar a sensibilidade do doseamento. No entanto, estes não permitem medir a toxicidade das diferentes lectinas. Estas técnicas foram modificadas fixando compostos glucídicos sintéticos ou de vesículas de membranas de enterócitos sobre

as placas ELISA, de forma a permitir a detecção de lectinas que tenham uma especificidade pelos enterocitos de uma dada espécie animal (Hamer *et al.* 1989). Esta técnica, dita de doseamento imunológico de lectinas funcionais, foi utilizada para pôr em evidência a fixação das lectinas da soja aos enterocitos do vitelo (Hendricks *et al.* 1989).

A elevada frequência de casos de alergias na população humana levou a um desenvolvimento importante de métodos de apreciação de antigenicidade (ou de alergenicidade) dos alimentos. No caso da soja, vários métodos têm sido propostos. No entanto, a maioria destes são insuficientes individualmente, mas complementares. A sua fiabilidade depende estreitamente da identificação dos antígenos responsáveis pelas reacções, dos mecanismos implicados e nos graus fisiológicos de sensibilização (Lallès 1993b). A determinação da imunoreactividade *in vitro*, isto é, o reconhecimento das proteínas por anticorpos específicos dirigidos contra os epitópos nativos, é um meio para apreciar a antigenicidade, e assim a qualidade das proteínas para o vitelo pré-ruminante. Vários métodos podem ser utilizados para apreciar a imunoreactividade *in vitro*: a inibição da hemaglutinação passiva, diferentes testes ELISA (Kilshaw e Sissons 1979b, Sissons *et al.* 1979, Heppell *et al.* 1987b, Nunes do Prado 1989a), a imunoelectroforese (Murphy e Resurreccion 1984) ou imunodifusão radial (Iwabuchi e Yamauchi 1987). No entanto, observam-se por vezes disparidades entre a imunoreactividade determinada *in vitro* e as manifestações patológicas *in vivo* (Huisman 1989, Duvaux-Ponter *et al.* 1993), o que coloca em causa a fiabilidade destas técnicas para prever a qualidade dos alimentos e a indução de reacções de hipersensibilidade (Lallès *et al.* 1993c). As técnicas de electroforese e "immuno-blotting" permitem estabelecer uma verdadeira cartografia dos antígenos de meios complexos como os alimentos e de precisar determinadas propriedades físico-químicas (ponto isoeléctrico, Mr) das moléculas reconhecidas pelos anticorpos específicos. Assim, os soros de vitelos que consumiram soja antigénica reagem fortemente com as subunidades da  $\beta$ -conglucina e, em certa medida, com proteínas de Mr compreendidas entre 30 000 a 37 000, 20 000 a 25 000 e 15 000 a 20 000 (Hamer *et al.* 1992, Hessing *et al.* 1993, Dréau *et al.* 1995). Outros métodos como a técnica de fixação do complemento

(Daussant e Skakoun 1985), e as de desgranulação dos mastocitos ou ainda a da proliferação linfocitária (Lallès *et al.* 1995) podem ser utilizadas para evidenciar a presença de antígenos e também para caracterizar o tipo de respostas imunitárias. Vários métodos *in vivo* são igualmente utilizados para pôr em evidência a presença de antígenos, entre os quais a imunização (Heppell *et al.* 1987a), os testes cutâneos directos (Heppell *et al.* 1987b, Lallès *et al.* 1995) ou indirectos (testes de anafilaxia cutânea passiva) (Kilshaw e Sissons 1979b), e as medidas directas de disfuncionamento digestivo do intestino induzidas por hipersensibilidade alimentar (Sissons e Smith 1976). No entanto, as observações *in vivo* nem sempre são concordantes com os resultados obtidos *in vitro* (Heppell *et al.* 1987a). Finalmente, a determinação do fluxo digestivo, do trânsito e da motricidade intestinal no vitelo, constituem métodos de escolha para avaliar os efeitos *in vivo* dos derivados da soja destinados a este animal. Assim, quanto mais antigénico for um produto *in vitro*, mais aumenta o fluxo ileal de digesta e a frequência de propagação dos complexos mioelectricos migrantes. Pelo contrário, o tempo do trânsito e da absorção de N no intestino delgado são muito diminuídas, tomando como referência uma refeição à base de proteínas de leite de vaca.

#### **II.2.1.3.2. Tratamentos tecnológicos**

Vários tratamentos tecnológicos são utilizados para melhorar o valor nutricional das proteínas vegetais, permitindo assim elevar a sua taxa de incorporação. Estes tratamentos podem ter efeitos diferentes segundo os FAN considerados. Os tratamentos tecnológicos mais correntemente utilizados com as diversas fontes proteicas são os físicos (mecânicos e térmicos), os químicos e os enzimáticos, aplicados individualmente ou em associação (extrusão, tratamento a álcool a quente) (Lallès 1991).

Admite-se geralmente que os FAN termolábeis como as lectinas e uma parte dos inibidores proteásicos são correctamente inactivados por tratamento a vapor (100 a 130°C, 15 a 20 minutos) ou por extrusão. As pequenas moléculas solúveis na água e/ou álcool (oligosídeos, fenois, saponinas) são extraídas com relativa facilidade, especificamente ou no

decurso de outras etapas do tratamento. No entanto, estas condições mais clássicas são geralmente insuficientes para inactivar as globulinas antigénicas. Pelo contrário, o tratamento térmico dos produtos em solução aquosa etanólica, durante um período de tempo suficientemente longo (80°C, etanol-água 65-70%, 2 horas), é eficaz. Mais recentemente, processos de proteólise industrial e de extrusão, relativamente satisfatórios, têm sido propostos.

## **II.2.2. Efeitos da utilização das proteínas vegetais nos leites de substituição**

O vitelo pré-ruminante é muito sensível à natureza das proteínas de substituição. Em regra os animais fazem uma utilização menos eficiente destas fontes azotadas, tomando como referência a proteína láctea, o que se traduz numa quebra do seu desempenho produtivo.

### **II.2.2.1. Desempenho produtivo dos animais**

Os leites de substituição que incorporem proteínas não lácteas na sua composição podem eventualmente não permitir um desempenho produtivo dos animais tão satisfatório como o conseguido com as proteínas do leite. O efeito depressivo das proteínas de substituição sobre o crescimento e estado sanitário dos animais depende de vários factores: natureza das proteínas, tratamento tecnológico a que tenham sido submetidas, taxa de incorporação, idade do animal, etc....

É bem conhecido que os produtos provenientes da soja insuficientemente processada tecnologicamente não podem contribuir com uma fracção importante do total da proteína dos alimentos destinados ao vitelo pré-ruminante, sob pena de afectar negativamente o desempenho produtivo dos animais. Associado à utilização da proteína de soja têm-se constatado casos de diarreia, falta de apetite, elevada mortalidade e fraco crescimento dos vitelos sobreviventes (Shoptaw 1936, Williams e Knodt 1950). Este efeito negativo depende não somente do nível de incorporação de soja mas também do tratamento



tecnológico sofrido pelo grão (Dawson *et al.* 1988) e da idade a que o animal recebe a primeira refeição à base de soja (Akinyele e Harshbarger 1983). Uma redução destes problemas pode ser conseguida por processamento e tratamento tecnológico da soja (Sissons *et al.* 1979). Quando a proteína da soja representa mais de 30-40% do total da proteína da dieta, os concentrados e os isolados permitem um melhor desempenho dos animais que as farinhas (Akinyele e Harshbarger 1983, Dawson *et al.* 1988, Khorasani *et al.* 1989a,b, Lallès *et al.* 1991). Tratamentos tecnológicos como a desnaturação a quente em meio etanólico (Guilloteau *et al.* 1977, 1986b, Silva *et al.* 1986) e a hidrólise da proteína (Lallès *et al.* 1991) podem melhorar a utilização da proteína da soja e eventualmente o desempenho produtivo dos animais. No entanto, animais que recebam alimentos com taxas de incorporação de soja elevadas (50 a 80%) não atingem geralmente os crescimentos obtidos com o leite (Stobo *et al.* 1984).

No que respeita ao tremço, desconhecemos qualquer trabalho sobre a sua utilização como fonte proteica alternativa à proteína láctea no alimento destinado ao vitelo pré-ruminante.

Poucos trabalhos têm sido publicados sobre o efeito da utilização do glúten de trigo no desempenho produtivo dos animais. Alguns problemas digestivos foram observados em vitelos que consumiram alimentos cujas proteínas provieram na sua totalidade do glúten de trigo (Kilshaw e Slade 1982). Toullec e Grongnet (1990) referem ligeiras quebras no desempenho (índice de conversão e ingestão alimentar) de animais que haviam recebido 19% do N alimentar proveniente de um glúten de trigo. No entanto, o efeito negativo das referidas proteínas sobre o crescimento dos animais foi de fraca magnitude e não significativo.

Também poucos trabalhos têm sido publicados sobre o efeito da utilização das proteínas da batata, no desempenho produtivo dos animais. A substituição de mais de metade das proteínas do leite por uma mistura que compreenda em média 68 e 32% de proteínas provenientes da batata e do lactosoro, respectivamente, teve efeitos negativos no desempenho produtivo de vitelos pré-ruminantes (Noordewier e van Kempen 1983a); estes

efeitos elevaram-se com taxas de substituição superiores e com a idade dos animais. Casos de diarreia, recusas de alimento, fraco crescimento e perda de pêlo dos animais surgem logo que o concentrado proteico de batata é rico em solanina (Trocon e Toullec 1989). No entanto, embora esta pareça influenciar desfavoravelmente o desempenho produtivo dos animais não se pode dizer de forma irrefutável que seja a única responsável pelos resultados inferiores obtidos (Noordewier e van Kempen 1983b).

### **II.2.2.2. Utilização digestiva e metabólica das proteínas de substituição**

A utilização de proteínas de substituição nos alimentos destinados ao vitelo pré-ruminante pode induzir modificações importantes nos fenómenos digestivos ao nível do abomaso e conseqüentemente ao nível intestinal, que se traduz por uma redução da sua utilização digestiva, tomando como referência a das proteínas do leite.

#### **II.2.2.2.1. Perfis das proteínas em ácidos aminados**

Os leites em pó de boa qualidade são bem equilibrados em AA essenciais com excepção dos AA sulfurados (Toullec 1980). Existe ainda o risco de uma deficiência em lisina nos alimentos baseados em LPD que tenham sofrido tratamento térmico excessivo (Trocon e Toullec 1989). Esta situação de carência de AA essenciais poderá agravar-se quando se procede à substituição, mesmo que parcial, da proteína de origem láctea por fontes proteicas alternativas cujo equilíbrio em AA é por vezes menos satisfatório. A deficiência de algumas proteínas de substituição em determinados AA pode eventualmente tornar-se num factor limitante para a síntese proteica e conseqüentemente penalizar a sua utilização como fonte de proteína. Com efeito, a captação dos AA pelos tecidos pode ser limitada por um equilíbrio menos satisfatório destes nas proteínas de substituição, em relação às proteínas do leite (Guilloteau *et al.* 1981).

Os derivados do leite (caseínas e lactosoro) apresentam, como a matéria original, proporções elevadas de ácido glutâmico e de prolina e proporções fracas de glicina, de

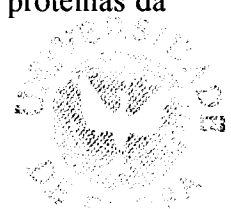
arginina e sobretudo de cisteína, o que os distingue das proteínas vegetais provenientes dos grãos (Lallès e Toullec 1991). As matérias azotadas das leguminosas são menos ricas em prolina, metionina e lisina, e mais ricas em glicina, cisteína e arginina que as do leite (Quadro II.8). No vitelo pré-ruminante, os AA mais limitantes são os AA sulfurados, a lisina, a trionina e a isoleucina (revisto por Huisman e Jansman 1991). Assim, as matérias azotadas de leguminosas parecem ser suficientemente ricas em AA essenciais para cobrir as necessidades do vitelo após uma suplementação de metionina e de lisina, embora a utilização destes deva ser igualmente considerada. O glúten de trigo é mal equilibrado em AA essenciais. Em relação às proteínas do leite, as do glúten de trigo apresentam idêntico teor em arginina e são mais ricas em AA sulfurados; pelo contrário são menos ricas em trionina, valina, isoleucina, leucina e lisina (Toullec e Grongnet 1990). Finalmente, as proteínas da batata parecem ser bem equilibradas em AA com exceção de uma relativa ligeira deficiência em lisina e histidina (Toullec e Coroller, resultados não publicados).

As proteínas do glúten e sobretudo as de origem leiteira são das proteínas que apresentam perfis de AA mais diferentes das do músculo do vitelo (Lallès e Toullec 1991). Esta observação sugere que outros factores que não a composição em AA, como a digestão, a absorção e a utilização metabólica devam ser tomados em consideração para explicar diferenças no desempenho produtivo dos animais quando se substitui uma parte mais ou menos importante das proteínas lácteas pelas diversas proteínas de substituição.

#### **II.2.2.2.2. Digestão das proteínas de substituição**

##### **II.2.2.2.2.1. Secreções digestivas**

A substituição das proteínas do leite por outras fontes proteicas, nos alimentos destinados ao vitelo pré-ruminante, não parece ter efeito sobre a secreção das proteases gástricas (Guilloteau *et al.* 1986a). No entanto, a utilização de proteínas de substituição pode induzir modificações importantes na actividade das várias secreções intervenientes na digestão das proteínas, ao nível do abomaso e do intestino delgado. Assim, as proteínas da



soja têm geralmente um efeito depressivo sobre as actividades da tripsina e quimotripsina no vitelo (Gorrill e Thomas 1967, Guilloteau *et al.* 1986a, Khorasani *et al.* 1989a,b). Foi observada uma redução de 40% das actividades enzimáticas do pâncreas quando da substituição do LPD por um concentrado de soja tratado a álcool e derivados do lactosoro (Guilloteau *et al.* 1986a). No entanto, mais recentemente, Dréau *et al.* (1995) não observaram diferenças nas actividades destes enzimas entre vitelos que consumiram proteínas de soja ou de ervilha e aqueles que ingeriram proteínas lácteas. A maior parte das proteínas de origem vegetal são resistentes à acção das proteases pancreáticas. Assim, a degradação das proteínas da soja pela tripsina *in vitro* foi de 60 a 80% da observada com as proteínas do leite (Jenkins *et al.* 1980).

#### **II.2.2.2.2. Evacuação gástrica**

As proteínas de substituição não coagulam no abomaso e a sua utilização na alimentação do vitelo pré-ruminante é geralmente responsável por consequências similares às descritas para o leite não coagulável. A não coagulação das proteínas não caseínicas no abomaso, mesmo as de origem láctea, traduz-se geralmente por uma aceleração da taxa de evacuação gástrica das matérias azotadas (e lipídios) (Toullec *et al.* 1971, Gaudreau e Brisson 1978), a qual pode ser apreciada directamente recorrendo a uma cânula duodenal reentrante ou indirectamente pela evolução da taxa circulante de AA livres e sobretudo dos triglicéridos. Quando se utilizam proteínas de substituição a porção de N eliminada sob a forma proteica é mais aumentada que a de N não proteico (Ternouth e Roy 1973, Guilloteau *et al.* 1975), salvo no caso de produtos proteolisados (Lallès e Toullec 1991). Esta aceleração da evacuação gástrica, e a maior resistência das proteínas vegetais à acção dos enzimas gástricos (Jenkins *et al.* 1980) têm como consequência uma redução da digestão destas no abomaso, tomando como referência a proteína do leite (Ternouth *et al.* 1974, Guilloteau *et al.* 1975, 1979). Daqui resulta que, quando da sua chegada ao duodeno, algumas proteínas sejam ainda reconhecidas por anticorpos preparados contra as suas formas nativas. Assim, 6 horas após uma refeição que inclua na sua composição bagaço de

soja tratado termicamente, determinadas proteínas da soja (glicinina e a  $\beta$ -conglucina) foram detectadas no abomaso e à entrada do intestino delgado (Pedersen 1986). O mesmo foi observado com a legumina da ervilha não processada, que abandona o abomaso na forma imunoreactiva até 5 horas e 30 minutos após a refeição (Nunes do Prado *et al.* 1990). Estas proteínas alimentares que atingem o intestino delgado sob a forma pouco ou não degradadas são então susceptíveis de exercer eventualmente efeitos fisiológicos. Estas podem mesmo ser absorvidas intactas, em fraca quantidade, como foi demonstrado para a legumina da ervilha (Nunes do Prado *et al.* 1988, Bush *et al.* 1992a).

A diminuição do tempo de contacto de proteínas e lipídios com as secreções digestivas que actuam no abomaso e a sua chegada massiva ao duodeno tem consequências negativas sobre digestão intestinal e consequentemente sobre a digestibilidade aparente do N. Estas consequências variam muito com a natureza e processamento tecnológico das proteínas utilizadas para substituição da caseína. Assim, as proteínas do lactosoro embora tendo mais efeito sobre a evacuação gástrica que as dos concentrados de soja tratados com álcool, têm muito menos efeito sobre a digestibilidade ileal aparente. Esta observação resulta provavelmente da degradação mais fácil das primeiras pelos enzimas pancreáticos e intestinais (Jenkins *et al.* 1980).

#### **II.2.2.2.3. Taxa circulante de nutrientes**

Após a refeição, a absorção dos AA libertados pela digestão das proteínas traduz-se no vitelo pré-ruminante por uma modificação da concentração destes no sangue (Williams e Smith 1975, Toullec *et al.* 1979, Tzeng e Davies 1980). As variações da aminoacidémia, observadas ao nível da jugular, indicam que a velocidade de evacuação gástrica das proteínas alimentares é o principal factor da velocidade de absorção dos seus AA (Guilloteau *et al.* 1981). No vitelo que consome leite, a coagulação da caseína no abomaso retarda a evacuação gástrica da maioria das proteínas alimentares em relação à lactose, retardando a absorção dos AA. O teor plasmático em AA livres aumenta imediatamente após a refeição durante 30 a 60 minutos (Grizard *et al.* 1982) devido à absorção dos AA

das proteínas do lactosoro que afluem no duodeno (Yvon *et al.* 1986): 15 a 25% das proteínas ingeridas atingem o duodeno na meia hora que se segue à refeição. A aminoacidemia diminui seguidamente até que o débito de matérias azotadas no intestino se torna fraco. Pelo contrário, quando uma parte das caseínas do leite é substituída por proteínas de soja (Patureau-Mirand *et al.* 1971), o teor sanguíneo em N aminado aumenta consideravelmente até 3 a 4 horas e 30 minutos após a refeição, o que traduz a aceleração da evacuação abomasal das matérias azotadas (Guilloteau *et al.* 1975, 1979).

No vitelo pré-ruminante que recebe proteínas lácteas na sua alimentação a concentração plasmática de glucose aumenta durante as duas primeiras horas pós-prandiais, diminuindo seguidamente (Bazin e Brisson 1976). No entanto, quando uma parte das proteínas lácteas é substituída pelas da soja esta elevação é menos acentuada (Beynen e van Gils 1983, 1984). Durante as primeiras 7 horas pós-prandiais, a glicémia é menos elevada no vitelo que recebe um alimento que incorpora proteínas de substituição que no vitelo que recebe exclusivamente proteínas lácteas. Esta observação deve-se provavelmente à estimulação da secreção de insulina ou a um aumento da sensibilidade dos tecidos em relação a esta (Grizard *et al.* 1982) nos animais que ingerem fontes proteicas cuja evacuação gástrica (Guilloteau *et al.* 1975, 1979), digestão e absorção (Patureau-Mirand *et al.* 1971, Coombe e Smith 1973, 1974) são mais rápidas. Durante as primeiras horas que se seguem à refeição, um afluxo mais importante de AA no sangue (Toullec *et al.* 1979) favorece a secreção de insulina (Faichney e Weston 1971, Grizard *et al.* 1982) e consequentemente uma utilização mais intensa da glucose.

A concentração plasmática de triglicéridos, no vitelo pré-ruminante que consome leite, evolui pouco durante as duas horas que precedem a refeição da manhã (Bauchart 1983, Bauchart *et al.* 1985); apresenta uma elevação 30 minutos após a refeição (Bazin e Brisson 1976, Grizard *et al.* 1982), diminuindo depois até 1 hora e 30 minutos a 2 horas e pouco variando até 4 horas após a refeição. Seguidamente, esta aumenta consideravelmente até 10 horas após a refeição (Beynen e van Gils, 1983, 1984). Quando os alimentos incorporam proteínas de substituição, como as da soja, o teor plasmático em triglicéridos

observado em jejum é muito mais fraco que o registado com o leite (Beynen e van Gils 1983). Esta observação resulta do facto de a evacuação gástrica dos lipídios da refeição da véspera ser praticamente logo conseguida com o alimento que não coagule no abomaso ao contrário do que se passa com o leite. Com efeito, durante as 2 a 4 primeiras horas pós-prandiais, o teor plasmático em triglicéridos observado com as proteínas de substituição aumenta consideravelmente, traduzindo a aceleração da evacuação gástrica dos lipídios (Guilloteau *et al.* 1975, 1979), enquanto que diminui durante o mesmo período de tempo com o leite (Toullec *et al.* 1979, Grizard *et al.* 1982).

O afluxo massivo de nutrientes proteicos e lipídicos no sangue, no decurso das primeiras horas pós-prandiais, não é favorável à sua utilização metabólica. O recurso a proteínas de substituição conduz a uma acumulação de AA no sangue já que estes são absorvidos mais rapidamente no intestino (revisto por Troccon e Toullec 1989). A observação dos autores sugere a possibilidade de um afluxo massivo exagerado de AA em relação à disponibilidade de energia ou capacidade biológica do animal para a síntese proteica e a sua consequente metabolização. Estas suspeitas são confirmadas pelos trabalhos de Jenkins e Emmons (1982) e de Petit *et al.* (1987) em que os autores constataram uma elevada correlação entre a taxa de evacuação gástrica de alimentos não coaguláveis e a concentração sanguínea de ureia, indicando uma certa incapacidade de utilização dos peptídeos e AA absorvidos, em consequência do seu afluxo repentino na corrente sanguínea. Embora o trabalho diga respeito a proteína de origem láctea, tratada de forma a prevenir a sua coagulação, sugere que o mesmo possa acontecer quando do recurso a proteínas de substituição que é sabido não coagularem no abomaso.

#### **II.2.2.2.3. Efeitos fisiológicos dos factores antinutricionais**

Os FAN são reconhecidos como agentes causais de efeitos desfavoráveis quando ingeridos pelos animais, em particular pelos monogástricos. Os principais constituintes das leguminosas, considerados como tendo actividades antinutricionais, são os inibidores das

proteases e as lectinas. Outros compostos como os oligosídeos, os fitatos, os taninos e os alcalóides, podem igualmente interferir nos processos digestivos e metabólicos (Huisman e Jansman 1991, Guéguen *et al.* 1993). Além destes FAN clássicos, consideram-se, cada vez mais frequentemente, as proteínas ditas antigénicas que estimulam reacções imunitárias, que perturbam profundamente a fisiologia digestiva do vitelo (Lallès 1993a). O considerar as proteínas antigénicas como FAN poderá ser abusivo uma vez que estas representam o conjunto das proteínas de reserva dos grãos de leguminosas desempenhando uma função nutricional. No Quadro II.9 é apresentada uma síntese do modo de acção de alguns FAN.

#### **II.2.2.3.1. Inibidores das proteases**

O inibidor de Kunitz inibe principalmente a tripsina e em certa medida a quimotripsina. O inibidor de Bowman-Birk pode complexar-se com a tripsina e com a quimotripsina em locais independentes (Huisman e Jansman 1991, Guéguen *et al.* 1993). Existem igualmente isoformas que podem complexar duas moléculas de tripsina (Guéguen *et al.* 1993).

A diminuição do crescimento, associado aos inibidores de proteases, tem sido observada em várias espécies (revisto por Gallaher e Schneeman 1986). Vários estudos demonstraram que a proteólise intestinal foi diminuída em animais que ingeriram soja não processada, em particular nos jovens (Alumot e Nitsan 1961, Bielora e Bondi 1963, Nitsan e Alumot 1964). Mais tarde, Lyman *et al.* (1974) observaram que no rato a presença de inibidores tripsínicos podia modificar a digestão proteica após a formação de complexos com a tripsina e assim impedir a activação da quimotripsina. No vitelo, não se constataram efeitos nefastos do inibidor de Kunitz purificado, quando este foi incorporado no leite (Kakade *et al.* 1976).

A inibição da actividade proteolítica não parece ser a única causa da diminuição do crescimento, já que a adição de inibidores tripsínicos a uma dieta composta de proteínas pré-digeridas ou de AA livres foi igualmente responsável por uma diminuição do crescimento em ratos (Liener e Kakade 1972). Outros trabalhos demonstraram que as



antiproteases foram responsáveis por uma secreção exagerada de enzimas pancreáticos. Esta tendência foi igualmente observada no vitelo (Davicco *et al.* 1979). A secreção de enzimas pancreáticos está sob o controle da hormona colecistoquinina. A produção da colecistoquinina está correlacionada negativamente com a quantidade de tripsina no quimo intestinal. Assim, quando os enzimas proteolíticos são complexados pelos seus inibidores (ou pelas proteínas alimentares) a sua concentração intestinal decresce, o que leva a uma elevação da produção da colecistoquinina e, por consequência, à elevação da produção de enzimas pancreáticos de cuja uma parte considerável não é digerida (Gallaher e Schneeman 1986, Huisman e Jansman 1991). A elevação da síntese de proteínas pancreáticas, a perda de AA essenciais de origem endógena e a proteólise incompleta das proteínas alimentares contribuem assim para a depressão do crescimento dos animais. No porco, foi demonstrado que os inibidores de Kunitz purificados induzem uma elevação do fluxo ileal de N endógeno e alimentar (Barth *et al.* 1993, Jansman *et al.* 1994). Efeitos similares foram observados quando da distribuição de soja não processada tomando como referência a soja tratada termicamente (Barth *et al.* 1993). Nestas condições, a perda de AA sulfurados (metionina e cisteína) será muito importante já que os enzimas pancreáticos são ricos, e as proteínas da soja deficientes, nesses AA. Assim, a suplementação da soja com determinados AA essenciais, em particular com a metionina, permite melhorar mais o crescimento medíocre associado à soja não processada em comparação com a soja tratada termicamente.

#### **II.2.2.3.2. Lectinas**

As lectinas apresentam uma especificidade por compostos glucídicos, podendo assim aglutinar os eritrocitos de diferentes espécies animais. A fixação das lectinas sobre os enterocitos traduz-se por uma alteração da digestão e da absorção dos nutrientes. As actividades enzimáticas das membranas dos enterocitos foram diminuídas em ratos que ingeriram lectinas (Pusztai 1989). As lectinas do feijão e da soja induzem também modificações na morfologia intestinal do rato e do leitão, que se traduz por uma diminuição da relação da altura das vilosidades / profundidade das criptas (Kik *et al.* 1989a, Grant *et al.*

1989). A presença de células imaturas ao nível das vilosidades terá certamente consequências sobre a absorção de nutrientes. Outros efeitos fisiológicos das lectinas do feijão e da soja compreendem uma notável modificação da população bacteriana intestinal (que por sua vez favoriza o efeito tóxico das lectinas), e uma elevação do peso do intestino e do pâncreas (Greer *et al.* 1985, Pusztai 1989, Banwell *et al.* 1993, Grant e van Driessche 1993). No que respeita ao vitelo, nenhum estudo demonstrou o efeito tóxico das lectinas, embora estas se possam fixar aos enterocitos (Hendricks *et al.* 1989).

Os dados bibliográficos respeitantes ao efeito das lectinas na utilização dos alimentos pelos animais de interesse zootécnico são raros. Contudo, foi recentemente demonstrado que a inclusão de lectinas da soja puras, numa proporção elevada, pode ser responsável por uma elevação do fluxo de N de origem endógena e alimentar no porco (Jansman *et al.* 1994). No entanto, a referida elevação foi bastante menos pronunciada que a observada com os inibidores das proteases da soja, indicando assim que estes últimos teriam mais efeitos desfavoráveis que as lectinas sobre a utilização digestiva dos alimentos.

#### **II.2.2.2.3.3. Proteínas antigénicas**

As proteínas vegetais insuficientemente elaboradas são geralmente responsáveis por casos de diarreia, uma diminuição do apetite, da digestibilidade e do crescimento dos animais, mesmo quando os factores considerados como antinutricionais para o monogástrico (antiproteases e lectinas) tenham sido inactivados (revisto por Barratt *et al.* 1979, Sissons 1982, van Dijk *et al.* 1988). A eliminação dos inibidores das proteases por cromatografia de afinidade não melhorou muito o valor nutricional da soja (Kakade *et al.* 1973). Esta observação é atribuída ao efeito antigénico de certos constituintes do alimento (Kilshaw e Sissons 1979b, Sissons 1982). Este problema é particularmente observado no vitelo pré-ruminante que consome leites de substituição que incluam proteínas da soja na sua constituição mas tem sido igualmente observado com as proteínas da ervilha (Bush *et al.* 1992a) ou do glúten de trigo (Kilshaw e Slade 1982). Os problemas de hipersensibilidade digestiva às proteínas vegetais foram igualmente observados no porco,

embora transitoriamente, no decurso do desmame, mas sem alterar o desempenho dos animais a médio e longo termo (revisto por Lallès *et al.* 1993c). O problema da hipersensibilidade digestiva às proteínas vegetais atinge, a diversos níveis, cerca de 50% dos vitelos com prognóstico fatal para 5 a 10% destes, se mantidos no mesmo alimento. A susceptibilidade individual dos vitelos à hipersensibilidade alimentar tem certamente uma base genética (van Dijk *et al.* 1988) não estudada até ao presente. No que concerne ao efeito da idade dos animais sobre a sua sensibilidade às proteínas vegetais, os resultados têm sido contraditórios (revisto por Lallès 1993a).

#### **II.2.2.2.3.3.1. Etiologia e patogénese da hipersensibilidade alimentar**

Os sintomas da hipersensibilidade alimentar são essencialmente intestinais. A ingestão de um número variável de refeições, com base na farinha de soja tratada termicamente, induz progressivamente um retardamento no tempo de evacuação gástrica, acompanhado de uma aceleração do trânsito intestinal e de uma elevação do volume dos digesta, do que resultam diarreias (Sissons e Smith 1976, Smith e Sissons 1975). Esta observação resulta de uma diminuição da intensidade da actividade mioeléctrica antral e de uma velocidade de propagação acrescida dos complexos mioeléctricos migrantes do intestino delgado (Sissons *et al.* 1987). A elevação da actividade motriz do intestino, em parte responsável pelas diarreias, pode ser resultado dos efeitos de certos mediadores de inflamação (Crow e Perdue 1992). A diarreia é talvez acentuada pelo efeito osmótico da presença de produtos não ou parcialmente degradados no intestino (Sissons *et al.* 1989). Estas não parecem ser causadas pelos oligosídeos da soja ou por uma hiperproliferação microbiana no intestino (Lallès 1993a). As perturbações digestivas e motrizes desaparecem logo que uma refeição à base de caseína ou de produtos derivados da soja, desprovidos de actividade antigénica, é distribuída aos vitelos.

Ao plano histológico, as alterações observadas incluem uma atrofia vilositária associada ao aprofundamento das criptas epiteliais ao longo do intestino delgado (Barratt *et al.* 1979). O índice mitótico dos enterócitos foi também drasticamente reduzido (Grant

1989). As referidas alterações foram específicas dos antigéneos da soja e reversíveis quando a caseína, o leite ou proteínas de soja não antigénica foram oferecidos aos animais sensibilizados (Sissons 1982, Pederson 1986). A capacidade intestinal para absorver activamente os nutrientes diminui (Seegraber e Morrill 1979, 1982, 1986) já que a referida atrofia vilositária conduz a uma redução da superfície epitelial. A restauração da mucosa intacta requer 10 a 15 dias de alimentação láctea (Kilshaw e Slade 1982, Seegraber e Morrill 1986). As modificações histológicas do intestino manifestam-se de novo 24 horas após a ingestão de uma refeição que contenha soja antigénica (Kilshaw e Slade 1982).

Os constituintes alimentares responsáveis por esta hipersensibilidade não foram identificados de forma precisa em algum estudo. No entanto, Sissons *et al.* (1982) puseram em evidência uma relação entre os níveis de glicinina e de  $\beta$ -conglucina dos alimentos e as perturbações observadas *in vivo*. Estas proteínas são particularmente resistentes aos tratamentos térmicos convencionais e menos sensíveis que as proteínas do leite à proteólise pelos enzimas gastrointestinais (Sissons e Thurston 1984), o que favorece a sua passagem através do epitélio intestinal.

A sensibilização oral dos animais manifesta-se sobretudo pela produção massiva de anticorpos circulantes específicos das globulinas antigénicas (glicinina e  $\beta$ -conglucina da soja, e legumina da ervilha) (Kilshaw e Sissons 1979a, Nunes do Prado 1989b). As IgG1 são as mais abundantes, seguidas das IgG2, das IgA e das IgM (Barratt e Porter 1979, Kilshaw 1981, Heppell *et al.* 1989). A presença de IgE foi também posta em evidência, de forma precoce e transitória, em alguns animais (Barratt *et al.* 1979, Kilshaw e Sissons 1979a). O vitelo não manifesta tolerância, mesmo depois da ingestão prolongada de alimentos que incluam soja, a avaliar pela persistência de níveis elevados de anticorpos circulantes e perturbações digestivas. Esta observação pode dever-se em parte a uma fraca quantidade e/ou afinidade das IgA e IgM secretadas localmente que asseguram a primeira protecção contra a absorção dos antigéneos que se encontram no conteúdo digestivo (Barratt *et al.* 1979). Alguns vitelos podem ainda produzir anticorpos contra proteínas homólogas (fracções das albuminas e caseínas do leite de vaca, Kilshaw e Sissons 1979a),

indicando um profundo desregulamento imunitário. Os tratamentos que suprimem a aptidão das proteína da soja de provocar a formação de anticorpos, permitem melhorar a sua utilização pelo vitelo. Isto não é, no entanto, suficiente para estabelecer implicações dos anticorpos nos problemas observados, não sendo a actividade antigénica sinónimo de actividade alérgica.

Outras proteínas de substituição como as do glúten de trigo, quando este fornece a totalidade das matérias azotadas do alimento, são também capazes de induzir uma hipersensibilização do tubo digestivo sendo responsáveis por alterações da parede intestinal (atrofia das vilosidades) e a formação de anticorpos (Kilshaw e Slade 1982). Os resultados obtidos por Toullec e Grongnet (1990) mostraram igualmente que as proteínas de glúten de trigo e milho têm actividade antigénica embora a sua incorporação moderada no alimento (19% do total da proteína) não tenha posto em evidência nenhum sintoma de actividade alérgica.

#### **II.2.2.2.3.3.2. Alterações da capacidade de absorção intestinal**

O epitélio intestinal, no que respeita à sua permeabilidade às moléculas, pensa-se que funciona como uma barreira composta por um número grande de pequenos poros e pequeno de grandes poros. Os pequenos poros permitem a difusão de pequenos marcadores como monossacaridos e excluem a passagem de marcadores maiores, isto é, de grandes moléculas como oligossacaridos, enquanto que os grandes poros permitem a difusão de ambos. Aceita-se de uma forma geral que os grandes poros estão localizados nas junções selantes. Foram descritas duas hipóteses sobre a localização dos pequenos poros e a consequente via de difusão dos pequenos marcadores: o modelo transcelular formulado por Menzies (1984) e o modelo paracelular formulado por Holander (1993). Segundo o modelo transcelular as moléculas como o D-manitol ou de menor raio podem penetrar livremente através dos numerosos pequenos poros situados nas membranas celulares dos enterocitos da mucosa, enquanto que as de maior dimensão podem apenas passar muito lentamente pelos grandes poros paracelulares, de fraca incidência. O modelo paracelular baseia-se nas

diferenças de estrutura e acessibilidade das junções selantes das vilosidades e criptas aos compostos do lúmen. As junções selantes das vilosidades apresentam mais cadeias estruturais e estipulam uma permeabilidade selectiva a solutos com a dimensão do D-manitol ou inferior, enquanto que as junções selantes das criptas apresentam menos cadeias e são permeáveis às moléculas de ambos tamanhos, mas são menos acessíveis para as substâncias do lúmen em comparação com as junções selantes das vilosidades. Segundo qualquer uma destas teorias, a permeabilidade a pequenos marcadores, é superior à observada para as grandes moléculas. No entanto, ambos Travis e Menzies (1992) e Hollander (1992) sublinham que a prova experimental das suas teorias é por enquanto escassa e que os mecanismos básicos que regulam a permeabilidade intestinal aos marcadores de diferentes tamanhos *in vivo* não estão, no presente, completamente compreendidos.

As alterações da permeabilidade do intestino devidas a uma variedade de doenças intestinais, de natureza infecciosa ou não, reflectem-se por uma elevação da excreção urinária de grandes moléculas associada ou não a um decréscimo de excreção dos pequenos marcadores (Travis e Menzies 1992).

Os produtos com origem na soja insuficientemente processada contendo quantidades substanciais de proteínas de armazenamento quase nativas, como a glicinina e a  $\beta$ -conglucina, são responsáveis por alterações da permeabilidade do intestino. Com efeito, a permeabilidade intestinal a macromoléculas como a  $\beta$ -lactoglobulina aumentou após a administração de dietas líquidas contendo farinha de soja tratada termicamente. Os vitelos utilizados no ensaio foram previamente sensibilizados para o efeito antigénico da farinha de soja (Kilshaw e Slade 1980). Esta observação traduz provavelmente a inflamação aguda do intestino, resultante da reacção de hipersensibilidade imediata aos antígenos da dieta. Em vitelos que receberam regularmente leites de substituição baseados na soja, a absorção intestinal de pequenas moléculas foi reduzida, pelo menos no que concerne à D-xilose (Seegraber e Morrill 1986). No entanto, a sua excreção na urina foi também inferior quando da utilização de um concentrado de proteína de peixe, e em menor extensão com a caseína (Seegraber e Morrill 1986), sugerindo a possível influência da evacuação abomasal e da

natureza da proteína. O efeito dos antigéneos da soja na absorção da D-xilose foi estudado por Mir *et al.* (1993). Estes autores observaram um menor pico de concentração plasmática de D-xilose com o produto de soja mais antigénico em vitelos com 33 dias de idade, mas não nos animais com 21 ou 45 dias, após o início do consumo das dietas baseadas na soja. Ainda segundo os autores, observou-se uma relação significativa, mas fraca, entre o pico de concentração de D-xilose no plasma e o nível de anticorpos dirigidos contra a soja.

A utilização de marcadores duais, isto é, a administração de marcadores grandes associados a pequenos, tem sido proposta para contornar fontes de erro, incluindo a evacuação gástrica, a motilidade intestinal e o tempo do trânsito digestivo, inerentes a todos os testes de marcadores singulares. Nestas condições, as alterações da permeabilidade do intestino traduzem-se geralmente pela elevação da relação de excreção urinária de grande / pequeno marcador (Travis e Menzies 1992). A avaliação da permeabilidade intestinal, em indivíduos sãos ou doentes, utilizando testes de marcadores duais (Cr-EDTA ou di- ou tri-sacaridos associados a monossacaridos) tem-se tornado divulgada em humanos (André *et al.* 1987, 1990) e em animais como cães (Hall e Batt 1991b) e gatos (Papasouliotis *et al.* 1993). No Quadro II.10 é apresentada uma síntese de valores controle de excreção urinária de alguns açúcares obtidos em várias espécies. No entanto, o comportamento dos açúcares utilizados como provas de permeabilidade intestinal não é conhecido no vitelo pré-ruminante.

#### **II.2.2.2.3.4. Outros factores antinutricionais**

Os oligosidos presentes na maioria das leguminosas podem ser responsáveis por flatulência e diarreias nos vitelos (Barr 1981). Estes podem ter apenas um impacto marginal na resposta do intestino, pelo menos em animais sensibilizados (Sissons *et al.* 1987, Duvaux 1989). As saponinas são substâncias tóxicas capazes de induzir a hemólise e perturbações na permeabilidade intestinal. Os fitatos ligam-se a certos catiões (cálcio, magnésio, zinco, cobre, ferro) e tornam-nos pouco disponíveis (Jaffé 1981). Estes podem ter igualmente um efeito inibidor directo sobre a actividade de certos enzimas proteolíticos ou indirectamente

pela diminuição da disponibilidade de cálcio necessário à actividade desses enzimas (Liener 1989). Os taninos são capazes de se complexar às proteínas e glúcidos e de os tornar mais resistentes à degradação enzimática (Reddy *et al.* 1985). Estes podem também inibir a actividade enzimática das proteases e amilases. Os outros efeitos tóxicos dos taninos concernem a alterações dos tecidos intestinais, a interferências com a absorção do ferro e provavelmente efeitos cancerígenos (Liener 1989). Os compostos fenólicos presentes na soja (total) têm sido também indicados (mas não confirmado) como causa nas sensibilidades à dieta e mortalidade de vitelos (Gardner *et al.* 1991). Finalmente, os alcalóides podem ser responsáveis por fenómenos de intoxicação. Os seus efeitos incluem uma diminuição da ingestão voluntária, vômitos e uma redução no crescimento (Ballester *et al.* 1980).

### **II.3. DIGESTIBILIDADE DAS MATÉRIAS AZOTADAS E ORIGEM DAS FRACÇÕES INDIGERIDAS**

#### **II.3.1. Digestibilidade fecal aparente das matérias azotadas**

No vitelo pré-ruminante com mais de 4 semanas de idade, a digestibilidade fecal aparente das matérias azotadas do leite é muito elevada e aproximadamente 0,94 (valor médio obtido a partir de 7 ensaios realizados no I.N.R.A.). No entanto, quando a coagulação do leite no abomaso é impedida por diversos tratamentos químicos (citrato, ácido clorídrico, oxalato) ou enzimáticos (quimosina, pancreatina), a digestibilidade aparente do N tende a diminuir (Toullec *et al.* 1974, Jenkins e Emmons 1982, Petit *et al.* 1988, 1989).

Também a substituição das proteínas lácteas por outras proteínas é geralmente responsável por uma diminuição da digestibilidade aparente do N, tanto mais marcada quanto maior for a sua taxa de incorporação. No entanto, os tratamentos tecnológicos adequados permitem melhorar a sua utilização pelo vitelo. Quando a taxa de incorporação ultrapassa 30 a 40%, os concentrados são melhor utilizados que as farinhas (revisto por



Lallès 1993a). A influência da natureza e da taxa de incorporação de matérias azotadas de substituição sobre a digestibilidade aparente do N tem sido objecto de variados trabalhos e numerosos resultados têm sido publicados sobre o assunto. No entanto, a diversidade de condições experimentais (idade dos animais, nível de alimentação, taxa proteica e outros constituintes do alimento, etc...) complicam comparações gerais. No Quadro II.11 são apresentados alguns resultados de digestibilidade aparente de diversas matérias azotadas de substituição obtidos em animais com idades superiores a um mês.

A soja, que é a principal fonte de proteínas não lácteas, oferece produtos muito diversificados: farinhas, bagaços, concentrados, isolados.... Os bagaços de soja obtidos dos grãos descorticados apresentam uma digestibilidade fecal nitidamente inferior à do leite (pelo menos 20%). O mesmo se observa para os concentrados e isolados cujas actividades antigénicas não foram suficientemente inactivadas. Quando são desprovidos de actividade antigénica (tratamento em solução aquosa etanólica a quente) os concentrados apresentam digestibilidades mais satisfatórias mas que permanecem ainda inferiores (de 8 a 12%) à observada com o leite. Certos isolados podem apresentar digestibilidades próximas das do leite.

O glúten de trigo parcialmente hidrolisado apresenta elevados valores de digestibilidade fecal (Tolman e Demeersman 1991). A substituição de 37,5 e 75% das proteínas de origem láctea pelas de um glúten de trigo solubilizado resultou numa diminuição da digestibilidade aparente das matérias azotadas (5 e 16% inferior à do leite, respectivamente, Toullec e Guilloteau, resultados não publicados). No entanto, pouco se sabe sobre a digestão do glúten de trigo nativo (Toullec e Grongnet 1990). Segundo estes autores, a substituição de 19% das proteínas do leite pelas de um glúten de trigo vital ou desvitalizado permite obter resultados satisfatórios. Os valores elevados observados para a digestibilidade aparente do N (0,93 a 0,94, respectivamente) foram idênticos aos observados com os melhores concentrados proteicos de lactosoro (Grongnet *et al.* 1981).

Entre outros produtos de origem vegetal, os concentrados de proteína de batata apresentaram valores de digestibilidade próximos dos obtidos com os concentrados de soja

tratados a álcool. A digestibilidade aparente do N de alimentos incorporando 50 e 75% das matérias azotadas provenientes da batata representou 88 e 87%, respectivamente, do valor observado com o leite (Toullec e Coroller, resultados não publicados). Valores de digestibilidade similares (89% da digestibilidade do leite) foram registados por Noordewier e van Kempen (1983a) ao substituírem 79 a 84% das proteínas lácteas por proteínas da batata.

### II.3.2. Relações entre as digestibilidades ileal e fecal aparentes

A digestibilidade ileal é melhor aferidor que a digestibilidade fecal para avaliar e prever a utilização dos AA, uma vez que o ganho aparente do N no intestino grosso tem um valor limitado para o animal monogástrico (Sauer e Ozimek 1986). As diferenças na digestão da proteína entre dietas são frequentemente mascaradas pelo metabolismo microbiano do intestino grosso (Guilloteau *et al.* 1986b). A composição em AA dos digesta varia bastante mais que a das fezes com a natureza das proteínas alimentares (Patureau-Mirand *et al.* 1977, Guilloteau *et al.* 1980) sendo bastante mais útil para determinar a natureza das proteínas que escapam à digestão no intestino delgado. Existe, no entanto, uma relação significativa entre as digestibilidades ileal e fecal aparentes ( $di_a$  e  $df_a$ ) das matérias azotadas provenientes de diversas fontes proteicas, sendo a primeira na maioria dos casos inferior à segunda ( $di_a = 1,25df_a - 26,9$ ;  $n = 27$ ,  $r = 0,89$ ,  $p < 0,01$ ) (Lallès e Toullec 1991).

A digestibilidade ileal aparente das matérias azotadas do leite é inferior apenas em 2 a 3 pontos percentuais em relação à digestibilidade fecal. Esta observação traduz uma importante digestão ao nível do intestino delgado e uma fraca absorção de matérias azotadas ao nível do intestino grosso. A maior parte das fontes proteicas de substituição estudadas são classificadas, em termos de digestibilidade aparente, de forma idêntica ao nível ileal e ao nível fecal. No entanto, em certos casos (proteínas da ervilha, Bush *et al.* 1991) a digestibilidade ileal aparente pode ser mais elevada que a determinada ao nível das fezes. Esta produção de matérias azotadas no intestino grosso explica-se essencialmente por

uma fermentação dos glúcidos pouco ou não digeridos no intestino delgado, responsáveis pelo desenvolvimento mais importante da flora do intestino grosso (Peyraud 1983), permitindo um acréscimo da síntese de matérias azotadas microbianas. Estes fenómenos podem assim mascarar o valor real das proteínas quando estudadas ao nível fecal e justificam o interesse de estudar também a sua digestibilidade ileal.

### **II.3.3. Digestibilidade ileal das matérias azotadas**

#### **II.3.3.1. Digestibilidade ileal aparente**

Segundo os resultados obtidos em cinco ensaios de balanços ileais realizados no I.N.R.A., em vitelos com idades compreendidas entre os 2 e os 5 meses, recebendo alimentos com um teor em proteína de 22 a 25% com base na MS, proveniente exclusivamente do leite, a quantidade de N total indigerido no final do intestino delgado foi de  $2,8 \pm 0,3$  g / kg de MS ingerida, encontrando-se 59% sob a forma de AA (triptofano, ácido diaminopimérico e fracção amídica dos ácidos aspártico e glutâmico excluídos) (Quadro II.12). Valores próximos foram obtidos em condições similares na Holanda (van Weerden e Huisman 1978). Pelo contrário, valores mais elevados (de 4,3 a 6,5 g de N / kg de MS ingerida) foram observados na Grã-Bretanha e América do Norte (Sedgman *et al.* 1985, Petit *et al.* 1989) o que poderá dever-se a condições experimentais diferentes: qualidade dos alimentos, animais munidos de cânula duodenal além da cânula ileal, etc...O valor médio de 2,8 obtido no I.N.R.A. e Holanda difere um pouco do obtido com o leitão, recebendo um alimento contendo 16% de proteínas exclusivamente de origem láctea (2,3 g / kg de MS ingerida) procedendo-se à infusão de leucina marcada com N<sup>15</sup> (Souffrant 1991).

Os resultados experimentais indicam assim que a digestibilidade aparente do N do LPD, determinada no final do intestino delgado, é muito elevada no vitelo (0,91, média de 10 ensaios; Lallès 1993a). De forma análoga ao referido para a digestibilidade fecal, também a digestibilidade ileal tende a diminuir quando a coagulação do leite no abomaso é

impedida (de 0,03 a 0,05 para o N) (van Weerden *et al.* 1977, Petit *et al.* 1988, 1989). A digestibilidade ileal aparente dos AA de origem leiteira é igualmente muito elevada salvo a da trionina, cisteína e glicina para os quais os valores são inferiores de 6, 12 e 14%, respectivamente, em relação à média dos AA do leite (0,93) (Lallès e Toullec 1991).

Quando se procede à incorporação de proteínas de substituição observa-se uma diminuição da digestibilidade aparente do N, tomando como referência a do leite. No Quadro II.13 são apresentados valores da digestibilidade de algumas proteínas de substituição. No que respeita às proteínas do tremoço, não dispomos de dados referentes à sua digestibilidade *in vivo* no vitelo pré-ruminante. No entanto, foi demonstrado *in vitro* que a suplementação destas proteínas com AA sulfurados pode torna-las muito digestíveis. Nestas condições, a digestibilidade aparente do tremoço não processado ou tratado com uma solução etanólica foi de 84% para o *Lupinus mutabilis* e de 72,9 e 79,2% para o *Lupinus albus*, respectivamente, em comparação com 87% para a caseína (Schoeneberger *et al.* 1981).

Tomando como referência a digestibilidade dos AA do leite, a digestibilidade dos AA essenciais das dietas que incorporem proteínas de substituição é mais variável e fraca (Lallès e Toullec 1991). Esta diminuição é sistemática com todos os AA, com excepção da cisteína com a qual se registaram valores mais elevados de 6 a 14%, no caso da utilização das proteínas do lactosoro e do trigo, respectivamente, fontes proteicas particularmente ricas neste AA (resultados I.N.R.A.).

### **II.3.3.2. Composição dos digesta em ácidos aminados e origem das fracções indigeridas**

Quando as proteínas do alimento provêm na sua totalidade do leite, a composição em AA do digesta ileal varia muito pouco com o débito e o momento após a refeição (Guilloteau *et al.* 1986b). A composição em AA difere sempre consideravelmente das diversas proteínas do leite. Por exemplo, os digesta são duas vezes mais ricos em trionina e em hexosaminas, reflectindo a presença de uma grande proporção de proteínas endógenas.

A composição em AA dos digesta é também muito diferente da das proteínas das fezes, contendo quatro vezes menos ácido diaminopimélico, o que indica que a proporção de proteínas bacterianas é claramente inferior. Quando a caseína é substituída pelas proteínas da soja tratada a álcool ou de peixe hidrolisado, a composição em AA dos digesta é vizinha da observada com o leite quando o débito é mínimo, mas afastando-se consideravelmente quando o débito aumenta. Esta observação sugere assim que exista uma mistura comum de proteínas endógenas e microbianas que escapam à digestão do intestino delgado do vitelo pré-ruminante, independentemente da natureza das proteínas ingeridas. As partes respectivas destas fracções podem ser estimadas determinando a mistura teórica de modelos de proteínas endógena e bacteriana que mais se aproxime da efectivamente observada. A composição média das fezes do borrego axénico (Combe 1976) e do mecónio do vitelo (Grongnet *et al.* 1981) pode ser utilizada como modelo de proteínas endógenas indigeridas não modificadas pela flora. A composição média da bactéria fecal do porco (Mason *et al.* 1976) e da ovelha (Mason 1979) pode ser utilizada para representar a composição das bactérias que se desenvolvem na porção terminal do íleo. Nestas condições, a mistura comum de proteínas indigeridas compreende 65% de proteínas endógenas e 35% de proteínas bacterianas.

Quando se procede à incorporação de matérias azotadas de substituição, o fluxo de proteínas indigeridas eleva-se. Por vezes, a composição de AA dos digesta não é consideravelmente modificada. Isto indica que a proporção de proteínas alimentares permanece pouco importante e que são as quantidades de proteínas endógenas e bacterianas indigeridas que aumentam. É nomeadamente o caso das proteínas do lactosoro, da ervilha e da soja hidrolisada (Nunes do Prado *et al.* 1989a, Bush *et al.* 1992a, Caugant *et al.* 1993b). Assim, admitindo que a legumina indigerida, com um alimento no qual 35% das proteínas são provenientes de ervilha não processada, é representativa do conjunto das proteínas da ervilha, estas representariam apenas 7% do total das proteínas indigeridas. Pelo contrário, a quantidade de tripsina é multiplicada por 3,2 com a ervilha não processada (Lallès 1993a) e a de proteína bacteriana por 1,7 com uma soja tratada a álcool (Guilloteau *et al.* 1986b);

esta aumenta com a quantidade de glúcidos no intestino delgado. Também no leitão, a utilização da técnica de infusão de leucina marcada com N<sup>15</sup> demonstrou que a substituição do leite em pó por um concentrado de soja foi responsável por um acréscimo da quantidade de N endógeno indigerido no intestino delgado (Makkink e Heinz 1991).

Mais frequentemente, a incorporação de proteínas de substituição é acompanhada de alterações importantes na composição de AA dos digesta (revisto por Toullec *et al.* 1983). Estas alterações explicam-se por uma elevação da proporção de proteínas alimentares intactas ou pouco degradadas, confirmando a sua maior resistência à proteólise gastrointestinal. Esta situação é particularmente observada no caso da soja (Khorasani *et al.* 1989a,b, Tukur *et al.* 1993) e do glúten trigo (Bush *et al.* 1992b). No entanto, exceptuando-se o caso da soja de elevada actividade antigénica (Duvaux *et al.* 1990b), a composição dos digesta é muito diferente da dos alimentos, não só por causa das proteínas endógenas e bacterianas, mas também devido ao facto de serem fracções alimentares particulares que escapam à digestão. Com efeito, algumas proteínas não lácteas encontram-se em parte sob a forma imunoreactiva na porção terminal do intestino delgado. É o caso da legumina da ervilha, assim como o da glicinina, da  $\alpha$ - e  $\beta$ -conglucina da soja, cujas quantidades detectadas correspondem em média a 2, 10, 1 e 1% das quantidades ingeridas (Bush *et al.* 1992a, Tukur *et al.* 1993). Estas quantidades não representam, no entanto, a totalidade das proteínas indigeridas já que certas fracções não são reconhecidas pelos anticorpos preparados contra as respectivas formas nativas ou porque foram transformadas em proteínas microbianas. Admitindo que a glicinina, a  $\alpha$ - e a  $\beta$ -conglucina indigeridas com um alimento no qual metade das proteínas são provenientes de um bagaço de soja de actividade antigénica moderada sejam representativas do conjunto das proteínas da soja, estas constituiriam em média 30% das proteínas indigeridas (Tukur *et al.* 1993). A composição das fracções alimentares que escapam à digestão pode ser estimada calculando a do suplemento proteico indigerido resultante da substituição das proteínas do leite. A composição do suplemento indigerido varia então muito com a origem e o tratamento a que as proteínas foram submetidas (resultados I.N.R.A.). Com os produtos provenientes da

soja, sobretudo com concentrados tratados a álcool, o suplemento indigerido foi particularmente rico em ácido aspártico e ácido glutâmico. Esta observação sugere que este seja em grande parte constituído por fracções de sub-unidades A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub> da glicinina (Moreira *et al.* 1979) que escapam à digestão do intestino delgado. No caso das proteínas do trigo, as fracções indigeridas foram muito ricas em ácido glutâmico e em prolina (Bush *et al.* 1992b).

### II.3.3.3. Digestibilidade real

No vitelo pré-ruminante que recebe exclusivamente proteína de origem láctea na sua alimentação, a proporção de proteínas de origem alimentar, endógenas e bacterianas representam, respectivamente 18, 51 e 31% da mistura comum de proteínas não digeridas na porção terminal do íleo. A mistura comum de proteínas endógenas e bacterianas que escapam à digestão representa assim a quase totalidade das fracções indigeridas. Esta observação sugere que a digestibilidade real das proteínas do leite seja muito elevada (0,98, Lallés 1993a), traduzindo a sua importante susceptibilidade à degradação enzimática e a sua elevada absorção ao nível do intestino delgado. A digestibilidade real dos AA é igualmente muito elevada podendo ser considerada igual a 1. As respectivas fracções das proteínas bacterianas provenientes da transformação do N alimentar e do N endógeno não são conhecidas. No entanto, esta última é provavelmente predominante uma vez que a flora é mais abundante e actua principalmente na porção terminal do íleo, onde a digestão das proteínas lácteas está praticamente completa, o que não acontece com os aportes endógenos (Mylrea 1966). A marcação de proteínas alimentares não permite determinar as suas proporções nos digesta devido à rápida incorporação dos produtos absorvidos nas secreções endógenas. Para melhor precisar estas duas fracções na proteína bacteriana será necessário recorrer a outras técnicas tais como a marcação das proteínas endógenas com N<sup>15</sup>.

Se as proteínas endógenas indigeridas não variassem quantitativamente e qualitativamente com a natureza das proteínas alimentares, a digestibilidade real das

matérias azotadas de substituição poderia ser calculada subtraindo as fracções indigeridas com o leite da das indigeridas com as outras proteínas. Isto não é completamente exacto, particularmente nos casos de intolerância digestiva. Segundo alguns autores, a incorporação da maior parte das proteínas de substituição, a taxas variáveis, não parece modificar o nível de secreções endógenas que abandonam o intestino delgado (4 a 5 g N / 100 g N) (Lallès e Toullec 1991). No entanto, a análise de certos resultados (Sedgman *et al.* 1985, Khorasani *et al.* 1989b, para as proteínas solúveis da carne) conduz a valores 2 a 3 vezes mais elevados. O valor elevado estimado a partir dos resultados de Bush *et al.* (1991) para a ervilha, após 4 semanas de ingestão da dieta, sugere que certas reacções de hipersensibilidade contribuam a fazer aumentar as perdas endógenas (e bacterianas) intestinais. A contribuição das proteínas bacterianas para o fluxo de matérias azotadas ileais parece ser mais variável que a das proteínas endógenas. Assim, o fluxo ileal bacteriano ( $Fi_B$ ) varia negativamente com a digestibilidade ileal aparente ( $di_a$ ) do extractivo não azotado (ENA),  $Fi_B = -30di_a ENA + 28,3$ ;  $n = 9$ ,  $r = 0,87$ ,  $p < 0,01$ ) (Lallès e Toullec 1991), isto é, o fluxo de proteínas microbianas (e assim a actividade de fermentação) aumenta com o dos glúcidos não digeridos no intestino delgado.

Face ao exposto, a correcção atendendo às quantidades indigeridas com o leite, não permite assim calcular a digestibilidade real, mas sim apenas a digestibilidade verdadeira. De uma forma geral, a digestibilidade estimada para as proteínas de substituição é inferior à das proteínas do leite, podendo esta ser melhorada por tratamentos tecnológicos adequados (Quadro II.13).

A determinação da digestibilidade real das proteínas de substituição correntemente utilizadas na alimentação do vitelo pré-ruminante requer técnicas directas como por exemplo a infusão endovenosa de leucina marcada com  $N^{15}$ . A digestibilidade verdadeira, apesar das vantagens sobre a digestibilidade aparente não é, no entanto, um critério suficiente para determinar as interacções entre o tubo digestivo e as fontes proteicas; estas podem afectar as secreções, as descamações, o estado e renovação da mucosa intestinal, a actividade da flora, etc..., por razões mecânicas ou devido à presença de factores



antinutricionais ou alergénicos. As fracções endógenas são digeridas na sua maior parte no intestino delgado; no entanto, se a sua produção é aumentada, a elevação da síntese proteica resultante tem um elevado custo. Este fenómeno, que foi ainda pouco explorado, poderá em certos casos contribuir para a redução do desempenho produtivo dos animais.

#### **II.4. CONCLUSÃO**

A fisiologia digestiva do vitelo pré-ruminante está adaptada à alimentação láctea. A coagulação das caseínas no abomaso permite a chegada diferencial dos diversos constituintes do leite ao intestino delgado, mais ou menos hidrolisados pelos enzimas gástricos, onde estes são então digeridos com elevada eficácia. A coagulação joga igualmente um papel determinante na velocidade de evacuação gástrica e de absorção dos AA e lípidos.

A substituição da proteína láctea por outras fontes proteicas coloca alguns problemas sendo responsável por numerosas modificações da fisiologia digestiva do vitelo pré-ruminante. Estas alterações traduzem-se por uma modificação dos fluxos de matérias azotadas de origem alimentar, endógena e bacteriana, que atingem o intestino delgado, conduzindo a uma diminuição global da digestibilidade. Para uma melhor e maior utilização das diversas fontes de proteínas de substituição é preciso em primeiro lugar precisar o seu valor alimentar, estudando a sua digestão a diferentes níveis do tracto digestivo, e caracterizar a natureza bioquímica dos fluxos de proteínas alimentares resistentes à digestão.

Quadro II.1. Caracterização das proteínas do leite (adaptado de Malige 1982, Cheffel *et al.* 1985).

Proteína	Concentração (g / l)	Massas relativas
Caseínas		
- $\alpha_s1$	10	23600
- $\alpha_s2$	2,6	25200
- $\beta$	9,3	24000
- $\kappa$	3,3	19000
Proteínas do lactosoro		
Imunoglobulinas	0,6 a 0,9	-
Albuminas		
- $\beta$ -lactoglobulinas	3,0 a 3,9	18000
- $\alpha$ -lactalbumina	1,0 a 1,5	14000
- albumina sérica	0,3 a 0,6	69000
Peptidos da degradação		
- composto 8	0,6	4 a 10000
- composto 5	-	14000

Quadro II.2. Evolução, em função da idade, das actividades dos enzimas proteolíticos intervenientes na digestão das matérias azotadas (unidades / kg peso vivo, em % dos valores observados aos 2 dias de vida) (adaptado de Le Hüerou *et al.* 1990).

Enzimas	Idade (dias)	
	28	119
Abomaso		
- quimosina	0,65	0,22*
- pepsina	1,21	0,63
Pâncreas		
- tripsina	2,48	1,28
- quimotripsina	2,44*	3,07*
- elastase	2,43*	2,53*
- carboxipeptidase A	2,31*	2,13*
- carboxipeptidase B	2,88*	2,27*
- ribonuclease	1,80*	2,32*
Intestino delgado		
- aminopeptidase A	0,34*	0,47*
- aminopeptidase N	0,21*	0,31*

\* diferença significativa em relação a 2 dias de vida ( $p \leq 0,05$ ).

Quadro II.3. Composição bioquímica (% da matéria seca) de alguns grãos de leguminosas (Guéguen 1983, Eggum *et al.* 1993).

	Matérias azotadas (N x 6,25)	Lípidos	Fibras	Amido
Soja ( <i>Glycine max</i> )	42,8	19,6	5,5	<1
Tremoço ( <i>Lupinus albus</i> )	39,5	12,5	13,4	<1
Fava ( <i>Vicia faba</i> )	34,5	1,8	2,4	47,0
Ervilha <sup>1</sup> ( <i>Pisum sativum</i> )	24,4	2,0	ND	48,6
Ervilhaca ( <i>Cicer arietinum</i> )	19,5	7,4	3,3	50,0

<sup>1</sup> ND: não determinado

Quadro II.4. Massas relativas das principais globulinas da soja e das suas sub-unidades (Koshiyama *et al.* 1981, Guéguen e Azanza 1985, Guéguen *et al.* 1993).

Proteínas	Massas relativas
Glicinina (fracção 11S)	310000 - 380000
- polipeptidos ácidos	35000 - 40000
- polipeptidos básicos	19000 - 22000
$\beta$ -Conglicinina (fracção 7S)	140000 - 180000
- sub-unidades ácidas $\alpha$	57000 - 72000
- sub-unidades básicas $\alpha'$	53000 - 76000
- sub-unidades básicas $\beta$	53000 - 58000
$\alpha$ -Conglicinina (fracção 2S)	20000 - 23000

Quadro II.5. Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA determinados) das principais proteínas da soja e do tremçoço.

AA <sup>1</sup>	Soja			Tremçoço		
	Glicinina		$\beta$ -Conglicinina <sup>5</sup>	$\alpha$ -Conglutina <sup>6</sup>	$\beta$ -Conglutina <sup>6</sup>	
	(11S)					(7S)
	inteira <sup>2</sup>	polipeptidos	polipeptidos			
	ácidos <sup>3</sup>	básicos <sup>4</sup>				
ASP	11,91	11,72	11,71	13,35	10,38	12,71
TRI	3,48	3,70	3,79	2,66	4,37	2,85
SER	4,80	6,26	6,10	6,40	4,56	5,75
GLU	24,08	23,93	13,37	19,37	24,45	25,48
PRO	5,70	7,06	4,68	4,09	4,41	4,17
GLI	4,30	6,13	4,27	2,69	4,13	3,67
ALA	4,23	3,17	5,02	3,50	2,77	2,80
VAL	4,68	3,89	9,03	4,80	3,90	2,93
CIS	0,59	1,41	1,01	0,25	1,21	0,01
MET	1,49	1,02	1,09	0,24	0,04	0,01
ILE	4,15	4,52	4,54	6,05	5,68	4,26
LEU	7,08	6,41	9,51	9,69	8,18	7,00
TIR	3,68	2,44	5,44	3,41	5,13	5,76
FEN	5,85	3,07	5,24	6,98	3,92	4,26
LIS	4,40	5,20	4,23	6,62	1,98	3,67
HIS	2,05	2,81	2,47	1,58	3,84	1,43
ARG	7,56	7,25	8,36	8,33	11,05	13,24

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; VAL: valina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; LIS: lisina; HIS: histidina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> Okubo *et al.* (1969).

<sup>3,4</sup> Staswick *et al.* (1984), Hirano *et al.* (1985), Momma *et al.* (1985a,b), Negoro *et al.* (1985).

<sup>5</sup> Koshiyama (1968).

<sup>6</sup> Duranti *et al.* (1981).

Quadro II.6. Composição média em ácidos aminados (AA) (% dos AA determinados) das principais proteínas do trigo e de um glúten de trigo experimental.

AA <sup>1</sup>	Proteínas solúveis <sup>2</sup>	Gliadinas <sup>3</sup>	Gluteninas <sup>4</sup>	Glúten de trigo <sup>5</sup>	
				Vital	Desvitalizado
ASP	9,1	2,5	3,1	4,2	3,3
TRI	4,7	2,0	2,8	2,9	2,6
SER	5,6	3,9	5,4	4,7	4,4
GLU	17,8	41,5	41,6	34,5	37,3
PRO	6,7	13,6	12,3	11,0	12,2
GLI	5,5	2,4	4,7	3,5	3,4
ALA	6,5	1,9	2,6	2,9	2,6
VAL	-	8,6	-	4,3	4,0
CIS	6,7	3,8	4,1	2,7	2,8
MET	2,4	1,3	1,5	1,8	1,9
ILE	4,4	3,9	3,4	4,1	3,8
LEU	8,7	6,7	7,2	7,2	6,9
TIR	4,4	2,2	4,2	3,3	2,8
FEN	-	-	-	5,0	5,4
LIS	2,7	2,2	2,1	2,4	1,8
HIS	6,8	0,7	1,7	2,0	2,0
ARG	8,0	2,7	3,4	3,7	3,5

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; VAL: valina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; LIS: lisina; HIS: histidina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> Feillet (1976).

<sup>3</sup> Pepin (1981).

<sup>4</sup> Orth e Bushuk (1973).

<sup>5</sup> Toullec e Grongnet (1990).

Quadro II.7. Composição média em ácidos aminados (AA) das proteínas da batata e de um concentrado proteico experimental (g / 16 g azoto).

AA <sup>1</sup>	Batata <sup>2</sup>	Concentrado proteico <sup>3</sup>
ASP	12,5	12,3
TRI	6,5	5,4
SER	5,9	5,4
GLU	10,3	11,4
PRO	7,4	4,4
GLI	5,5	4,6
ALA	4,6	5,1
VAL	5,6	7,4
CIS	1,25	1,8
MET	1,95	2,4
ILE	5,5	6,0
LEU	9,9	10,7
TIR	5,7	6,0
FEN	4,8	6,7
LIS	10,1	8,1
HIS	2,5	2,2
ARG	5,4	5,5
TPF	1,8	1,1
N x 6,25 (% MS) <sup>4</sup>	-	86

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; VAL: valina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; LIS: lisina; HIS: histidina; ARG: arginina; TPF: triptofano.

<sup>2</sup> revisto por Davin (1985).

<sup>3</sup> Joussellin (1988).

<sup>3</sup> N: azoto; MS: matéria seca.



Quadro II.8. Composição (g / 16 g de azoto) em alguns ácidos aminados (AA) de algumas leguminosas, do leite de vaca e do músculo do vitelo.

AA <sup>1</sup>	Soja <sup>2</sup>	Tremoço <sup>3</sup>	Ervilha <sup>2</sup>	Leite de vaca <sup>2</sup>	Músculo de vitelo <sup>2</sup>
TRI	3,7	3,7	3,7	3,3	4,6
PRO	5,7	4,3	4,1	9,4	4,8
GLI	4,7	4,0	4,8	1,9	6,1
ALA	4,8	3,5	4,9	3,3	6,7
CIS	1,5	1,7	1,5	0,8	1,2
MET	1,5	0,8	1,2	2,4	2,7
ILE	5,8	4,8	4,8	5,3	5,2
LIS	6,7	4,9	7,4	7,9	9,0
ARG	7,8	11,4	8,8	3,3	6,5
AA essenciais	46,5	41,4	44,3	44,2	46,5
AA não essenciais	62,4	57,5	56,3	52,9	53,5

<sup>1</sup> TRI: trionina; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> revisto por Lallès *et al.* (1993c).

<sup>3</sup> *Lupinus albus* (Eggum *et al.* 1993).

Quadro II.9. Modo de acção de alguns factores antinutricionais (adaptado de Huisman 1989, Huisman e Jansman 1991).

Factor antinutricional	Espécie	Efeito <i>in vivo</i>
Inibidores de proteases	rato, galinha, porco, vitelo	- inactivação dos enzimas proteolíticos
	rato, galinha, vitelo	- hipersecreção de enzimas pancreáticos
Lectinas	rato, porco	- alteração da mucosa intestinal
	rato, porco	- diminuição da actividade dos enzimas intestinais
	rato	- hipertrofia do tecido intestinal
	rato, porco, vitelo	- reacções imunológicas
	rato, galinha	
Proteínas antigénicas	rato, porco, vitelo	- reacções imunológicas
	porco, vitelo	- alteração da mucosa intestinal
	vitelo	- perturbações da motricidade digestiva, do trânsito e absorção
Oligosidos	rato, vitelo	- flatulência devida às fermentações bacterianas
Fitatos	galinha	- complexação dos minerais
		- complexação dos enzimas e proteínas alimentares
Taninos	rato, galinha, porco	- complexação dos enzimas e proteínas alimentares

Quadro II.10. Valores de referência de 5-6 horas de excreção urinária de açúcares marcadores em várias espécies.

Espécies	Idade média	Açúcares <sup>1</sup>	Excreção		Referência
			Oligossacarido (%)	urinária (5-6 h) razão	
Humanos	1 ano	L / Ma	0,04	3,7	Jalonen <i>et al.</i> (1991)
	Adulto	L / Ma	0,26	14,1	André <i>et al.</i> (1987)
Rato <sup>2</sup>	Adulto	L / Ra	NI	NI	Turner <i>et al.</i> (1988)
Cobaia <sup>2</sup>	<1 semana	L / Ma	NI	NI	Weaver <i>et al.</i> (1987)
Cão	1 ano	C / Ma	2,3	50	Hall e Batt (1991b)
	4-8 anos	L / Ra	1,8	16	Quigg <i>et al.</i> (1993)
Gato	5-12 anos	L / Ma	0,5	2,5	Papasouliotis <i>et al.</i> (1993)

<sup>1</sup> C: celobiose; L: lactulose; Ma: D-manitol; Ra: ramanose.

<sup>2</sup> NI: não indicado.

Quadro II.11. Digestibilidade fecal aparente (Da) de algumas matérias azotadas de substituição no vitelo pré-ruminante (em % do valor observado para o leite; medidas efectuadas depois de um mês de vida) (adaptado de Lallès e Toullec 1991).

Fonte proteica	TS <sup>1</sup>	Da	Referência
Soja			
- Bagaço <sup>2</sup>	73	78	Paruelle <i>et al.</i> (1972)
- Bagaço <sup>2</sup>	59	69	Lallès <i>et al.</i> (1991)
- Bagaço <sup>3</sup>	59	80	" "
- Concentrado <sup>2</sup>	59	64	" "
- Concentrado <sup>2</sup>	65	77	Toullec <i>et al.</i> (não publicado)
- Concentrado <sup>2</sup>	73	74	" "
- Concentrado <sup>3</sup>	74	92	Guilloteau <i>et al.</i> (1986b)
- Concentrado <sup>3</sup>	65	88	Toullec <i>et al.</i> (não publicado)
- Isolado <sup>3</sup>	73	98	Nunes do Prado <i>et al.</i> (1989a)
- Isolado (?)	50	82	Khorasani <i>et al.</i> (1989a)
- Isolado (?)	100	78	" "
- Hidrolisado	59	86	Lallès <i>et al.</i> (1991)
Ervilha descorticada			
- Não processada	34	76	Bush <i>et al.</i> (não publicado)
- Prégelatinizada	34	86	Nunes do Prado <i>et al.</i> (1989a)
Fava			
- Não processada	41	76	Toullec <i>et al.</i> (1980)
- Fermentada	75	83	" "
Glúten de trigo			
- Vital	19	99	Toullec e Grongnet (1990)
- Desvitalizado	19	98	" "
- Proteolisado	37,5	95	Toullec <i>et al.</i> (não publicado)
- Proteolisado	75	84	" "
Milho			
- Não hidrolisado	19	91	Toullec e Grongnet (1990)
- Hidrolisado	50	91	Toullec <i>et al.</i> (1977)
Batata	50	88	Toullec e Coroller (não publicado)
" "	75	87	" "
" "	79-84	89	Noordewier e van Kempen (1983a)
Luzerna	38	72	Toullec (1981)
Leveduras	73	84	Toullec (não publicado)
Bactérias (metanol)	50	95	Guilloteau <i>et al.</i> (1980)

<sup>1</sup> TS: taxa de substituição (em % das proteínas totais).

<sup>2</sup> produtos que apresentaram actividade antigénica.

<sup>3</sup> produtos desprovidos de actividade antigénica.

Quadro II.12. Quantidade de ácidos aminados (AA) e de azoto indigeridos, por kg de matéria seca ingerida, com alimentos cujas matérias azotadas foram provenientes de leite em pó desnatado.

AA <sup>1</sup>	I.N.R.A. <sup>2</sup>	van Weerden e Huisman (1978)	Petit <i>et</i> <i>al.</i> (1989)	Sedgman <i>et</i> <i>al.</i> (1985)
ASP	1,16 ± 0,17	1,72	1,54	3,94
TRI	1,13 ± 0,16	1,40	1,53	2,91
SER	0,81 ± 0,11	1,14	1,16	2,88
GLU	2,08 ± 0,29	2,64	2,16	6,68
PRO	0,85 ± 0,13	0,96	1,32	3,48
GLI	0,63 ± 0,06	0,64	0,78	1,50
ALA	0,73 ± 0,09	0,78	0,86	1,71
VAL	0,77 ± 0,09	1,04	0,78	1,98
CIS	0,41 ± 0,06	0,46	0,46	0,91
MET	0,16 ± 0,02	0,22	0,29	0,62
ILE	0,50 ± 0,07	0,65	0,48	1,41
LEU	0,83 ± 0,10	0,97	1,02	2,92
TIR	0,39 ± 0,06	0,49	0,55	1,47
FEN	0,45 ± 0,05	0,54	0,88	1,58
LIS	0,80 ± 0,08	1,14	0,74	2,98
HIS	0,28 ± 0,03	0,35	0,34	0,95
ARG	0,44 ± 0,07	0,61	0,76	1,20
N total	2,78 ± 0,26	2,94	4,32	6,52
NAA <sup>3</sup>	1,63 ± 0,20	2,08	2,49	5,07

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; VAL: valina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; LIS: lisina; HIS: histidina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> média de resultados obtidos em cinco ensaios realizados; I.N.R.A.: Laboratório do Jeune Ruminant, Rennes, França.

<sup>3</sup> azoto dos ácidos aminados analisados excepto o N-amídico dos ácidos aspártico e glutâmico.

Quadro II.13. Digestibilidade ileal aparente da dieta (Da, registada) e real da fonte proteica (Dr, estimada) e fluxo ileal de matérias azotadas de origem alimentar (Fa), endógena (Fe) e bacteriana (Fb) no vitelo pré-ruminante (adaptado de Lallès 1993c).

	TS <sup>1</sup>	Digestibilidade ileal		Fluxo ileal (% ingerida)		
		Da	Dr	Fa	Fe	Fb
Leite pó desnatado (LPD)	100	0,91	0,98	1,6	4,6	2,8
LPD não coagulável	100	0,84	0,98	1,6	7,0	7,0
Soja						
- Farinha	30	0,76	0,64	10,8	4,8	8,4
- Farinha	50	0,73	0,68	16,2	2,7	8,1
- Concentrado <sup>2</sup>	70	0,88	0,90	6,6	4,8	0,6
- Isolado	50	0,73	0,68	16,2	5,4	5,4
- Isolado	74	0,91	0,95	4,1	3,6	1,4
- Isolado	100	0,61	0,71	29,3	5,9	3,9
Ervilha						
- Não processada	34	0,89	0,92	2,8	3,3	5,0
- Farinha pré-gelatinizada	34	0,92	0,941	2,0	4,4	1,6
Glúten de trigo	75	0,85	0,86	-	-	-

<sup>1</sup> TS: taxa de substituição (em % das proteínas totais).

<sup>2</sup> tratado termicamente em solução hidro-etanólica

## CAPÍTULO III - OBJECTIVOS

A compreensão das causas da mais fraca utilização das proteínas de substituição feita pelo vitelo pré-ruminante e o alargamento da sua utilização requer informações bem precisas sobre a natureza das alterações causadas por estas fontes azotadas na fisiologia digestiva do animal. A caracterização dos mecanismos implicados na resposta dos animais às proteínas vegetais poder-nos-á permitir que estas sejam utilizadas com mais sucesso nos alimentos destinados ao vitelo pré-ruminante. Este trabalho tem assim como objectivo contribuir para o esclarecimento de alguns fenómenos de intolerância e/ou aspectos da utilização digestiva de proteínas vegetais, pelo vitelo pré-ruminante destinado à produção de carne cuja alimentação é constituída exclusivamente por leite de substituição até uma fase tardia do seu desenvolvimento. Note-se que este trabalho se enquadra numa linha de trabalho bastante vasta que tem vindo a ser desenvolvida nos últimos anos no Laboratório do Jeune Ruminant (I.N.R.A). Assim, os estudos já realizados sobre determinadas fontes proteicas e a escassez ou a inexistência sobre outras, faz com que no presente trabalho os objectivos e consequentemente as metodologias escolhidas para cada um dos grupos de proteínas consideradas sejam distintos.

A menor digestibilidade de algumas proteínas de origem vegetal, utilizadas na alimentação do vitelo pré-ruminante, é por vezes imputada ao efeito negativo que estas podem exercer sobre a capacidade de absorção intestinal do animal. Os marcadores simples, utilizados habitualmente para a avaliação da permeabilidade intestinal no vitelo pré-ruminante têm gerado alguma controvérsia sendo os resultados obtidos por vezes algo contraditórios sendo também variadas as considerações feitas acerca da sua utilização. A avaliação da permeabilidade intestinal, em indivíduos sãos ou doentes, utilizando testes de marcadores duais (misturas de oligossacaridos / monossacaridos) tem sido divulgada em várias espécies. O comportamento desses açucars não é no entanto conhecido no vitelo pré-ruminante. Assim, o nosso primeiro objectivo foi o de testar o comportamento e a validade de diversos marcadores (simples vs duais) como eficazes na avaliação de alterações

da permeabilidade intestinal em vitelos pré-ruminantes. Simultaneamente, pretendeu-se avaliar o efeito de vários produtos com origem na soja, processados de diferente forma, sobre a já referida alteração da capacidade de absorção intestinal.

A soja e o tremçoço são duas leguminosas que devido à sua composição são consideradas como potenciais fontes proteicas para incorporação em leites de substituição. A soja é a fonte proteica mais utilizada como alternativa à proteína láctea, tendo-lhe sido consagrados numerosos trabalhos. No entanto, os variados produtos derivados da soja e a diversidade de condições experimentais (idade dos animais, plano de alimentação, taxa proteica, etc) faz com que os resultados experimentais sejam por vezes contraditórios e complicadas as comparações gerais entre trabalhos publicados. No que respeita ao tremçoço pouco ou nada se sabe acerca da sua possível utilização como fonte de proteína neste tipo de alimento. Desconhecendo qualquer trabalho sobre o assunto foi nosso objectivo dar início a algum estudo relacionado com aspectos da sua utilização digestiva, estabelecendo diferenças e analogias com a fonte proteica alternativa mais divulgada para incorporação neste tipo de alimento, a soja.

Outras proteínas como as do trigo e as da batata são prometedoras como fonte proteica alternativa à proteína de origem láctea. Dietas ricas em proteína de trigo parcialmente hidrolisado apresentaram elevados valores de digestibilidade quer a nível fecal (Tolman e Demeersman 1991), quer a nível ileal (Bush *et al.* 1992b). No entanto, pouco se conhece sobre a digestão das proteínas do glúten de trigo nativo (Toullec e Grongnet 1990). No que respeita às proteínas da batata desconhecemos até ao presente qualquer trabalho sobre a sua utilização digestiva ao nível ileal. Face ao exposto, foi nosso objectivo desenvolver trabalhos que nos conduzam a um melhor conhecimento das fontes proteicas em questão e conseqüentemente a uma maior eficácia da sua utilização nos leites de substituição.

Para a concretização dos nossos objectivos realizaram-se três séries de experiências, utilizando-se as referidas alternativas à proteína de origem láctea e avaliando-se, em função destas, os parâmetros que na nossa opinião permitem avançar para uma maior e melhor utilização destas nos leites de substituição destinados à alimentação do vitelo pré-ruminante.



Os resultados obtidos nos ensaios levados a cabo permitiu retirar alguma informação com eventual interesse produtivo. Estes valores deverão ser considerados como acessórios aos objectivos fundamentais e o seu valor entendido como tal, dado que os ensaios não foram delineados para avaliar o desempenho produtivo dos animais.

## **CAPÍTULO IV - METODOLOGIA GERAL**

Este capítulo reporta-se a informações descritivas que no seu conjunto serviram de base às experiências realizadas: regime alimentar, animais utilizados, instalações e equipamentos e manejo geral dos animais.

### **IV.1. DIETAS LÍQUIDAS**

Durante o período que mediou a chegada dos animais ao laboratório e o início dos períodos experimentais todos os animais receberam um mesmo leite de substituição preparado a partir de um alimento de aleitamento completo comercial. Trata-se de uma dieta cujas proteínas foram na sua totalidade de origem láctea, tendo sido preparada de forma a conter aproximadamente 24% de proteína bruta (PB) e 19% de MG, com base na MS.

Durante os períodos em que se determinou a influência da natureza das proteínas os animais receberam dietas de composição particular que foram preparadas de acordo com o objectivo experimental e cujas composições e características dos constituintes são definidas na apresentação de cada experiência.

### **IV.2. ANIMAIS E ALIMENTAÇÃO**

Para este trabalho utilizou-se um total de 53 animais de raça Holstein, com idades compreendidas entre 1,5 e 3 meses de vida, e todos eles adquiridos no exterior com a idade média de 8 dias. Os animais utilizados foram colocados em observação antes de serem seleccionados, dentro de um grupo, para os ensaios experimentais. Os animais foram então reagrupados de acordo com o seu PV, ganho de peso vivo (GPV), estado de saúde,

ingestão alimentar e hematócrito (Hm) e posteriormente distribuídos aleatoriamente pelos diversos tratamentos.

No Quadro IV.14 apresenta-se o plano de alimentação seguido na rotina do laboratório para os animais que não se encontram nos ensaios experimentais. Este plano de alimentação foi utilizado nos períodos pré-experimentais de todos os ensaios levados a cabo neste trabalho, com um tempo de duração variável de acordo com a idade a que os animais iniciaram os períodos experimentais de cada um dos ensaios.

Durante os períodos experimentais, a quantidade de dieta oferecida aos animais, a qual é definida na apresentação de cada experiência, baseou-se no PV do animal no final da semana precedente, acrescido de 3 kg. As quantidades individuais de dieta líquida oferecidas aos animais foram ajustadas semanalmente ao seu PV.

Sempre que um animal recusou 1 kg ou mais da sua dieta, no decurso de duas refeições consecutivas, diminuiu-se a quantidade de alimento oferecida em 1,5 kg até à 8ª semana de presença inclusive ou em 2 kg seguidamente. Quando os animais deixaram de recusar a dieta, no decurso de duas refeições consecutivas, retornou-se à refeição normal em dois dias e de acordo com o seguinte esquema:

Dia	Quantidade de dieta
1º	+1 kg / refeição
2º	+1,5 ou 2 kg / refeição

As dietas experimentais foram introduzidas progressivamente na alimentação dos animais durante um período de 4 refeições, como descrito por Bush *et al.* (1992a), de acordo com o esquema:

Dia de transição	Regime alimentar	
	Dieta antiga (%)	Dieta nova (%)
1° (refeição 1)	25	75
2° (refeição 2)	50	50
2° (refeição 3)	75	25
3° (refeição 4)	100	0

Também a transição entre duas dietas diferentes, durante os períodos experimentais (experiências 2 e 3), fez-se sempre progressivamente e de acordo com o mesmo esquema, tendo tido início no 4º dia da semana da adaptação dos animais à dieta.

As dietas líquidas foram distribuídas aos animais à temperatura média de 37°C, em duas refeições diárias equitativas (8 horas e 30 minutos e 16 horas e 30 minutos). Estas foram oferecidas em baldes abertos ou mediante a infusão directa no abomaso, no caso dos ensaios de digestibilidade ileal (ensaios 2 das experiências 2 e 3) de forma a evitar eventuais rejeições do alimento.

#### IV.3. INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS

Todos os trabalhos que se apresentam decorreram nas instalações experimentais do Laboratório do Jeune Ruminant (I.N.R.A.), em Rennes (Le Rheu), França.

Os ensaios foram realizados num sala com temperatura do ambiente controlada a 18°C. Todos os animais foram colocados em caixas metabólicas de metal (1,15 x 1,7 m), imediatamente após a sua chegada ao laboratório, onde permaneceram até ao final do respectivo ensaio; as referidas caixas metabólicas foram concebidas de forma a permitir a recolha de fezes e urinas individualmente. Faz-se excepção aos animais fistulados que durante os 15 dias que se seguiram às cirurgias foram alojados sobre solo, em boxes individuais com cama de palha.

#### IV.4. MANEIO GERAL DOS ANIMAIS

Para todos os animais seguiu-se o protocolo geral de profilaxia, incluindo os tratamentos parasitários.

Alterações nos valores do Hm ao longo do tempo foram corrigidas, segundo o definido para a obtenção de uma cor de carne óptima, com uma adequada suplementação oral de sulfato ferroso solúvel (50 ml de solução por litro na refeição da manhã) de acordo com o esquema seguinte:

Idade (semanas de presença)	Tratamento
> 3	durante 7 dias se $20 \leq \text{Hm} \leq 25$
> 8	durante 7 dias se $\text{Hm} < 20$ , durante 5 dias se $20 \leq \text{Hm} \leq 25$
> 13	durante 5 dias se $\text{Hm} < 20$ , durante 4 dias se $20 \leq \text{Hm} \leq 25$

O PV de todos os animais foi registado semanalmente desde da sua chegada ao laboratório e até ao final do respectivo ensaio. As referidas pesagens realizaram-se a horas fixas antes da refeição da tarde, no último dia de cada semana.

#### IV.5. CÁLCULOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

Para a maior parte dos parâmetros estudados nos vários ensaios estabeleceu-se a média aritmética dos valores individuais de cada grupo. A população foi então definida por esta média aritmética e pelo erro padrão da média.

A análise estatística efectuada sobre os resultados obtidos será precisada na apresentação de cada experiência fazendo-se aqui referência apenas ao tratamento estatístico comum a todas as experiências. Assim, os efeitos das dietas foram estudados por análise de variância e as médias classificadas segundo o teste de Sheffé; no entanto, quando as variâncias não foram homogêneas recorreu-se aos testes não paramétricos de Friedman

ou de Kruskal-Wallis. O teste de Friedman foi ainda utilizado para analisar a influência do tempo ou da idade.

Por vezes, alguns dos resultados obtidos nos ensaios levados a cabo não nos permitiram detectar diferenças significativas entre grupos ( $p \leq 0,05$ ) embora estes tenham sugerido que tal se verificasse caso trabalhássemos com um número superior de animais. Esta suspeita resulta da constatação de variações fisiológicas individuais entre animais encontradas em alguns dos trabalhos realizados. Nestes casos, e sempre que nos pareceu relevante a informação que daí pudesse ser retirada, estes valores foram comentados, mas salvaguardando sempre o facto de não se terem registado diferenças significativas.

Quadro IV.14. Plano de alimentação dos animais durante o período pré-experimental e experiência 1 (2 refeições / dia).

Dia	Quantidade por refeição (g)		
	Leite em pó	Água	Total
1			Rehidratante
1 - 4	200	1500	1700
5 - 6	230	1570	1800
7	250	1750	2000
8 - 12	270	1730	2000
13	335	2165	2500
14 - 20	430	2570	3000
21 - 26	545	3255	3800
27- 35	710	3890	4400
36 - 42	800	4000	4800
43 - 49	820	4080	4900
50 - 56	840	4160	5000
57 - 63	950	4450	5400
64 -70	1000	4700	5700
71 - 77	1100	5000	6100
78 - 84	1150	5250	6400
85 - 91	1200	5400	6600
92 - 98	1200	5400	6600
99 - 105	1250	5550	6800
106 - 112	1300	5700	7000
113 - 119	1350	5950	7300
120 - 126	1350	5950	7300
127 - 133	1400	6200	7600
134 - 140	1400	6200	7600

# **CAPÍTULO V - EXPERIÊNCIA 1: AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A DIVERSOS MARCADORES NO VITELo PRÉ-RUMINANTE QUE INGERE PROTEÍNA DE SOJA**

A presente experiência foi conduzida de forma a testar a utilização de diversos marcadores (simples vs duais) na avaliação de alterações da permeabilidade intestinal em vitelos pré-ruminantes, e simultaneamente avaliar o efeito de vários produtos com origem na soja, processados de diferente forma, sobre eventuais alterações da capacidade de absorção intestinal.

## **V.1. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **V.1.1. Dietas experimentais**

#### **V.1.1.1. Caracterização das dietas experimentais**

Para o presente ensaio utilizou-se um produto experimental baseado num isolado de proteína de soja hidrolisado considerado não antigénico (IPSHE, Protein Technologies International, St-Louis, MO, USA) e dois produtos comerciais preparados a partir da soja, nomeadamente um concentrado proteico também considerado não antigénico (CSNA, Coopérative de Traitement des Produits de la Pêche, Boulogne sur Mer, France) e uma farinha tratada termicamente, considerada antigénica (FSA, Société Industrielle des Oléagineux, Bougival, France). O produto CSNA foi preparado por extração em água dos oligosídeos e o seu baixo nível de imunoreactividade antigénica sugere que tenha sido submetido adicionalmente a um tratamento físico-químico. Apenas o produto FSA exibiu níveis de imunoreactividade para a glicinina e  $\beta$ -conglícinina, determinados *in vitro* pelo



método ELISA (Tukur *et al.* 1993), cujos valores foram de 3,94 e 3,61 (% na PB), respectivamente.

Prepararam-se quatro dietas experimentais (testemunha, IPSHE, CSNA e FSA) de forma a conterem aproximadamente 20,5% de PB e 20% de MG (com base na MS) (Quadro V.15). Na dieta testemunha as proteínas foram provenientes exclusivamente de LPD e AA de síntese (Quadro V.16). Nas outras três dietas experimentais as proteínas foram maioritariamente (72% do total da proteína) provenientes dos referidos produtos baseados na soja sendo o restante proveniente de lactosoro em pó, concentrado proteico de lactosoro e AA de síntese (no caso das dietas CSNA e FSA). Os suplementos de L-lisina-HCl e DL-metionina foram calculados de forma a obter nas quatro dietas experimentais níveis totais de 1,8 e 0,9% de lisina e AA sulfurados, respectivamente. No caso particular da dieta IPSHE, o nível de incorporação de proteína de soja foi de apenas 56% já que o produto IPSHE consistiu numa mistura de um isolado de proteína de soja hidrolisado (75%) e lactosoro em pó adicionado de AA de síntese (25%). A inclusão nesta experiência de uma dieta com um nível de incorporação de proteína de soja inferior deveu-se ao facto de a composição do produto IPSHE só ter sido conhecida após o delineamento e execução do ensaio. No entanto, os resultados obtidos por outros autores (Lallés *et al.* 1995, Toullec *et al.* 1994) em trabalhos paralelos realizados simultaneamente nos mesmos animais, no que respeita à digestibilidade real da proteína de soja com a dieta IPSHE, foram idênticos aos que têm sido verificados normalmente com isolados de proteína de soja hidrolisados incorporados em níveis superiores. Esta observação sugere que o nível inferior de inclusão de proteína de soja na dieta IPSHE também não tenha tido influência nos resultados obtidos no presente ensaio, no que respeita ao comportamento dos marcadores utilizados, e assim esses resultados possam ser considerados como válidos.

### V.1.1.2. Preparação e distribuição das dietas experimentais

A dieta testemunha foi um alimento completo. As outras três dietas foram obtidas por mistura, no momento da sua utilização, de um alimento de base, de um dos produtos experimentais derivados da soja e de lactose, nas seguintes proporções (%):

Alimento	Dietas			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Alimento de base 1	100	—	—	—
Alimento de base 2	—	75,320	—	—
Alimento de base 3	—	—	72,607	—
Alimento de base 4	—	—	—	66,79
Isolado de soja	—	19,680	—	—
Concentrado de soja	—	—	22,393	—
Farinha de soja	—	—	—	31,03
Lactose	—	5	5	2,18

Após o período pré-experimental, cada um dos grupos de animais recebeu exclusivamente, e durante todo o período de ensaio, uma das quatro dietas experimentais preparadas.

### V.1.2. Animais e alimentação

Para o presente trabalho utilizou-se um total de 28 animais do sexo masculino distribuídos equitativamente por quatro grupos experimentais. Os animais iniciaram o período experimental com a idade média de 6 semanas de vida.

A quantidade total de alimento oferecida diariamente a cada vitelo aumentou progressivamente, todas as semanas, de 1090 g até 2700 g de leite em pó. A concentração de alimento no leite de substituição reconstituído iniciou-se a 14% sendo então aumentada até 18% durante as primeiras 5 semanas experimentais e mantida constante até ao final do ensaio.

### **V.1.3. Parâmetros avaliados**

No Quadro V.17 apresenta-se uma síntese dos principais resultados obtidos por outros autores (Lallés *et al.* 1995, Toullec *et al.* 1994) em trabalhos paralelos realizados simultaneamente nos mesmos animais. Nos referidos trabalhos determinou-se a digestibilidade dos constituintes do alimento entre os 9 e 14 e os 65 e 70 dias após o início do período experimental, os níveis plasmáticos de anticorpos contra a soja ao longo do ensaio e finalmente obtiveram-se micro-fotografias da estrutura da mucosa dos tecidos do jejuno. Observaram-se frequentemente diferenças significativas entre as dietas experimentais para o desempenho produtivo dos animais, a digestibilidade do N, os níveis de anticorpos e a morfologia intestinal, sendo a dieta baseada na farinha de soja muito mal digerida e sobretudo imunogénica. Os referidos parâmetros avaliados foram suficientemente diferentes entre dietas para explorar aspectos relacionados com a permeabilidade intestinal dos animais.

No presente trabalho avaliou-se o efeito da utilização das dietas baseadas nos diversos produtos provenientes da soja sobre a capacidade de absorção intestinal no vitelo pré-ruminante. Alguns aspectos respeitantes à excreção urinária de diferentes marcadores que utilizam normalmente as vias de absorção transcelular (D-manitol, D-xilose) e paracelular (sacarose, Cr-EDTA), foram previamente objecto de algum estudo, em animais que receberam na sua alimentação exclusivamente proteínas de origem láctea. Foi prestada particular atenção ao tipo de frequência de distribuição das quantidades de marcadores excretadas e a eventuais correlações entre si e com os volumes de urinas, como demonstrado em humanos saudáveis (Blomquist *et al.* 1993).

#### **V.1.3.1. Testes de permeabilidade intestinal**

Os testes de capacidade de absorção intestinal por nós realizados tiveram lugar em três períodos distintos: durante o período pré-experimental (P<sub>0</sub>) e após cada período de

determinação de digestibilidade, isto é, durante os dias 16 a 21 (P<sub>1</sub>) e 72 a 77 (P<sub>2</sub>) após o início da administração das dietas experimentais.

#### **V.1.3.1.1. Marcadores utilizados**

Os marcadores utilizados em associação para avaliar a permeabilidade intestinal foram o D-manitol (Roquette, Lestrem, France) como monossacarido e a sacarose (Béghin-Say, Thumeries, France) como dissacarido. A sacarose foi utilizada em vez da lactulose (como efectuado em trabalhos prévios, Lallès *et al.* 1993a) uma vez que é menos onerosa e porque os vitelos não apresentam sucrase intestinal (Sissons 1981). O Cr-EDTA e a D-xilose (Sigma), utilizados como marcadores isolados, foram também incluídos neste estudo para comparação.

#### **V.1.3.1.2. Administração dos marcadores**

Os animais foram privados da refeição da tarde da véspera dos dias em que decorreram os testes de capacidade de absorção intestinal. Os marcadores D-manitol (0,1 g / kg de PV), sacarose (0,2 g / kg de PV) e Cr-EDTA (5,5 mg de Cr / kg de PV, preparado segundo Binnerts *et al.* 1968), foram distribuídos unicamente aos animais, misturados numa solução aquosa isotónica (0,5 M), no momento da refeição da manhã. A D-xilose (0,5 g / kg de PV) foi distribuída aos animais, de forma idêntica, numa solução aquosa (10%, p / v), em diferentes ocasiões (3 ou 4 dias mais tarde) para evitar interferências entre os açúcares. Duas e seis horas após a administração dos marcadores, procedeu-se à distribuição de água a 40°C e dos leites de substituição, respectivamente. Para compensar a supressão das refeições, as quantidades de leite propostas por refeição foram ajustadas durante a três semanas em que se realizaram os testes de permeabilidade intestinal.

#### **V.1.3.1.3. Colheitas e amostras realizadas**

As urinas excretadas foram recolhidas na sua totalidade em cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$  5%, 20 ml / l de urina) durante os períodos de 0 a 6 e 6 a 24 horas que se seguiram à administração das soluções dos marcadores. Uma amostra representativa de cada período e por cada animal foi congelada a  $-20^\circ\text{C}$  até ser analisada. Uma amostra de urina (100 ml) foi adicionalmente recolhida antes da realização dos testes.

As colheitas de sangue, que se realizaram apenas nos testes que envolveram a D-xilose como marcador, tiveram lugar 0, 2,5 e 6 horas após a administração da respectiva solução de marcador. As amostras de sangue foram colhidas numa veia jugular por punção directa sobre os animais, em tubos de 13 ml contendo cada um em média 100  $\mu\text{l}$  de heparina como anticoagulante. Imediatamente após, o plasma foi separado por centrifugação e conservado a  $-20^\circ\text{C}$  até ser analisado.

#### **V.1.4. Análises laboratoriais**

A concentração de D-manitol e sacarose foi determinada nas amostras de urina por cromatografia gás-líquido (André *et al.* 1987). O Cr foi determinado nas amostras de urina por espectrofotometria de absorção atómica (Lallès e Poncet 1990). A D-xilose foi determinada nas amostras de urina e de plasma por colorimetria (Eberts *et al.* 1979).

#### **V.1.5. Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados**

A fracção de cada marcador excretada na urina foi calculada como percentagem da sua quantidade administrada. Os resultados das amostras de urinas obtidas antes da administração dos marcadores permitiram eliminar interferências de substâncias endógenas. Como as fontes proteicas com origem na soja contêm sacarose (3 a 5 mg / g de pó), as quantidades ingeridas correspondentes foram tomadas em consideração para os cálculos

(período 6 a 24 horas). Adicionalmente, calculou-se a relação de excreção dissacarido / monossacarido. No caso do plasma (D-xilose) os resultados foram expressos em mg / l.

A correcção dos valores de excreção de todos os marcadores, em relação ao respectivo volume de urina, efectuou-se utilizando um volume de urina arbitrário "standard" (1000 ml) e segundo a formula:

$$\text{Valor corrigido} = \text{valor registado} + a (\log 1000 - \log \text{volume de urina})$$

sendo "a" o declive da recta da regressão linear entre a taxa de excreção e o volume de urina (logaritmo) para cada marcador.

#### **V.1.5.1. Relações entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina**

A exploração dos resultados respeitante às relações entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina reportam-se exclusivamente aos testes realizados durante o período pré-experimental (P<sub>0</sub>) e ao primeiro período de 6 horas que se seguiu à administração das soluções de marcadores. Neste caso particular, a população foi definida excepcionalmente pela totalidade dos animais, já que até ao referido momento todos os animais ingeriram uma mesma dieta baseada exclusivamente em proteína de origem láctea. Além da relação de excreção dissacarido / monossacarido, neste caso particular, a relação de excreção Cr-EDTA / D-manitol foi também calculada. As médias, os coeficientes de variação (Cvs) e as correlações lineares basearam-se em valores lineares. Faz-se excepção aos resultados respeitantes à excreção urinária de D-xilose cujos valores apresentaram uma frequência de distribuição do tipo "skewly" e por isso foram transformados em valores logarítmicos.

As correlações estabelecidas entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina obtidos efectuaram-se por regressão linear. Adicionalmente, efectuaram-se correlações de Spearman, não paramétricas.

### **V.1.5.2. Efeito das dietas e da idade na excreção e/ou concentração plasmática dos marcadores**

O efeito das dietas na excreção urinária dos marcadores foi estudado por análise de variância e as médias classificadas pelo teste de Scheffé; o referido efeito foi ainda analisado pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. O efeito das dietas na concentração plasmática de D-xilose e na excreção urinária dos marcadores, após respectiva correcção para um volume de urina "standard", foi estudado igualmente por análise de variância, tendo-se recorrido ao teste de Kruskal-Wallis apenas quando as variâncias não foram homogêneas. Finalmente, a influência da idade foi analisada na excreção urinária dos marcadores, antes e após correcção para um volume de urina "standard", pelo teste de Friedman. Para todos os testes efectuados as diferenças foram consideradas significativas a  $p \leq 0,05$ .

## **V.2. RESULTADOS**

### **V.2.1. Relações entre as excreções de marcadores entre si e com os volumes de urina**

A excreção urinária média do período 0 a 6 horas para o D-manitol, sacarose, Cr-EDTA e D-xilose foi de 2,78, 3,05, 2,22 e 25,7% da dose oral, respectivamente. Os respectivos Cvs foram 40, 48, 44 e 51%. Os valores de excreção apresentaram essencialmente um tipo de frequência de distribuição normal para a maioria dos marcadores, exceptuando-se o caso da D-xilose com a qual se observou um tipo de frequência de distribuição "right-sided" (Figura V.1). No entanto, após transformação logarítmica, os referidos valores aproximaram-se de uma distribuição normal. As relações de excreção de sacarose e Cr-EDTA / D-manitol foram de 1,07 (Cv 32%) e 0,8 (28%), respectivamente. As relações de excreção de sacarose e Cr-EDTA / D-xilose (log) foram de 2,26 (56%) e 1,60 (51%), respectivamente.

Os volumes médios de urina obtidos durante as determinações de excreção urinária do (D-manitol + sacarose + Cr-EDTA) e de D-xilose foram 2001 (Cv 53%) e 2127 ml (54%), respectivamente. As taxas de excreção urinária das provas de permeabilidade apresentaram uma elevada correlação com os volumes de urina, o mesmo se observando com as referidas relações de excreção dos marcadores ( $+ 0,45 < r < + 0,61$ ;  $0,001 < p < 0,021$ ) (Quadro V.18). No entanto, após correcção para um volume de urina "standard", as correlações entre a taxa de excreção dos marcadores e os volumes de urina deixaram de ser significativas ( $0,54 < p < 0,99$ ) (Quadro V.18). Assim, foi possível comparar as taxas de excreção de marcadores independentemente dos volumes de urina excretados. Desta forma, encontrou-se uma elevada correlação entre as taxas de excreção dos marcadores D-manitol, sacarose e Cr-EDTA ( $+ 0,79 < r < + 0,87$ ;  $p < 0,0001$ ) (Quadro V.19), assim como também entre as relações de excreção sacarose / D-manitol e Cr-EDTA / D-manitol ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,002$ ). Pelo contrário, a D-xilose parece ter sido excretada independentemente dos outros marcadores testados. A correcção dos valores de excreção das provas de permeabilidade modificou apenas ligeiramente as correlações observadas entre marcadores antes da referida correcção (Quadro V.19). Finalmente, a aplicação da correlação não paramétrica de Spearman forneceu essencialmente os mesmos resultados que as correlações lineares.

### **V.2.2. Efeito das dietas e da idade na excreção urinária e/ou concentração plasmática dos marcadores**

A excreção urinária de sacarose durante o primeiro período de 6 horas após a administração do marcador variou entre 0,9 e 3,7% da dose oral (Quadro V.20). Diferenças resultantes do efeito das dietas nunca atingiram significância ( $p > 0,05$ ) tendo-se, no entanto, observado um efeito significativo da idade na excreção deste marcador com a dieta FSA. O mesmo foi observado em relação ao efeito das dietas na excreção urinária de D-manitol que não se traduziu em diferenças significativas ( $p > 0,05$ ); esta variou entre 1,8 e 4,0% da dose oral. Consequentemente, a relação de excreção sacarose / D-manitol variou entre 0,6 e 1,2, independentemente dos factores testados.



Com os vitelos que receberam a dieta testemunha, a excreção média de Cr-EDTA durante as primeiras 6 horas de colheita de urina, as 18 horas que se seguiram e o período completo de 24 horas ( $2,5 \pm 0,39$ ,  $2,8 \pm 0,63$  e  $5,3 \pm 0,39\%$ , respectivamente) não variou significativamente com a idade (Figura V.2 A, B e C). Os valores obtidos sugerem que a excreção média de Cr-EDTA tenha sido inferior com as dietas baseadas na soja, em comparação com a dieta testemunha, duas semanas após o início da administração das dietas experimentais. No entanto, as diferenças foram significativas ( $p \leq 0,05$ ) apenas entre as dietas FSA e testemunha, quando considerado o período completo de 24 horas. O referido efeito já não foi observado dez semanas após o início do consumo das dietas experimentais.

Entre os vários marcadores testados foi a D-xilose que apresentou os valores de excreção urinária mais elevados registando o valor médio de 26% da dose oral, no período pré-experimental ( $P_0$ ) (Figura V.3). Com a dieta testemunha, este valor atingiu 34% da dose oral duas semanas após o início da administração das dietas experimentais, decrescendo então a valores significativamente inferiores, em média de 19% ( $p \leq 0,05$ ) no final do ensaio ( $P_2$ ). Os valores obtidos para a excreção de D-xilose sugerem que esta tenha sido inferior nos vitelos que receberam os leites de substituição que incorporaram os derivados da soja na sua composição. No entanto, apenas duas semanas após o início da administração das dietas experimentais ( $P_1$ ) foram observadas diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre grupos registando-se valores inferiores com as dietas CSNA e FSA, em relação à dieta testemunha (Figura V.3).

A correcção dos valores de excreção dos marcadores para um volume de urina "standard" (Quadros V.21, V.22 e V.23) não forneceu, no seu essencial, informação adicional em relação à obtida com os valores não corrigidos. Apenas algumas tendências já observadas em relação aos valores de excreção antes de se efectuarem as correcções ganharam significância após esta; foi nomeadamente o caso da excreção urinária de sacarose no período  $P_1$  que, após a referida correcção, foi significativamente inferior nos vitelos que receberam a dieta FSA, em comparação com os que receberam a dieta

testemunha. Também a depressão na excreção urinária de Cr-EDTA com a idade foi evidenciada com a correcção dos valores para um volume de urina "standard". Assim, os valores de excreção registados com as dietas IPSHE e CSNA, considerando o período de colheita de 0 a 24 horas, foram significativamente inferiores no período P<sub>2</sub> em comparação com o período P<sub>0</sub>.

A concentração plasmática de D-xilose foi inicialmente baixa, aumentou oito vezes nas 2,5 horas seguintes e decresceu então a metade 6 horas após a sua administração (Figura V.4 A, B e C). Não se registaram efeitos significativos das dietas ( $0,15 \leq p \leq 0,84$ ) na concentração plasmática de D-xilose embora os valores observados sugiram, no terceiro período de testes (P<sub>2</sub>), uma depressão considerável desta, 2,5 horas após a sua administração, com as dietas baseadas nos produtos derivados da soja e em particular com a dieta FSA.

### **V.3. DISCUSSÃO DE RESULTADOS**

#### **V.3.1. Alguns aspectos relacionados com a excreção de marcadores pelo vitelo pré-ruminante**

No presente trabalho, os resultados respeitantes ao período pré-experimental indicam que os vitelos excretam o D-manitol, a sacarose e o Cr-EDTA em quantidades similares, em média 2% da dose oral. Resultados idênticos foram obtidos em trabalhos anteriores utilizando os mesmos marcadores ou similares (Lallès *et al.* 1993a). Pelo contrário, a excreção de D-xilose foi dez vezes superior à dos outros marcadores. A possibilidade do D-manitol, da sacarose e do Cr-EDTA serem absorvidos por vias similares no jovem vitelo é apoiada pela elevada correlação positiva observada entre as suas taxas de excreção urinária. A D-xilose é mais excretada que o D-manitol, em humanos (32%; Lim *et al.* 1993) e vitelos (10-20% para um período de recolha de urina de 5 horas, Dawson *et al.*

1988) possivelmente devido ao seu peso molecular inferior (150 vs 182 Da) e local de absorção numa porção mais proximal do intestino em relação a outros marcadores. A ausência de correlação significativa das taxas de excreção urinária entre a D-xilose e os outros marcadores pode estar associada com a excreção singular do primeiro. Poderá também ser em parte devido ao facto de a D-xilose ter sido administrada em diferentes ocasiões, separadas por alguns dias.

Nos humanos tem-se observado que a excreção urinária de Cr-EDTA e/ou lactulose, mas não a de D-manitol, apresenta um tipo de frequência de distribuição "skewly" indicando a necessidade de transformação dos resultados numa distribuição normal antes de se aplicarem testes estatísticos paramétricos (André *et al.* 1990; Blomquist *et al.* 1993). No presente trabalho, o tipo de distribuição não normal foi observado essencialmente em relação aos resultados da excreção urinária de D-xilose e corrigidos por transformação logarítmica. Blomquist *et al.* (1993) também observaram que a excreção de D-manitol, mas não a de lactulose ou de Cr-EDTA, apresentou uma correlação positiva com os volumes de urina. A introdução de uma formula de correcção permitiu-lhes mostrar a correlação significativa entre as taxas de excreção urinária de Cr-EDTA e de D-manitol. No presente ensaio, observou-se que as taxas de excreção dos vários marcadores apresentaram uma elevada correlação positiva com os volumes de urina. Após correcção para um volume de urina "standard" observou-se que a excreção de D-manitol, sacarose e Cr-EDTA, mas não a de D-xilose, foi fortemente correlacionada positivamente. A referida correcção, a qual é teoricamente necessária, pode ser menos importante no presente caso que na situação descrita por Blomquist *et al.* (1993) uma vez que as correlações entre as excreções de marcadores foram praticamente similares antes e após efectuadas as correcções. No entanto, a declive das rectas e os pontos de intercepção foram alterados.

### **V.3.2. A excreção de marcadores no vitelo pré-ruminante vs outras espécies**

A exploração da permeabilidade intestinal de forma não invasiva utilizando testes de açúcares duais tem-se tornado divulgada em muitas espécies incluindo humanos (André *et*

*al.* 1987, revisto por Travis e Menzies 1992), ratos (Turner *et al.* 1988), cães (Hall e Batt 1991b, Quigg *et al.* 1993) e gatos (Papasouliotis *et al.* 1993). No presente trabalho, os vitelos excretaram dissacaridos e monossacaridos em proporções similares (1 a 4% da dose oral), como indica a relação de excreção dissacarido / monossacarido compreendida entre 0,6 e 1,2. Estes valores parecem diferir de outras espécies (Quadro II.10, bibliografia), apresentando o vitelo uma permeabilidade intestinal proporcionalmente superior aos dissacaridos e inferior aos monossacaridos como o D-manitol. As bases para tais discrepâncias não são conhecidas. Embora a influência da metodologia não possa ser excluída, estas diferenças para o D-manitol podem estar associadas ao gradiente do solvente o qual está relacionado com a absorção de água. Com efeito, um terço da permeabilidade do D-manitol do jejuno de ratos foi mediada por difusão passiva e dois terços pelo gradiente do solvente (Krugliak *et al.* 1994); este último contribuiu para a maior parte (89%) da absorção do D-manitol no colon. A elevação da osmolaridade luminal resultou num decréscimo claro do fluxo de água e permeabilidade ao D-manitol (Krugliak *et al.* 1994). Nos humanos, a excreção do D-manitol é mais elevada que no rato, possivelmente devido a um mais forte gradiente do solvente associado a um estado hiperosmótico superior das suas vilosidades intestinais (Biljsma *et al.* 1993). O comportamento diferencial da excreção de oligossacaridos e monossacaridos tem sido explicado em termos teóricos assumindo a existência de duas populações de poros intestinais diferindo entre si na sua dimensão (revisto por Travis e Menzies 1992) ou de duas populações de junções selantes também de diferente tamanho, resistência à passagem do marcador ou localização no epitélio (Hollander 1992). Se alguma destas teorias for verdadeira então o vitelo deverá apresentar duas populações de poros ou de junções selantes provavelmente com diferenças morfológicas ou funcionais limitadas. No entanto, estes pontos de vista especulativos requerem mais investigação.

A ausência de actividade da sucrase em vitelos (Sissons 1981) não é usual quando consideramos as espécies monogástricas incluindo os humanos cuja permeabilidade gástrica, mas não a intestinal, pode ser avaliada utilizando a sacarose (Meddings *et al.* 1993).

Observou-se que a excreção urinária de sacarose e lactulose são da mesma magnitude, sugerindo comportamentos similares entre estes dois dissacarídeos (Meddings *et al.* 1993). Assim, a sacarose é apropriada para estudos de permeabilidade gastrointestinal no vitelo pré-ruminante. A ausência de correlação entre as taxas de excreção destes dissacarídeos pode resultar da sua geral baixa excreção, assim como ser consequência das variações diárias, como observado nesta experiência para o D-manitol. Embora a expressão dos resultados como relação de excreção de marcadores tenha reduzido as variações individuais, não foi de uma forma geral suficiente para permitir a detecção de alterações da permeabilidade intestinal com as dietas administradas, ao contrário do observado em outras espécies (Travis e Menzies 1992).

A excreção urinária de 6 horas de Cr-EDTA nos vitelos que receberam a dieta testemunha representou 1,7 a 2% da dose oral. Este valor é similar ao encontrado utilizando o radiomarcador <sup>51</sup>Cr-EDTA em ratos (2,8%, Ramage *et al.* 1988) mas superior à excreção registada em humanos (0,44 a 0,85%, Maxton *et al.* 1986, André *et al.* 1990). O Cr-EDTA excretado durante um período de 24 horas de recolha de urina parece representar a absorção do marcador em ambos o intestino delgado e grosso (Maxton *et al.* 1986, Elia *et al.* 1987). O seu valor está compreendido entre 1,2 e 2,6% em humanos saudáveis (Maxton *et al.* 1986, André *et al.* 1990) e aproximadamente 12% em cães (Hall *et al.* 1989, Hall e Batt 1991a). No presente trabalho, 2 a 4% do Cr-EDTA foi excretado pelos vitelos durante o período de recolha de urina de 24 horas sugerindo que o intestino grosso contribuiu para metade da absorção do marcador.

A excreção urinária de D-xilose durante um período de 5 horas está compreendida entre 18 e 35% em humanos adultos, dependendo da idade (Haeney *et al.* 1978, Lim *et al.* 1993), 12 a 16% no vitelo pré-ruminante (Seegraber e Morrill 1986, Dawson *et al.* 1988) e 10% em éguas (Bolton *et al.* 1976). Os valores observados no presente trabalho, (19 a 34%) foram substancialmente superiores aos observados por outros autores em vitelos (Seegraber e Morrill 1986, Dawson *et al.* 1988). Estas diferenças podem resultar de uma maior duração do período de recolha de urina (6 vs 5 horas). Também, no presente

trabalho, os vitelos cresceram a uma taxa superior à dos trabalhos acima referidos (1,0 a 1,2, vs 0,4 a 0,5 kg / dia), o que pode indicar uma maior capacidade de absorção intestinal. Finalmente, observações no sentido da elevação da absorção ou da excreção de D-xilose até aos 2 meses de idade, em vitelos, foi aparente no presente trabalho e em outros resultados publicados (Dawson *et al.* 1988, Mir *et al.* 1993).

### **V.3.3. Efeito das dietas na excreção e/ou concentração plasmática dos marcadores**

O vitelo pré-ruminante, que apresente uma certa predisposição, é conhecido por sofrer de perturbações intestinais, mediadas imunologicamente, quando alimentado com produtos baseados na soja insuficientemente processados (Sissons 1982, revisto por Lallès *et al.* 1993c). A absorção de macromoléculas foi drasticamente aumentada após uma refeição teste contendo farinha de soja tratada termicamente em vitelos previamente sensibilizados (Kilshaw e Slade 1980). Pelo contrário, a absorção de D-xilose parece ser geralmente reduzida após a introdução de proteínas não lácteas, incluindo as proteínas de soja ou peixe, nos leites de substituição (Seegraber e Morrill 1986, Dawson *et al.* 1988). Estas não permitem a coagulação abomasal e aceleram a evacuação gástrica (Guilloteau *et al.* 1979), factores que por sua vez afectam a absorção dos marcadores (revisto por Travis e Menzies 1992). A atrofia das vilosidades foi demonstrada em vitelos experimentalmente sensibilizados (Kilshaw e Slade 1982) ou alimentados cronicamente com produtos de soja (Seegraber e Morrill 1986). No entanto, vilosidades anormais foram também observadas em vitelos que receberam concentrados de proteína de peixe ou, em menor extensão, com a caseína (Seegraber e Morrill 1986). Nos animais utilizados no presente ensaio, Lallès *et al.* (1995) observaram num trabalho posterior, realizado quando do seu abate, que as vilosidades duodenais foram menores nos vitelos que receberam as dietas baseadas nos produtos de soja em comparação com as dos que receberam a dieta testemunha. No entanto, uma infiltração lifocitária resultante de um processo inflamatório ou eventualmente por uma elevação do número de mastocitos, foi apenas observada nos animais que receberam a dieta FSA (Dréau *et al.*, resultados não publicados).

Diversos marcadores têm sido capazes de discriminar alterações da permeabilidade intestinal numa variedade de doenças incluindo infecções e inflamação do intestino, relacionadas ou não com hipersensibilidades alimentares, em humanos (André *et al.* 1987, 1990, Lobley *et al.* 1990, Jalonen *et al.* 1991, Lim *et al.* 1993) e animais (Bolton *et al.* 1976, Ramage *et al.* 1988, Turner *et al.* 1988, Hall e Batt 1991a,b, Quigg *et al.* 1993). Alterações da permeabilidade intestinal reflectem-se geralmente por um decréscimo da excreção urinária de monossacaridos e elevação da de oligossacaridos ou de Cr-EDTA (Travis e Menzies 1992). Assim, a razão de excreção oligossacarido / monossacarido é geralmente aumentada. As referidas variações na excreção dos marcadores têm sido frequentemente imputadas (mas nem sempre, Bjarnason *et al.* 1994) ao "aplanamento" das vilosidades intestinais em humanos e animais (Strobel *et al.* 1984, Hall e Batt 1991a, Quigg *et al.* 1993). Finalmente, estudos com animais de laboratório indicaram uma correlação (Ramage *et al.* 1988) ou a ausência de correlação (Turner *et al.* 1988, Weaver e Coombs, 1988) entre a absorção intestinal de pequenos marcadores e de macromoléculas sugerindo que diferentes mecanismos de absorção estão envolvidos (Jalonen *et al.* 1991). No presente trabalho, apenas o Cr-EDTA e a D-xilose excretados na urina, respectivamente durante 24 e 6 horas após a sua administração oral, foram capazes de detectar efeitos da dieta duas semanas após o início do consumo de soja. Um decréscimo significativo na absorção e excreção urinária de D-xilose, como resultado do efeito da soja antigénica, era já esperado segundo os resultados de trabalhos anteriores e pode ser atribuído a alterações do epitélio intestinal (Kilshaw e Slade 1982, Seegraber e Morrill 1986). Curiosamente, a excreção de Cr-EDTA foi inferior nos vitelos que receberam a soja antigénica, em comparação com os que receberam a dieta testemunha, enquanto que valores superiores seriam esperados. A menor excreção de Cr-EDTA está possivelmente associada a um efeito osmótico ou a um decréscimo da absorção de nutrientes após a danificação da mucosa.

No que concerne à concentração plasmática de D-xilose as diferenças registadas entre grupos, resultantes do efeito das dietas, embora aparentes nunca atingiram significância. Estes resultados, considerados conjuntamente com os da excreção urinária

deste açúcar, sugerem que a permeabilidade intestinal do vitelo à D-xilose possa ter sido transitoriamente afectada pela fonte proteica e antigenicidade do alimento. No entanto, é necessária mais investigação nesta área já que estes factores não afectaram a excreção de D-manitol, lactulose e sacarose em ensaios anteriores (Lallès *et al.* 1993a) e no presente trabalho. Por outro lado, a concentração plasmática de D-xilose determinada 1 a 2,5 horas após a administração deste açúcar tem sido capaz de discriminar diferenças na permeabilidade intestinal entre animais que ingeriram alimentos baseados em leite desnatado ou soja (Seegraber e Morrill 1979, Mir *et al.* 1993). No entanto, esta observação não parece estar correlacionada com a actividade antigénica dos produtos de soja (Mir *et al.* 1993). Segundo estes autores, registou-se uma significativa, mas fraca, relação negativa entre o pico de concentração plasmática de D-xilose e o nível de anticorpos anti-soja dos vitelos. Também no presente trabalho foi observada a referida relação ( $r = -0,31, p < 0,05$ ).

#### V.4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o D-manitol, a sacarose e o Cr-EDTA apresentam no vitelo pré-ruminante um comportamento de excreção urinária similar, contrastando com o da D-xilose. Quando se interpretam resultados de excreção em provas de permeabilidade dever-se-á prestar atenção já que no presente ensaio a excreção de D-xilose não apresentou um tipo de frequência de distribuição normal e as taxas de excreção dos marcadores foram correlacionadas com os volumes de urina.

Vários marcadores podem ser utilizados para avaliação da permeabilidade intestinal no vitelo pré-ruminante apesar dos marcadores individuais terem apresentado um comportamento um pouco diferente. O vitelo surge assim como um animal que difere substancialmente das outras espécies no que respeita à excreção urinária de provas de permeabilidade. As alterações da permeabilidade intestinal aos pequenos marcadores, associadas à fonte proteica e antigenicidade dos produtos de soja, foram detectadas apenas



pela D-xilose excretada durante 6 horas e pelo Cr-EDTA excretado durante 24 horas; estas foram de magnitude limitada e apenas transitórias neste estudo. Assim, a patogénese da sensibilidade da soja nesta espécie pode não resultar de anormalidades subjacentes à permeabilidade intestinal, contrariamente ao que foi demonstrado em cães Setter Irlandês sensibilizados ao glúten (Hall e Batt 1991a).

Quadro V.15. Composição química das dietas (% da matéria seca).

	Dietas <sup>1</sup>			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Humidade	4,0	3,6	3,7	5,4
Azoto x 6,25	20,7	20,4	20,6	20,6
Gordura	20,2	19,4	19,8	20,0
Extractivo não azotado	48,6	48,8	48,9	45,9
Cinzas	6,5	7,9	7,0	8,1
Ca	1,03	1,04	1,07	1,07
P	0,80	0,98	0,91	0,96

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

Quadro V.16. Composição das dietas experimentais.

Ingredientes (% de pó)	Dietas <sup>1</sup>			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Prémistura de gordura <sup>2</sup>	49,25	—	—	—
Prémistura de gordura <sup>3</sup>	—	48,02	48,80	48,4
Leite em pó desnatado	30,46	—	—	—
Lactosoro em pó	—	13,86	10,19	9,49
Concentrado proteico de lactosoro	—	2,35	2,35	2,35
Isolado de soja	—	19,68	—	—
Concentrado de soja	—	—	22,39	—
Farinha de soja	—	—	—	31,03
Lactose	15,5	10,0	9,9	2,5
L-lisina-HCl	0,124	—	0,369	0,418
DL-metionina	0,167	—	0,109	0,238
Amido pré-gelatinizado	2,0	2,0	2,0	2,0
Vitaminas e minerais	2,46	4,05	3,88	3,52

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2,3</sup> sebo (99,7%) e emulsificante (0,3%) homogeneizado em leite desnatado<sup>2</sup> ou lactosoro<sup>3</sup> (400 g gordura / kg matéria seca).

Quadro V.17. Principais resultados de crescimento, digestibilidade, níveis circulantes de anticorpos contra a soja e de alterações da morfologia intestinal obtidos em trabalhos paralelos realizados por outros autores (adaptado de Lallès *et al.* 1995 e de Toullec *et al.* 1994).

	Período <sup>2</sup>	Dietas <sup>1</sup>			
		Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
GPV (g / d) <sup>3</sup>	-	1228 <sup>a</sup>	1137 <sup>ab</sup>	1016 <sup>ab</sup>	893 <sup>b</sup>
dN <sup>4</sup>	P <sub>1</sub>	93,2 <sup>A</sup>	89,1 <sup>AB</sup>	82,1 <sup>BC</sup>	67,8 <sup>C</sup>
	P <sub>2</sub>	94,4 <sup>A</sup>	91,5 <sup>a</sup>	86,1 <sup>B</sup>	68,6 <sup>Bb</sup>
dN soja <sup>5</sup>	-	-	90	81	59
níveis AC <sup>6</sup>		1,2 <sup>A</sup>	1,6 <sup>A</sup>	3,1 <sup>A</sup>	9,1 <sup>B</sup>
morfologia intestinal <sup>7</sup>	P <sub>2</sub>	VN	VN	VN	VA

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2</sup> P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>: períodos de dias de 9 a 14 e 65 a 70, respectivamente, após o início do consumo das dietas experimentais.

<sup>3</sup> ganho de peso vivo durante o ensaio.

<sup>4</sup> digestibilidade aparente ( $\times 100$ ) do azoto.

<sup>5</sup> digestibilidade média aparente calculada para o azoto proveniente das fontes proteicas de soja.

<sup>6</sup> níveis de anticorpos contra a soja ( $\log_2$  de uma diluição inicial do plasma de 1:20) após 74 dias de experiência.

<sup>7</sup> morfologia intestinal; VN: normal, VA: vilosidades mais curtas e deformadas.

A,B,C,  $p \leq 0,01$ , a,b,  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

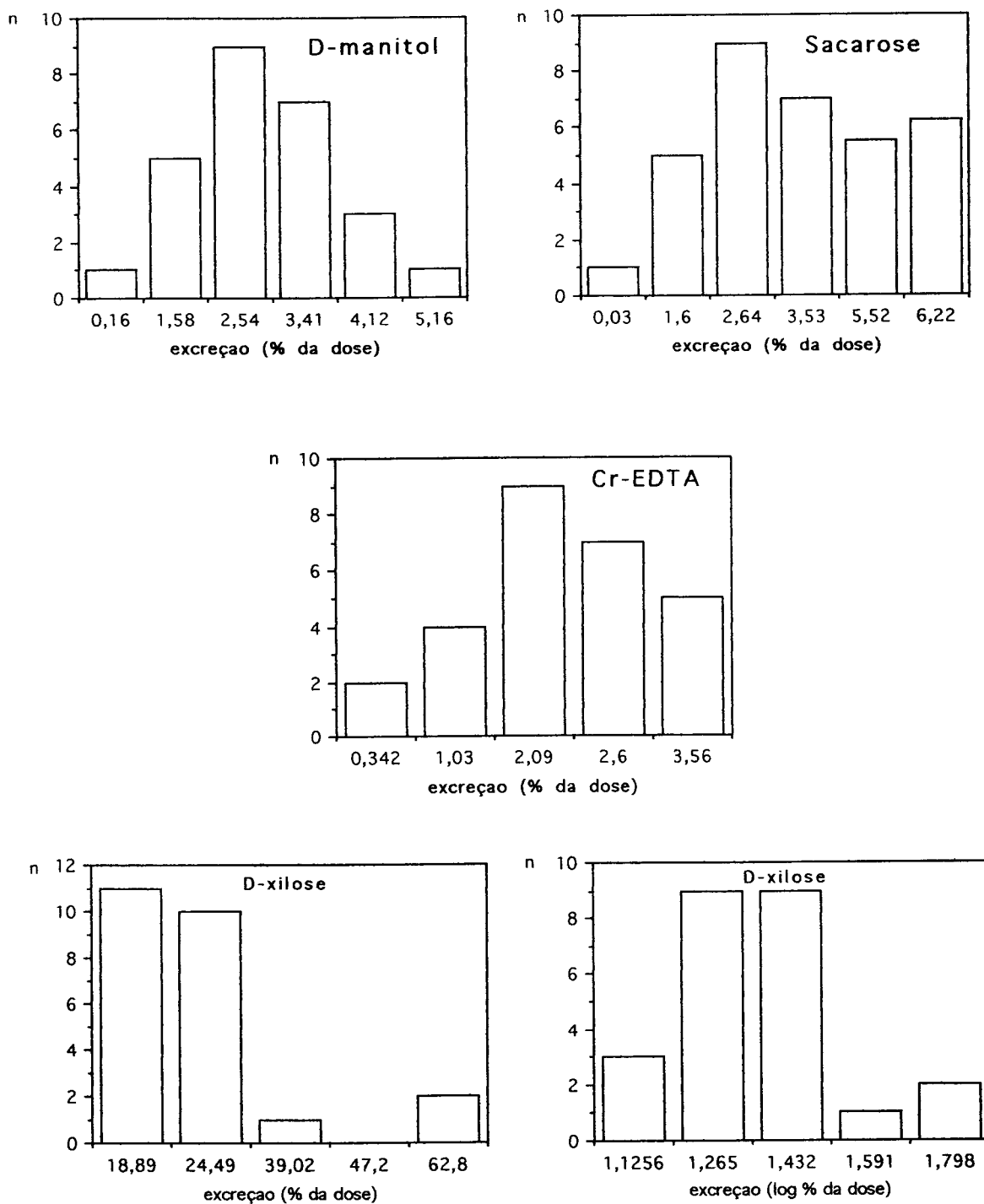


Figura V.1. Frequência de distribuição dos valores de excreção urinária dos marcadores (% da dose oral) de vitelos que receberam dietas baseadas em leite em pó desnatado, durante o período 0 a 6 horas, no período pré-experimental (P<sub>0</sub>).

Quadro V.18. Correlações lineares entre a excreção urinária dos marcadores (y) e o volume de urina (x) obtido, durante um período de 6 horas.

y <sup>2</sup>	n <sup>3</sup>	y não corrigido			y corrigido <sup>1</sup>		
		a (x10 <sup>3</sup> )	r	p	r	p	
Manitol (Ma)	26	0,49	0,452	0,0206	0,022	0,915	
Sacarose (Sa)	26	1,00	0,612	0,0009	0,024	0,906	
Cr-EDTA (Cr)	27	1,00	0,592	0,0010	0,003	0,988	
log Xilose (Xi)	23	0,08	0,577	0,0039	0,058	0,791	
Sa / Ma	26	0,18	0,548	0,0037	0,099	0,630	
Cr / Ma	26	0,10	0,461	0,0178	0,125	0,544	

<sup>1</sup> correlações após correcção dos valores de excreção dos marcadores para um volume de urina "standard" (ver texto).

<sup>2</sup> Sa / Xi e Cr / Xi não foram calculados porque o teste que envolveu a D-xilose como marcador foi efectuado em diferente ocasião.

<sup>3</sup> número de observações.

Quadro V.19. Correlações lineares entre as taxas de excreção urinária dos diversos marcadores de permeabilidade, durante um período de 6 horas.

y <sup>2</sup>	x	n <sup>3</sup>	y não corrigido			y corrigido <sup>1</sup>				
			Dec <sup>4</sup>	Interc <sup>5</sup>	r	p	Dec <sup>3</sup>	Interc <sup>4</sup>	r	p
Cr-EDTA (Cr)	Manitol	26	0,768	0,147	0,893	0,0001	0,688	0,222	0,867	0,0001
	Sacarose	26	0,577	0,524	0,889	0,0001	0,566	0,525	0,831	0,0001
	log Xilose	23	—	—	0,288	0,1819	—	—	0,083	0,712
Sacarose (Sa)	Manitol	26	1,101	-0,013	0,832	0,0010	0,918	0,192	0,788	0,0001
	log Xilose	22	—	—	0,352	0,1079	—	—	0,167	0,468
Manitol (Ma)	log Xilose	22	—	—	0,163	0,4675	—	—	0,076	0,743
	Sa / Ma	26	1,101	0,195	0,733	0,0001	0,804	0,354	0,570	0,0024

<sup>1</sup> correlações após correção dos valores de excreção dos marcadores para um volume de urina "standard" (ver texto).

<sup>2</sup> Sa / Xilose e Cr / Xilose não foram calculados porque o teste que envolveu a D-xilose como marcador foi efectuado em diferente ocasião.

<sup>3</sup> número de observações.

<sup>4</sup> declive.

<sup>5</sup> intercepção.

Quadro V.20. Excreção urinária (média  $\pm$  erro padrão da média) de sacarose e D-manitol (% da dose oral) e razão sacarose / D-manitol, durante um período de 6 horas.

Período <sup>2</sup>		Dieta <sup>1</sup>			
		Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Sacarose	P <sub>0</sub>	3,72 $\pm$ 0,51	2,56 $\pm$ 0,68	3,34 $\pm$ 0,68	2,72 $\pm$ 0,40
	P <sub>1</sub>	2,35 $\pm$ 0,38	2,15 $\pm$ 0,39	1,98 $\pm$ 0,20	1,29 $\pm$ 0,24
	P <sub>2</sub>	1,95 $\pm$ 0,59	1,45 $\pm$ 0,30	2,33 $\pm$ 0,35	0,92 $\pm$ 0,28*
D-manitol	P <sub>0</sub>	3,15 $\pm$ 0,33	2,37 $\pm$ 0,58	2,72 $\pm$ 0,38	2,93 $\pm$ 0,39
	P <sub>1</sub>	4,03 $\pm$ 0,95	2,57 $\pm$ 0,59	2,83 $\pm$ 0,39	2,06 $\pm$ 0,30
	P <sub>2</sub>	2,33 $\pm$ 0,72	1,83 $\pm$ 0,38	2,55 $\pm$ 0,35	1,78 $\pm$ 0,41
Sacarose / D-manitol	P <sub>0</sub>	1,23 $\pm$ 0,17	0,98 $\pm$ 0,15	1,19 $\pm$ 0,10	0,93 $\pm$ 0,09
	P <sub>1</sub>	0,64 $\pm$ 0,08*	0,85 $\pm$ 0,14	0,73 $\pm$ 0,06	0,67 $\pm$ 0,12
	P <sub>2</sub>	0,78 $\pm$ 0,07	0,85 $\pm$ 0,16	0,95 $\pm$ 0,12	0,59 $\pm$ 0,23

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2</sup> P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77, respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

\* P<sub>1</sub> ou P<sub>2</sub> diferente de P<sub>0</sub> ( $p \leq 0,05$ ) com as dietas testemunha ou FSA, respectivamente.



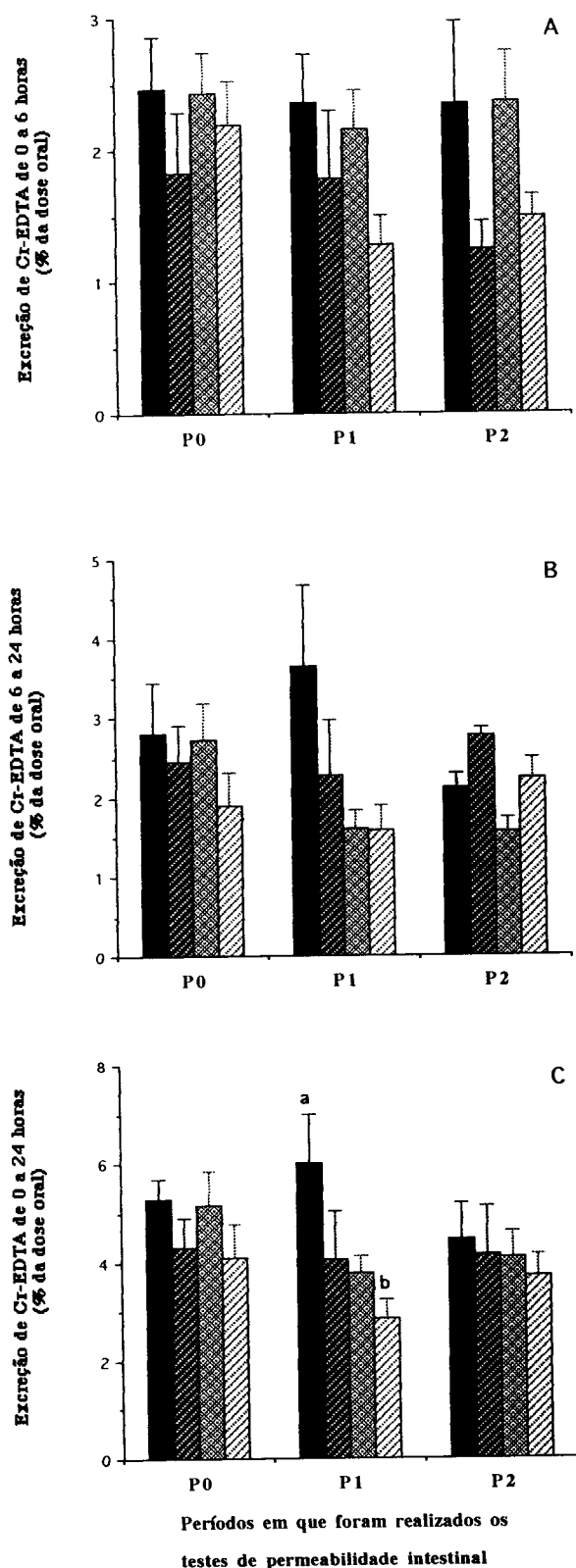


Figura V.2. Quantidade (% da dose oral; média  $\pm$  erro padrão da média) de Cr-EDTA excretada durante os períodos 0 a 6 horas (A), 6 a 24 horas (B) e 0 a 24 horas (C) na urina dos vitelos que receberam os diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).  
 a,b  $p \leq 0,05$  entre médias com letras diferentes.

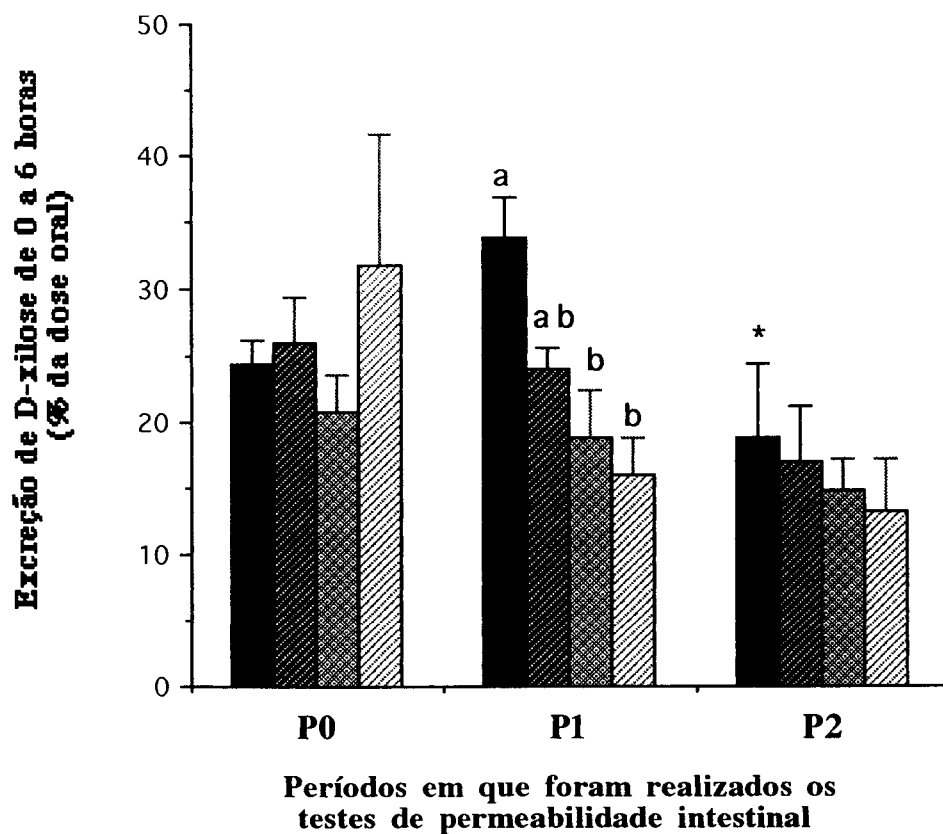


Figura V.3. Quantidade (% da dose oral; média  $\pm$  erro padrão da média) de D-xilose excretada durante o período 0 a 6 horas na urina dos vitelos que receberam os diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).

a,b  $p \leq 0,05$  entre médias com letras diferentes.

\*  $p \leq 0,05$  entre médias de P<sub>2</sub> e de P<sub>0</sub> ou P<sub>1</sub> com a dieta testemunha.

Quadro V.21. Excreção urinária (média  $\pm$  erro padrão da média) de sacarose e D-manitol (% da dose oral) e razão sacarose / D-manitol, durante um período de 6 horas (valores corrigidos para um volume de urina "standard").

Período <sup>2</sup>		Dieta <sup>1</sup>			
		Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Sacarose	P <sub>0</sub>	3,21 $\pm$ 0,47	1,83 $\pm$ 0,47	2,53 $\pm$ 0,56	2,29 $\pm$ 0,17
	P <sub>1</sub>	2,53 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	2,15 $\pm$ 0,33	1,85 $\pm$ 0,23	0,97 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>
	P <sub>2</sub>	1,89 $\pm$ 0,47	1,60 $\pm$ 0,17	2,22 $\pm$ 0,33	1,78 $\pm$ 0,66
D-manitol	P <sub>0</sub>	2,87 $\pm$ 0,43	1,96 $\pm$ 0,44	2,28 $\pm$ 0,33	2,69 $\pm$ 0,31
	P <sub>1</sub>	3,94 $\pm$ 0,96	2,57 $\pm$ 0,58	2,89 $\pm$ 0,38	2,10 $\pm$ 0,34
	P <sub>2</sub>	2,30 $\pm$ 0,67	2,05 $\pm$ 0,38	2,50 $\pm$ 0,34	1,71 $\pm$ 0,50
Sacarose / D-manitol	P <sub>0</sub>	1,10 $\pm$ 0,14	0,80 $\pm$ 0,10	0,99 $\pm$ 0,06	0,83 $\pm$ 0,07
	P <sub>1</sub>	0,76 $\pm$ 0,14	0,85 $\pm$ 0,09	0,66 $\pm$ 0,08	0,68 $\pm$ 0,10
	P <sub>2</sub>	0,73 $\pm$ 0,29	2,35 $\pm$ 1,74	0,90 $\pm$ 0,14	0,26 $\pm$ 0,18

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2</sup> P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77, respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

<sup>a,b</sup>  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

Quadro V.22. Excreção urinária de Cr-EDTA (% da dose oral; média  $\pm$  erro padrão da média; valores corrigidos para um volume de urina "standard").

Intervalo de colheita	Período <sup>2</sup>	Dieta <sup>1</sup>			
		Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
0-6 h	P <sub>0</sub>	2,35 $\pm$ 0,31	1,38 $\pm$ 0,32	1,93 $\pm$ 0,26	1,92 $\pm$ 0,21
	P <sub>1</sub>	1,54 $\pm$ 0,57	1,79 $\pm$ 0,52	2,53 $\pm$ 0,48	1,59 $\pm$ 0,61
	P <sub>2</sub>	2,34 $\pm$ 0,61	1,37 $\pm$ 0,22	2,32 $\pm$ 0,37	1,43 $\pm$ 0,22
0-24 h	P <sub>0</sub>	3,51 $\pm$ 0,50	2,18 $\pm$ 0,57	3,15 $\pm$ 0,64	2,27 $\pm$ 0,56
	P <sub>1</sub>	5,55 $\pm$ 0,97 <sup>a</sup>	3,59 $\pm$ 0,98	3,23 $\pm$ 0,36	2,40 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>
	P <sub>2</sub>	7,15 $\pm$ 0,80	6,94 $\pm$ 0,71*	7,08 $\pm$ 0,60*	6,67 $\pm$ 0,33

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2</sup> P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77 respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

<sup>a,b</sup>  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

\* P<sub>2</sub> diferente de P<sub>0</sub> ( $p \leq 0,05$ ) com as dietas testemunha, IPSHE e CSNA.

Quadro V.23. Excreção urinária de D-xilose (% da dose oral; média  $\pm$  erro padrão da média; valores corrigidos para volume de urina "standard").

Período <sup>2</sup>	Dieta <sup>1</sup>			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
P <sub>0</sub>	21,7 $\pm$ 2,1	19,4 $\pm$ 3,0	19,0 $\pm$ 3,1	23,7 $\pm$ 8,0
P <sub>1</sub>	33,5 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>	22,9 $\pm$ 2,0 <sup>ab</sup>	18,1 $\pm$ 3,5 <sup>b</sup>	15,4 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>
P <sub>2</sub>	16,1 $\pm$ 6,2 <sup>*</sup>	19,2 $\pm$ 3,6	19,6 $\pm$ 2,1	10,9 $\pm$ 3,3

<sup>1</sup> IPSHE: isolado de proteína de soja hidrolisado experimental; CSNA: concentrado de proteína de soja não antigénico; FSA: farinha de soja antigénica.

<sup>2</sup> P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77, respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

<sup>a,b</sup>  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

<sup>\*</sup> P<sub>2</sub> diferente de P<sub>1</sub> com a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$ ).

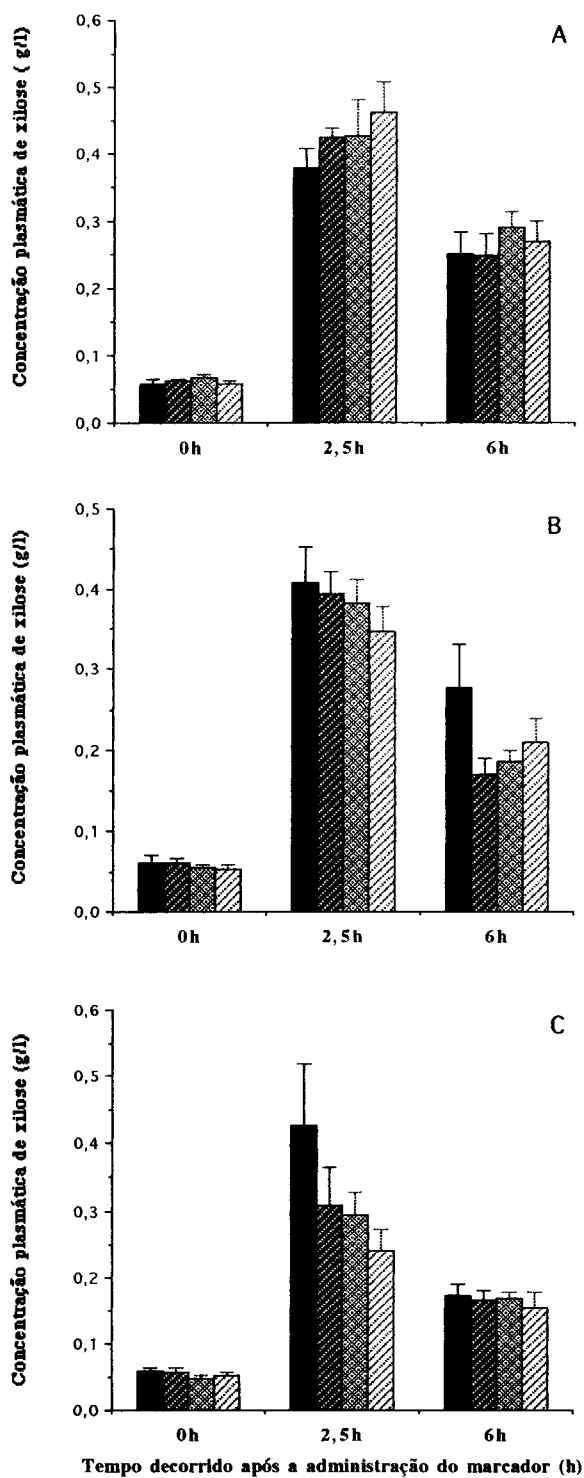


Figura V.4. Concentração plasmática (média  $\pm$  erro padrão da média) de D-xilose durante os períodos P<sub>0</sub> (A), P<sub>1</sub> (B) e P<sub>2</sub> (C) dos vitelos que receberam diversos leites de substituição (testemunha, isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA)).

## CAPÍTULO VI - EXPERIÊNCIA 2: DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS DA SOJA E DO TREMOÇO PELO VITELo PRÉ-RUMINANTE: EVACUAÇÃO GÁSTRICA, DIGESTIBILIDADE E COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS AMINADOS DO DIGESTA ILEAL

A presente experiência foi conduzida de forma a avaliar o efeito da utilização das proteínas da soja e do tremoço em leites de substituição destinados à alimentação do vitelo pré-ruminante. Avaliou-se com os presentes ensaios o efeito das referidas fontes proteicas sobre o desempenho produtivo dos animais, a evacuação gástrica e ainda a sua utilização digestiva.

### VI.1. MATERIAIS E MÉTODOS

#### VI.1.1. Dietas experimentais

##### VI.1.1.1. Caracterização das dietas experimentais

Prepararam-se dois concentrados proteicos a partir de farinha de soja (*Glycine max*) comercial, depois de extraída a gordura, e de farinha de tremoço (*Lupinus albus*, cultivar Lucky) contendo, respectivamente, 59 e 43% de PB (% na MS) (Quadro VI.24). Segundo o fabricante (Bonilait Protéines, Chasseneuil-du-Poitou, France), ambos os concentrados foram obtidos por precipitação a pH 4,5 com ácido clorídrico a partir da suspensão em água. Segundo os trabalhos realizados por Lallès *et al.* 1993b, o concentrado proteico de soja exibiu *in vitro* uma imunoreactividade moderada para a glicinina, equivalente a 1,05 g / 100 g de PB, o que representa cerca de 4 e 32% das actividades observadas na soja não processada e farinhas de soja tratadas termicamente, respectivamente. Não foi detectada

imunoreactividade para a  $\beta$ -conglucina. O tipo de bandas obtidas por electroforese de ambos os concentrados (Figura VI.5) indicaram pelo menos a hidrólise parcial das proteínas de elevado peso molecular. Os resultados referentes à antigenicidade e electroforese das proteínas sugerem consistentemente que algum tratamento suplementar, não indicado pelo fabricante, foi aplicado a ambos os concentrados. A actividade antitripsínica foi também muito baixa: 1,4 e 1,2 unidades de inibidor de tripsina (UIT) / mg de proteína para os concentrados de soja e de tremço, respectivamente, em comparação com 4,7 UIT / mg de proteína para dois concentrados de soja comerciais tratados a álcool e 98 UIT / mg de proteína para uma farinha de soja, preparada em laboratório, depois de extraída a gordura.

Prepararam-se três dietas experimentais (testemunha (T), soja (S) e tremço (Tr)) de forma a conterem aproximadamente 21% de PB e 21% de MG (% na MS) (Quadro VI.24). Na dieta testemunha, a proteína foi proveniente na sua totalidade de LPD e AA de síntese (Quadro VI.25). Nas outras duas dietas, 71% da proteína foi proveniente dos concentrados proteicos de soja ou de tremço, sendo a restante proveniente de lactosoro em pó e AA de síntese. Os suplementos de L-lisina-HCl e DL-metionina foram calculados de forma a obter nas três dietas experimentais níveis totais de 1,8 e 0,9% de lisina e AA sulfurados, respectivamente. A composição em AA dos concentrados proteicos e das dietas experimentais é apresentada no Quadro VI.26.

#### **VI.1.1.2. Preparação e distribuição das dietas experimentais**

A dieta testemunha foi um alimento completo (alimento de base 1). As outras duas dietas foram obtidas por mistura, no momento da sua utilização, de um alimento de base (alimento de base 2 ou 3), dos concentrados proteicos derivados da soja ou do tremço e de lactose, nas seguintes proporções (%):



Alimento	Diets		
	Testemunha	Soja	Tremoço
Alimento de base 1	100	—	—
Alimento de base 2	—	68,93	—
Alimento de base 3	—	—	63,31
Concentrado de soja	—	26,07	—
Concentrado de tremoço	—	—	35,69
Lactose	—	5,00	1,00

Após o período pré-experimental os animais de ambos os ensaios foram submetidos a três períodos experimentais. Cada vitelo recebeu sucessivamente cada uma das três dietas experimentais (testemunha, soja e tremoço) durante um período de duas semanas (uma de adaptação à dieta e uma de determinação dos diversos parâmetros avaliados) por ordens diferentes, segundo um Quadrado Latino Duplo e de acordo com os esquemas seguintes:

#### Ensaio 1

Períodos	Vitelos	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1		T	T	T	S	S	S	Tr	Tr	Tr
2		S	S	Tr	Tr	Tr	T	S	T	T
3		Tr	Tr	S	T	T	Tr	T	S	S

#### Ensaio 2

Períodos	Vitelos	A	B	C	D	E
1		T	T	S	S	Tr
2		S	Tr	Tr	T	T
3		Tr	S	T	Tr	S

### **VI.1.2. Animais e alimentação**

Para o presente trabalho utilizou-se um total de 14 animais, 9 machos no ensaio 1 e 5 fêmeas fistuladas no ensaio 2. Os animais iniciaram os períodos experimentais com a idade média de 1,5 e 3 meses de vida nos ensaios 1 e 2, respectivamente.

A quantidade de alimento oferecida a cada vitelo foi de 58 g de MS / kg<sup>0,75</sup> / dia e ajustada semanalmente ao peso corporal do animal.

### **VI.1.3. Parâmetros avaliados**

Para a concretização dos objectivos desta experiência realizaram-se dois ensaios. No ensaio 1 avaliou-se o desempenho produtivo dos animais. Os animais desse mesmo ensaio serviram para a avaliação da velocidade de evacuação gástrica e a determinação da digestibilidade fecal dos constituintes do alimento. A digestibilidade ileal e a composição em AA dos digesta foram determinadas nos vitelos cânulados do ensaio 2.

#### **VI.1.3.1. Evacuação gástrica**

Com o objectivo de avaliar a evacuação gástrica pelo tempo decorrido entre a refeição e a evolução da taxa de triglicéridos e glucose no sangue, procedeu-se à colheita de amostras de sangue antes da refeição matinal ( $t_0$ ) e depois 1, 2, 3, 4, e 6,5 horas após esta. As amostras foram colhidas numa veia jugular por punção directa sobre os animais, em tubos de 13 ml contendo cada um em média 100  $\mu$ l de heparina como anticoagulante, imediatamente centrifugadas e o plasma congelado a -20°C até ser analisado. Este estudo decorreu durante o 4º ou 5º dias de cada período experimental.

### **VI.1.3.2. Determinação das digestibilidades dos alimentos**

#### **VI.1.3.2.1. Colocação dos catéteres e das cânulas**

Os animais utilizados para a avaliação da digestibilidade ileal dos constituintes dos alimentos foram munidos de um catéter no abomaso, que serviu para a infusão da dieta líquida, e de uma cânula reentrante cuja parte proximal foi inserida na porção distal do íleo e a parte distal no cecum (Guilloteau *et al.* 1986b) e que serviu à recolha dos digesta. A referida operação teve lugar quando os animais atingiram a idade média de 2,5 meses de vida.

#### **VI.1.3.2.2. Colheitas e amostras realizadas**

Durante a segunda semana de cada período experimental procedeu-se à recolha diária de uma amostra de cada um dos constituintes que serviu à preparação das dietas experimentais. Estas amostras permitiram constituir uma amostra média por cada animal e por período de colheitas, para análise posterior. Sempre que houve rejeição da dieta líquida esta foi pesada e uma amostra representativa foi recolhida e conservada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para subsequente liofilização e análise.

No ensaio de digestibilidade fecal, as fezes foram recolhidas na sua totalidade e pesadas diariamente durante um período de 5 dias, durante a segunda semana de cada período experimental. Uma amostra representativa das colheitas foi congelada para subsequente liofilização e análise.

No ensaio de digestibilidade ileal, os digesta ileais foram recolhidos durante um período de 4 dias, durante a segunda semana de cada período experimental, como descrito por Guilloteau *et al.* (1986b). Para tal, as partes proximal e distal da cânula íleo-cecal foram desconectadas, durante o referido período, sendo posteriormente conectadas de novo. Os digesta foram recolhidos na sua totalidade, sob agitação contínua, em frascos contendo benzoato de sódio (10 g / kg de digesta) para limitar a actividade microbiana. Os digesta

foram pesados todos os dias e uma amostra representativa do período de colheitas foi congelada para subsequente liofilização e análise.

#### **VI.1.4. Análises laboratoriais**

As amostras das dietas, digesta e fezes foram analisadas para determinação da MS, N, MG e MM. As fontes proteicas e os digesta foram ainda analisados para determinação da sua composição em AA.

O teor em MS foi determinado por secagem em estufa a 105°C durante 16 horas. Esta determinação foi efectuada directamente ou após liofilização, se se tratassem de produtos sólidos ou líquidos, respectivamente. A dosagem do N total foi efectuada pelo método de Kjeldahl, enquanto que as MG foram doseadas utilizando o método de Soxhlet, em meio ácido. O teor em MM foi obtido por incineração em forno à temperatura de 550°C durante 6 horas.

A composição em AA foi determinada por cromatografia de troca iónica, após hidrólises ácidas das amostras em HCl 6 N a 110°C durante 24, ou 48 horas no caso da valina e isoleucina. Para o doseamento dos AA sulfurados procedeu-se à sua oxidação com ácido perfórmico antes das hidrólises ácidas. O triptofano, por ser destruído pelas hidrólises ácidas, não foi doseado. Os AA foram analisados utilizando um analisador Pharmacia-LKB (Alpha plus System, Sweden).

As actividades imunoreactivas da glicinina e  $\beta$ -conglucina dos concentrados de soja e tremço foram determinadas pelos métodos descritos por Tukur *et al.* (1993).

A actividade antitripsínica de ambos os concentrados de leguminosas foi determinada segundo os método AOCS (1983).

A electroforese SDS-PAGE (Laemmli 1970) foi realizada sob condições redutoras para os dois concentrados de leguminosas e as suas correspondentes farinhas não processadas, assim como também para as globulinas da soja purificadas.

A concentração de triglicéridos e glucose no plasma foi determinada enzimaticamente (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) utilizando um sistema automático (ISAMAT, Lisabo, Morangis, France).

#### **VI.1.5. Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados**

O registo semanal do PV dos animais (ensaio 1) permitiu-nos calcular o seu GPV diário. Para a referida determinação utilizaram-se os valores referentes à 2ª semana de cada período experimental. Os valores registados para a ingestão alimentar, que se reportam a um período de 5 dias da 2ª semana de cada período experimental, permitiram-nos calcular as quantidades de alimento recusadas por cada animal as quais foram expressas como percentagem da quantidade proposta. Com base nos referidos valores, calculou-se ainda a ingestão de MS / GPV. A determinação da quantidade de fezes excretadas pelos animais reporta-se igualmente ao período de 5 dias da 2ª semana de cada período experimental.

A concentração de glucose e triglicéridos determinada no plasma foi expressa em mg / 100 ml.

Os valores registados (quantidade e composição) respeitantes à ingestão alimentar e excreção de fezes ou digesta permitiram-nos calcular as digestibilidades fecal e ileal dos constituintes do alimento, respectivamente.

Os resultados obtidos, respeitantes aos efeitos das dietas sobre o desempenho produtivo dos animais, taxa circulante de nutrientes e digestibilidades foram sujeitos a uma análise de variância e as médias classificadas de acordo com o teste de Sheffé, tendo o teste de Friedman também sido utilizado quando as variâncias não foram homogêneas. O teste de Friedman foi ainda utilizado para estudar a influência do tempo na evolução da taxa circulante de triglicéridos e glucose. A comparação entre as digestibilidades ileal e fecal foi realizada recorrendo-se o teste de *U* de Mann-Whitney. As diferenças foram consideradas significativas a  $p \leq 0,05$ .

Os perfis em AA das proteínas dos digesta foram comparados entre si e com os das proteínas das dietas, endógena e bacteriana pela distância do quadrado de chi ( $\chi^2$ )

(Guilloteau *et al.* 1983). A distância de  $\chi^2$  entre duas proteínas i e j foi calculada da seguinte forma:

$$\chi^2 = 17 \sum_{k=1}^{k=17} (AA_{ik} - AA_{jk})^2 / ((AA_{ik} + AA_{jk}) / 2)$$

onde  $AA_{ik}$  e  $AA_{jk}$  são as percentagens de  $AA_k$  no somatório dos AA analisados das proteínas i e j; k representa os diferentes AA e varia entre 1 e 17. À medida que a distância  $\chi^2$  diminui, a similaridade entre as proteínas aumenta.

As proporções de proteína da dieta, endógena e bacteriana foram determinadas pelo método desenvolvido por Duvaux *et al.* (1990a). Este método recorre a uma análise de regressão múltipla para estabelecer a mistura teórica destas proteínas que minimiza a distância  $\chi^2$ , em relação à composição dos digesta em AA. A composição média das fezes do borrego axénico (Combe 1976) e do mecónio do vitelo (Grongnet *et al.* 1981) foi utilizada como modelo da proteína endógena indigerida. A composição média da bactéria fecal do porco (Mason *et al.* 1976) e da ovelha (Mason 1979) foi utilizada para representar a composição da bactéria ileal. A mistura de proteína comum que escapa à digestão do intestino delgado em vitelos que receberam dietas baseadas em proteína láctea, de peixe ou de soja (Guilloteau *et al.* 1986b) foi utilizada como modelo da mistura das proteínas endógenas e bacterianas indigeridas. As composições de referência em AA das proteínas de ambas leguminosas foram as das principais globulinas: glicinina (Okubo *et al.* 1969),  $\beta$ -conglucina (Koshiyama, 1968), e as das sub-unidades ácidas e básicas da glicinina (Staswick *et al.* 1984, Hirano *et al.* 1985, Momma *et al.* 1985a,b, Negoro *et al.* 1985) para a soja e as das conglutininas  $\alpha$  e  $\beta$  (Duranti *et al.* 1981) para as proteínas do tremço.

## **VI.2. RESULTADOS**

As condições de saúde dos animais foram de uma forma geral satisfatórias em ambos os ensaios. As cânulas permaneceram funcionais durante todos os períodos experimentais (ensaio 2).

### **VI.2.1. Ingestão alimentar, crescimento e estado de saúde dos animais**

A ingestão alimentar foi muito satisfatória nos animais que ingeriram as dietas testemunha e soja (Quadro VI.27). A dieta soja foi ingerida pelos animais na sua totalidade sem que se tenham registado recusas de alimento. No que respeita à dieta testemunha apenas 1,2% desta foi recusada o que se deveu a um único animal que recusou 10% do total da quantidade que lhe foi proposta. Recusas alimentares mais importantes foram registadas com a dieta tremoço com a qual três animais recusaram respectivamente 4, 15 e 35% do total da quantidade proposta, o que representou 6% desta dieta. O GPV dos vitelos que ingeriram as dietas soja e tremoço foi inferior em 7 e 28%, respectivamente, em comparação com o dos animais que ingeriram a dieta testemunha. Porém, apenas foram observadas diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as dietas testemunha e tremoço. Consequentemente, a ingestão de MS / GPV foi 13 e 22% inferior com as dietas soja e tremoço, respectivamente, em comparação com a dieta testemunha. No entanto, as diferenças observadas entre dietas não foram significativas.

O teor em MS das fezes foi similar entre as três dietas (20 a 21%). No entanto, a quantidade de fezes excretadas foi significativamente ( $p \leq 0,05$ ) superior com as dietas soja e tremoço, em comparação com a dieta testemunha.

## **VI.2.2. Concentração plasmática de triglicéridos e glucose**

### **VI.2.2.1. Triglicéridos**

A concentração plasmática em triglicéridos dos vitelos que receberam a dieta testemunha, que era de 26 mg / 100 ml antes da refeição, sofreu uma forte descida durante as primeiras 4 horas pós-prandiais (Figura VI.6A). Nas 2,5 horas que se seguiram, a concentração elevou-se mas permanecendo sempre inferior ao valor pré-prandial. Com as dietas soja e tremoço os teores plasmáticos em triglicéridos, registados com os vitelos em jejum, foram significativamente inferiores aos registados com a dieta testemunha. No entanto, estes elevaram-se abruptamente durante as duas primeiras horas pós-prandiais, ao fim das quais atingiram valores significativamente superiores aos registados com a dieta testemunha. Os valores decresceram então durante as 4,5 horas que se seguiram especialmente com a dieta tremoço cujo valor, 6,5 horas após a ingestão da dieta, foi significativamente inferior aos registados com as dietas soja e testemunha. Com a dieta soja, os valores registados entre a 2<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> horas pós-prandiais mantiveram-se ainda significativamente superiores aos observados com a dieta testemunha.

### **VI.2.2.2. Glucose**

Os teores plasmáticos em glucose registados com os vitelos em jejum foram similares entre as três dietas experimentais: 103, 101 e 93 mg / 100 ml, respectivamente com as dietas testemunha, soja e tremoço. A concentração plasmática de glucose, instantânea (Figura VI.6B) ou cumulativa (não apresentada), evoluiu de forma similar com as três dietas experimentais. Independentemente da dieta, os teores plasmáticos em glucose aumentaram significativamente durante a primeira hora pós-prandial, mantendo-se superiores aos registados em jejum ao longo de todo o período considerado (6,5 horas). Os valores máximos foram observados 2 e 1 horas após a refeição com a dieta testemunha e as dietas de leguminosas, respectivamente. Durante as primeiras 4 horas pós-prandiais os



teores plasmáticos de glucose observados com a dieta tremoço foram inferiores aos observados com as dietas testemunha e soja, mas as diferenças não foram significativas. De forma análoga ao observado em jejum os valores observados 6,5 horas após a ingestão da dieta foram similares entre as três dietas experimentais.

### **VI.2.3. Digestibilidade dos nutrientes**

Para todos os constituintes do alimento, ambas as dietas baseadas nas proteínas das leguminosas apresentaram valores de digestibilidade fecal aparente inferiores aos da dieta testemunha ( $p \leq 0,05$ ) (Quadro VI.28). Os valores obtidos para a digestibilidade fecal da MS, matéria orgânica (MO), ENA e MM com a dieta tremoço sugerem ainda que esta tenha sido inferior à da dieta soja, mas as diferenças não foram significativas.

No que respeita à digestibilidade ileal aparente de todos os nutrientes, embora não se tenham registado diferenças significativas, os resultados obtidos sugerem que esta tenha sido inferior com a dieta soja em comparação com a dieta testemunha (Quadro VI.28). O mesmo foi observado entre as dietas tremoço e testemunha, mas neste caso com diferenças mais notáveis e significativas ( $p \leq 0,05$ , excepto para o N e MG). As digestibilidades da MS, MO e ENA registadas com a dieta tremoço foram ainda significativamente inferiores às registadas com a dieta soja.

Com as três dietas experimentais, as digestibilidades da MS, MO, ENA e MM registadas ao nível fecal foram superiores às registadas ao nível ileal ( $p \leq 0,05$ , excepto para a MS e MM com a dieta soja). A digestibilidade do N foi também superior ao nível fecal com a dieta testemunha mas inferior com a dieta soja ( $p \leq 0,05$ ). No que respeita à digestibilidade da MG registaram-se igualmente valores superiores desta ao nível fecal com a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores obtidos para a digestibilidade aparente ileal dos AA analisados sugerem que esta tenha sido inferior com a dieta soja em comparação com a dieta testemunha, excepto no caso da glicina, alanina, cisteína e arginina (Quadro VI.29). No entanto, as diferenças foram significativas apenas no caso da valina e da tirosina. A dieta tremoço

também apresentou uma menor digestibilidade dos AA que a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$  para a prolina, valina, metionina, leucina e lisina) excepto para a glicina, cisteína e arginina. A única diferença notável entre as duas dietas de leguminosas foi no caso da lisina cuja digestibilidade registada com a dieta tremoço foi significativamente inferior ( $p \leq 0,05$ ) à da dieta soja. Os valores respeitantes à digestibilidade do N dos AA (NAA) sugerem igualmente que esta tenha sido inferior com as dietas soja e tremoço em comparação com a dieta testemunha, mas as diferenças não foram significativas. Com as três dietas, a digestibilidade aparente do NAA foi superior que a registada para o N total. Independentemente da dieta, as digestibilidades foram sempre superiores para a isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina e arginina, e inferiores para a trionina, glicina, alanina e cisteína, em comparação com a do NAA e com a média dos valores da digestibilidade dos AA com as três dietas. No entanto, esta comparação não foi objecto de análise estatística.

#### **VI.2.4. Composição em ácidos aminados das fontes proteicas e digesta ileal**

Os concentrados proteicos de soja e tremoço apresentaram mais ácido aspártico, glicina, alanina, cisteína e arginina, e menos prolina, valina, metionina, isoleucina, leucina e lisina que o LPD (Quadro VI.26). Como esperado, as diferenças entre as dietas de soja e tremoço foram inferiores ( $\chi^2 = 40$ ) que as registadas entre a dieta testemunha e as duas dietas de leguminosas ( $\chi^2 \geq 154$ ).

Independentemente da dieta, o NAA representou uma menor proporção do N total no digesta ileal que nas dietas correspondentes: 66, 66 e 65% em vez de 82, 83 e 85%, com as dietas testemunha, soja e tremoço, respectivamente. Em comparação com as respectivas dietas, a proteína dos digesta apresentou mais trionina, serina, glicina, alanina e cisteína e menos metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, (e arginina com as dietas soja e tremoço). (Quadro VI.26; Figura VI.7).

As diferenças nos perfis de AA, entre os digesta e as dietas ou fontes proteicas correspondentes, foram consideráveis como evidenciam as elevadas distâncias de  $\chi^2$  ( $\geq$

129) (Quadro VI.30). A composição em AA dos digesta de ambas as dietas de leguminosas foi ainda consideravelmente diferente da das suas principais proteínas e suas sub-unidades ( $\chi^2 \geq 214$ ). Observaram-se diferenças significativas nas proporções de ácido aspártico, glicina e metionina nos digesta ileais entre as dietas soja e testemunha (Figura VI.7). Com a dieta tremoço, as diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) em relação à dieta testemunha foram observadas para a trionina, cisteína, histidina e lisina. Os digesta de ambas dietas de proteínas de leguminosas diferiram ainda, significativamente, na sua composição em ácido aspártico, trionina, ácido glutâmico, glicina, valina, metionina e histidina. Estas diferenças reflectiram-se na relativa elevada distância de  $\chi^2$  (= 86). O digesta da dieta soja foi mais similar ao digesta da dieta testemunha ( $\chi^2 = 28$ ) que o digesta da dieta tremoço ( $\chi^2 = 72$ ). A composição em AA dos digesta ileais foi também, independentemente da dieta, consideravelmente diferente da da proteína endógena e bacteriana ( $\chi^2 \geq 120$ ).

As quantidades de AA encontradas na porção terminal do íleo, em relação à ingestão de MS, são apresentadas no Quadro VI.31. Os valores obtidos sugerem quantidades indigeridas superiores com a dieta soja, em comparação com a dieta testemunha mas as diferenças não foram significativas. O mesmo foi observado entre as dietas tremoço e testemunha, mas com diferenças significativas para o ácido aspártico, ácido glutâmico, cisteína e histidina. Entre as duas dietas de leguminosas não se registaram diferenças notáveis. As fracções proteicas indigeridas adicionais (calculadas como as quantidades de AA encontradas na porção terminal do íleo com as duas dietas de leguminosas, menos as obtidas com a dieta testemunha) foram ricas em ácido aspártico e glutâmico os quais representaram 36,3 e 54,1% do total dos AA com as dietas soja e tremoço, respectivamente. Estas foram muito diferentes da respectiva dieta, digesta total ou da proteína endógena, bacteriana, da soja e do tremoço ( $\chi^2 > 300$ ).

## VI.3. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

### VI.3.1. Desempenho produtivo dos animais

Em primeiro lugar, o desempenho produtivo dos animais que ingeriram a dieta tremoço foi inferior ao dos que ingeriram a dieta testemunha. Os valores obtidos sugerem igualmente um desempenho produtivo inferior dos animais que ingeriram a dieta soja, embora de um modo menos evidente. O GPV dos animais que ingeriram a dieta soja foi, no entanto, satisfatório uma vez que foi similar ao observado com um concentrado de soja não antigénico (Lallès *et al.* 1994). O inferior GPV dos animais observado com a dieta tremoço, em comparação com a dieta testemunha, pode ser explicado pelos valores observados no que respeita à ingestão alimentar e digestibilidade. A apetência dos animais pelas dietas testemunha e soja foi bastante satisfatória já que apenas uma vez a primeira foi parcialmente recusada por um animal. A referida rejeição deveu-se certamente a razões que não a qualidade do alimento já que a proteína deste foi exclusivamente de origem láctea. No que respeita à dieta tremoço, a quantidade proposta recusada pelos animais foi substancialmente mais importante. Esta observação relaciona-se possivelmente com uma questão de palatibilidade da dieta tremoço à qual alguns animais foram sensíveis. O elevado teor do tremoço em alcalóides, susceptível de conferir "um gosto amargo" à dieta que o incorpore na sua composição, pode estar na origem da menor palatibilidade e conseqüentemente menor ingestão desta. Estas suspeitas requerem no entanto posterior confirmação.

Em relação à quantidade de fezes excretadas, a maior excreção observada com as dietas de proteínas vegetais é um aspecto a ter em consideração já que pode eventualmente colocar ao produtor problemas no manejo dos animais. Finalmente, não se registaram casos de diarreia, como indicam os valores médios do teor em MS das fezes.

### VI.3.2. Concentração plasmática de triglicéridos e glucose

Os valores mais baixos observados antes da refeição para as taxas circulantes de triglicéridos, durante os períodos de distribuição das dietas soja e tremoço, indicam que o abomaso nesse momento (jejum) está provavelmente mais vazio que durante o período de distribuição da dieta testemunha. Com efeito, a evacuação gástrica dos lipídios da refeição da véspera é praticamente logo conseguida com o alimento que não coagule no abomaso.

A evolução pós-prandial dos teores plasmáticos em triglicéridos e glucose observada com a dieta testemunha, concorda com observações prévias de vários autores (Toullec *et al.* 1979, Beynen e van Gils 1983, Nunes do Prado *et al.* 1989b, Lallès *et al.* 1995). Apesar das elevadas quantidades de lipídios que atingem o duodeno após a refeição a taxa circulante dos produtos resultantes da sua digestão permanece inalterada ou decresce com a dieta testemunha. Esta observação tem sido explicada pelo incremento de secreção pancreática de insulina (Grizard *et al.* 1982).

O incremento pós-prandial drástico observado na concentração plasmática de triglicéridos quando ambas dietas de leguminosas foram oferecidas aos animais resulta da absorção de quantidades massivas de lipídios, indicando uma elevação da taxa evacuação gástrica destes devida à ausência da coagulação. Esta situação foi igualmente observada por outros autores com outros alimentos não coaguláveis (Guilloteau *et al.* 1977).

A mais rápida elevação pós-prandial da concentração plasmática de glucose, em comparação com a de triglicéridos, observada com as três dietas, concorda com a mais rápida evacuação gástrica da lactose em comparação com a dos lipídios (Toullec *et al.* 1979). O mais rápido decréscimo da concentração de triglicéridos no plasma observado com a dieta tremoço, 2 horas após a refeição, em comparação com a da dieta soja, sugere ainda uma mais lenta evacuação abomasal ou uma mais rápida utilização deste nutriente pelos tecidos, quando a dieta tremoço foi oferecida. A menor concentração de glucose no plasma observada com a dieta tremoço entre 1 e 4,5 horas após a refeição pode ser devida às mesmas razões, mas também ao menor conteúdo de lactose da dieta tremoço (32% na MS) em comparação com o da soja (39%).

Finalmente, no presente ensaio, as duas dietas de leguminosas não induziram uma estase gástrica imediatamente após a refeição como observado por Sissons e Smith (1976) em vitelos pré-ruminantes que receberam dietas baseadas em soja antigénica. Esta observação poderá dever-se à baixa antigenicidade dos concentrados proteicos de leguminosas utilizados na presente experiência, além dos curtos períodos experimentais.

### **VI.3.3. Digestibilidade e composição dos digesta em ácidos aminados**

A digestibilidade aparente ileal foi inferior com a dieta tremoço, em comparação com a dieta testemunha, o que concorda com observações prévias quando da utilização de produtos provenientes de outras leguminosas como por exemplo a soja (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a, Caugant *et al.* 1993a). Os resultados obtidos sugerem que o mesmo se tenha verificado em relação à dieta soja. Os menores valores de digestibilidade ileal da MS e MO deveram-se provavelmente ao elevado conteúdo das leguminosas em carboidratos os quais foram apenas parcialmente degradados ao nível do intestino delgado. Assumindo que a digestibilidade ileal do N do lactosoro foi 94% da do LPD (Caugant *et al.* 1993b), os valores calculados para os concentrados de soja e tremoço foram considerados satisfatórios (0,91 e 0,89, respectivamente). Estes foram superiores que o valor obtido com uma farinha de soja antigénica (0,80; Caugant *et al.* 1993a) e comparáveis aos observados com concentrados de soja tratados a álcool não antigénicos (0,84, Caugant *et al.* 1993a, 0,90, Guilloteau *et al.* 1986b) ou um isolado de soja parcialmente hidrolisado (0,91, Nunes do Prado *et al.* 1989a).

Os valores superiores registados para digestibilidade fecal da MS, MO, ENA e MM, em comparação com os respectivos valores de digestibilidade ileal, concordam com observações prévias quando da incorporação de fontes proteicas lácteas ou não nos leites de substituição (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a). Também o valor superior de digestibilidade fecal do N registado com a dieta testemunha, em comparação com o respectivo valor de digestibilidade ileal, concorda com observações anteriores. Assim, como esperado, a digestibilidade fecal do N foi superior à ileal apenas em 2,7 pontos

percentuais, traduzindo uma absorção importante das proteínas ao nível do intestino delgado e uma fraca absorção de matérias azotadas (sobretudo na forma de amoníaco) ao nível do intestino grosso. No entanto, o menor valor de digestibilidade fecal do N registado com a dieta soja, em comparação com o respectivo valor de digestibilidade ileal, foi inesperado, já que o inverso tem sido geralmente observado. Estes resultados sugerem que o elevado teor de carboidratos nos concentrados das leguminosas utilizados nesta experiência foi responsável por uma elevação da proliferação dos microrganismos resultando num acréscimo da síntese de N bacteriano a partir do suplemento endógeno ao nível do intestino grosso. O mesmo foi também observado quando da utilização de farinha de ervilha (Nunes do Prado *et al.* 1989a, Bush *et al.* 1992a). Assim, pelo menos no que respeita ao N, a determinação da digestibilidade ao nível fecal sobrestima as diferenças entre a dieta testemunha e as outras duas restantes. Assumindo que a digestibilidade fecal do N do lactosoro foi 97% do LPD (Grongnet *et al.* 1981), os valores calculados para os concentrados de soja e tremço (0,84 e 0,86, respectivamente) foram inferiores em relação aos calculados na porção terminal do íleo. No entanto, estes valores são ainda comparáveis aos observados com concentrados de soja não antigénicos tratados a álcool ou extraídos em água (0,89, Guilloteau *et al.* 1986b, 0,81 Lallès *et al.* 1994) e superiores aos observados com farinhas de soja tratadas termicamente antigénicas ou não (0,66 e 0,76, Lallès *et al.* 1994). Assim, a desnaturação e a hidrólise parcial da proteína parece melhorar as digestibilidades aparentes ileal e fecal do N dos produtos de soja e provavelmente do tremço.

A menor proporção de NAA (% do N total) nos digesta em comparação com o das dietas pode dever-se ao seu elevado conteúdo em hexosaminas e ureia que são abundantes nas secreções digestivas e células de descamação (Combe *et al.* 1980, Souffrant 1991). A menor digestibilidade aparente dos AA registada com as dietas soja e tremço, em comparação com a dieta testemunha, concorda com os resultados obtidos por outros autores com leites de substituição baseados em fontes proteicas não lácteas como as da bactéria (Guilloteau *et al.* 1980, Sedgam *et al.* 1985), peixe ou soja (Guilloteau *et al.*

1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a, Caugant *et al.* 1993a) ou ervilha (Bush *et al.* 1992a). No entanto, de forma análoga ao observado com o N total, os valores das digestibilidades dos AA das proteínas de ambas leguminosas foram relativamente superiores aos obtidos com outras dietas baseadas em proteínas vegetais (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a). Os valores sugestivos de uma superior digestibilidade aparente da cisteína e arginina com as duas dietas de leguminosas, em comparação com a dieta testemunha, pode ser devida ao teor superior das proteínas de leguminosas nesses AA. A relativa baixa digestibilidade aparente da trionina e glicina observada com todas as dietas pode ter sido devida ao elevado teor da proteína endógena nesses AA (Sauer *et al.* 1977, Guilloteau *et al.* 1986b). A digestibilidade verdadeira dos AA das dietas soja e tremço (calculada assumindo que a digestão da proteína de origem láctea foi completa e que as quantidades de AA por kg de MS ingerida que escapam à digestão do intestino delgado com a dieta testemunha corresponde à fracção endógena das outras dietas) foi sempre inferior a 1 (0,98 e 0,97 para o NAA, respectivamente) (Quadro VI.29). Os valores obtidos foram geralmente superiores (de 0,03 para o NAA) aos observados com um concentrado de soja tratado a álcool não antigénico (Guilloteau *et al.* 1986b), indicando assim uma ligeira superioridade da utilização dos AA dos dois concentrados de leguminosas utilizados nesta experiência.

Como esperado, quando os animais receberam a dieta testemunha, a composição em AA dos digesta foi muito diferente da da proteína da dieta, bacteriana ou endógena. Esta foi, no entanto, muito similar ao obtido em trabalhos prévios realizados neste mesmo laboratório com dietas baseadas em LPD ( $\chi^2 = 15$  quando comparada com a média de seis experiências) (Bush *et al.* 1992a, Caugant *et al.* 1993a,b, Guilloteau *et al.* 1980, 1986b). Foi também muito próxima da mistura comum de proteínas endógenas e bacterianas (MPEB) que escapa à digestão do intestino delgado (Guilloteau *et al.* 1986b) de vitelos que receberam dietas baseadas na proteína do leite, peixe ou soja ( $\chi^2 = 38$ ) (Quadro VI.30). A mistura teórica de MPEB e dieta testemunha que apresentou o melhor ajustamento com o digesta testemunha conteve 19% ( $p \leq 0,05$ ) de dieta testemunha ( $\chi^2 = 28$ ), sugerindo assim que uma pequena quantidade de proteína láctea poderá estar presente no digesta



testemunha. O mesmo tem sido observado nos digesta de vitelos que receberam dietas baseadas em LPD (Bush *et al.* 1992a, Caugant *et al.* 1993a,b).

A composição em AA do digesta ileal foi pouco alterada pela substituição da dieta testemunha pela dieta soja, o que poderá explicar a elevada digestibilidade verdadeira ileal desta última, como observado com um isolado de soja parcialmente hidrolisado muito digerível (Nunes do Prado *et al.* 1989a). Pelo contrário, uma farinha de soja e um concentrado tratado a álcool induziram alterações mais relevantes na composição dos digesta (Guilloteau *et al.* 1986b, Khorasani *et al.* 1989a, Caugant *et al.* 1993a). A mistura teórica de digesta testemunha e dieta soja que mais se aproximou do digesta soja conteve apenas 7% ( $p > 0,05$ ) de concentrado de soja ( $\chi^2 = 27$ ). Esta observação sugere que a menor digestibilidade aparente do N registada com a dieta soja se deva mais a uma elevação das perdas de proteínas endógenas e bacterianas indigeridas que a uma incompleta digestão da proteína da dieta. No entanto, a composição em AA do adicional de proteínas indigeridas resultante da dieta soja foi muito diferente da da proteína da dieta completa ou das suas sub-unidades, da das proteínas endógena ou bacteriana ( $\chi^2 > 300$ ). Acrescenta-se ainda que não se encontrou nenhuma mistura teórica destas proteínas que oferecesse um ajustamento satisfatório com a fracção indigerida adicional. Esta observação exclui assim a presença de grandes proporções de proteínas intactas (da dieta, endógenas ou bacterianas) ou das suas sub-unidades no suplemento indigerido. Assim, pequenas quantidades de fragmentos de proteínas da dieta, apresentando perfis de AA diferentes da da proteína intacta da dieta provavelmente escapam à digestão. Estes fragmentos apresentaram mais ácido aspártico e menos ácido glutâmico que o observado previamente com concentrados tratados a álcool (Guilloteau *et al.* 1986b, Caugant *et al.* 1993a) ou isolados parcialmente hidrolisados (Nunes do Prado *et al.* 1989a). Apenas o ácido aspártico, a glicina e a cisteína pareceram apresentar uma relativa baixa disponibilidade aparente.

Alterações mais notáveis na composição de AA dos digesta foram induzidas pela substituição da dieta testemunha pela dieta tremçoço. A mistura teórica de digesta testemunha e concentrado de tremçoço que ofereceu o melhor ajustamento com o digesta

tremoço conteve 13% de concentrado de tremoço ( $p \leq 0,05$ ), mas a distância  $\chi^2$  (65) foi ainda muito elevada para considerar este modelo satisfatório. A proteína adicional indigerida resultante da dieta tremoço foi também muito diferente das proteínas da dieta completa ou das suas sub-unidades, das proteínas endógena ou bacteriana, assim como também das suas misturas teóricas ( $\chi^2 > 600$ ). Como para a dieta soja, pequenas quantidades de fracções da dieta apresentando perfis de AA muito diferentes da proteína intacta do tremoço parecem ter escapado à digestão do intestino delgado. O ácido glutâmico e a cisteína foram os únicos AA que apresentaram uma relativa baixa disponibilidade aparente.

Finalmente, a utilização de métodos mais específicos como a técnica do N<sup>15</sup> (Souffrant 1991) e a análise directa da proteína da dieta nos digestas permitirão uma mais rigorosa quantificação e identificação, respectivamente, da proteína alimentar residual nos digesta ileais.

#### VI.4. CONCLUSÕES

A substituição de 71% da proteína láctea pelas proteínas de ambas as leguminosas foi responsável por um decréscimo da digestibilidade aparente fecal dos nutrientes, e ileal no caso da do tremoço, o que pode ser parcialmente consequência da elevação da taxa de evacuação gástrica observada com as dietas baseadas nas leguminosas e da insuficiente eliminação dos seus carboidratos. No entanto, os valores das digestibilidades do N e AA observados com as duas dietas de leguminosas foram satisfatórios uma vez que foram similares aos valores observados com concentrados de soja tratados a álcool. Esta observação pode dever-se, em parte, à eficácia do método de processamento para desnaturar as proteínas da dieta, resultando numa elevação da sensibilidade destas à acção das secreções digestivas.

Quadro VI.24. Composição química das fontes proteicas e dietas (% da matéria seca, partes por milhão para os oligoelementos).

	Fontes proteicas		Dietas		
	Soja	Tremoço	Testemunha	Soja	Tremoço
Humidade	5,0	6,5	5,8	2,7	6,0
N x 6,25	58,6	43,1	21,5	21,1	21,5
Gordura	6,2	7,2	21,4	21,2	20,4
Extractivo não azotado	28,0	45,4	50,1	50,1	50,6
Cinzas	7,2	4,3	7,0	7,6	7,5
Ca	0,36	0,22	1,20	1,1	1,17
P	0,66	0,48	0,79	0,88	0,95
K	0,72	0,51	1,06	0,94	0,93
Na	0,93	0,11	0,41	0,49	0,38
Mg	0,13	0,07	0,12	0,12	0,13
Cl	0,13	0,11	0,99	0,12	1,58
Fe	89	89	8	32	43
Zn	23	24	91	81	89
Mn	16	447	56	53	159
Cu	7	4	7	8	6

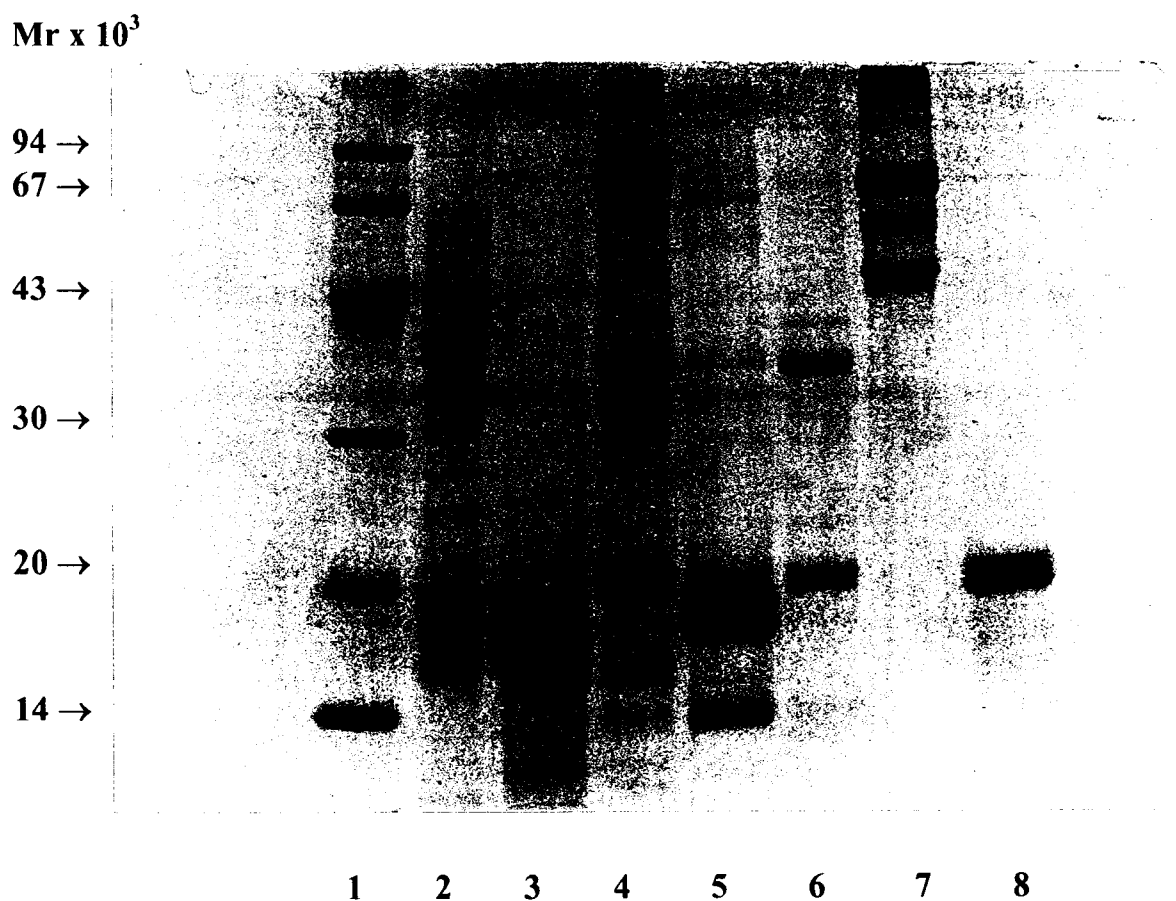


Figura VI.5. Electroforese SDS-PAGE dos pesos moleculares "standards" (pista 1), farinha de trevoço (pista 2), concentrado de trevoço (pista 3), farinha de soja (pista 4), concentrado de soja (pista 5), glicinina purificada (pista 6),  $\beta$ -conglucina (pista 7) e  $\alpha$ -conglucina (pista 8).

Quadro VI.25. Composição das dietas experimentais.

Ingredientes (% de pó)	Dietas		
	Testemunha	Soja	Tremoço
Prémistura de gordura <sup>1</sup>	49,25	—	—
Prémistura de gordura <sup>2</sup>	—	50,12	43,72
Leite em pó desnatado	30,46	—	—
Concentrado de soja	—	26,07	—
Concentrado de tremoço	—	—	35,69
Lactosoro em pó	—	7,36	8,82
Concentrado de lactosoro	—	2,35	2,35
Lactose	15,5	9,38	3,77
Amido prégelatinizado	2,0	—	—
L-lisina-HCl	0,124	0,487	0,746
DL-metionina	0,167	0,251	0,374
Vitaminas e minerais	2,46	3,98	4,54

<sup>1,2</sup> sebo (99,7%) e emulsificante (0,3%) homogeneizado em leite desnatado<sup>1</sup> ou lactosoro<sup>2</sup> (400 g gordura / kg matéria seca).

Quadro VI.26. Composição de ácidos aminados (AA) das fontes proteicas e dietas (g / 100 g AA).

AA <sup>1</sup>	Fontes proteicas		Dietas		
	Soja	Tremoço	Testemunha	Soja	Tremoço
ASP	12,01	11,50	7,78	11,55	10,93
TRI	4,05	3,41	4,20	4,78	4,2
SER	5,56	5,46	5,41	5,35	5,21
GLU	19,51	24,05	21,89	18,91	21,88
PRO	5,42	4,34	9,45	5,26	4,85
GLI	4,15	3,76	1,85	3,49	3,25
ALA	4,29	3,10	3,06	4,34	3,46
CIS	1,72	1,47	0,84	1,84	1,66
VAL	5,04	4,57	6,46	5,17	4,68
MET	1,74	0,75	2,78	2,39	2,48
ILE	4,86	4,72	5,27	5,08	4,81
LEU	7,24	7,53	8,73	7,93	7,87
TIR	3,46	4,61	4,49	3,14	4,22
FEN	5,05	4,22	4,70	4,68	4,08
HIS	2,60	1,97	2,42	2,26	1,88
LIS	6,24	4,30	7,53	8,04	6,60
ARG	7,24	10,26	3,14	5,78	7,96
Σ AA (g / 16g N) <sup>2</sup>	100,19	102,60	104,76	99,67	100,32
NAA (% N total) <sup>3</sup>	85,17	88,53	82,33	83,25	84,75

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; VAL: valina; CIS: cisteína; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> somatório dos AA analisados.

<sup>3</sup> azoto dos AA analisados excepto o N-amídico dos ácidos aspártico e glutâmico.

Quadro VI.27. Crescimento, ingestão e eficiência alimentar (média  $\pm$  erro padrão da média).

	Dietas		
	Testemunha	Soja	Tremoço
Ganho de peso vivo (g / d)	1143 $\pm$ 82 <sup>a</sup>	1064 $\pm$ 89 <sup>ab</sup>	825 $\pm$ 57 <sup>b</sup>
Ingestão alimentar <sup>1</sup>			
- total de matéria seca (kg)	8,81 $\pm$ 0,29	8,93 $\pm$ 0,27	8,00 $\pm$ 0,38
- % da quantidade proposta	98,89 $\pm$ 1,11	100 $\pm$ 0,00	94,04 $\pm$ 3,95
- por kg de ganho peso vivo	1,61 $\pm$ 0,13	1,82 $\pm$ 0,23	1,97 $\pm$ 0,11
Excreção de fezes (g)	1683 $\pm$ 156 <sup>a</sup>	4810 $\pm$ 394 <sup>b</sup>	6218 $\pm$ 417 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ingestão alimentar individual, expressa em % da quantidade proposta, dos vitelos em que se registaram recusas de alimento: dieta testemunha (90,1%); dieta tremoço (96, 85,2 e 65,3%).

a,b  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

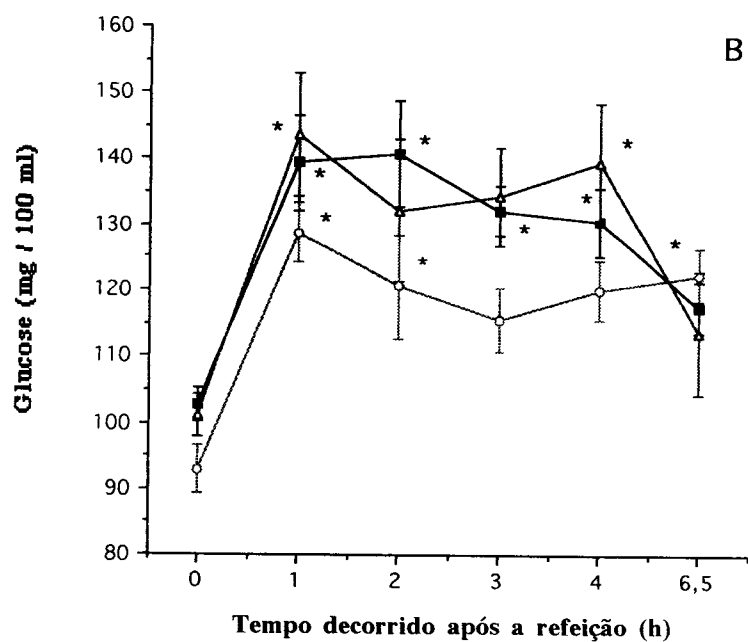
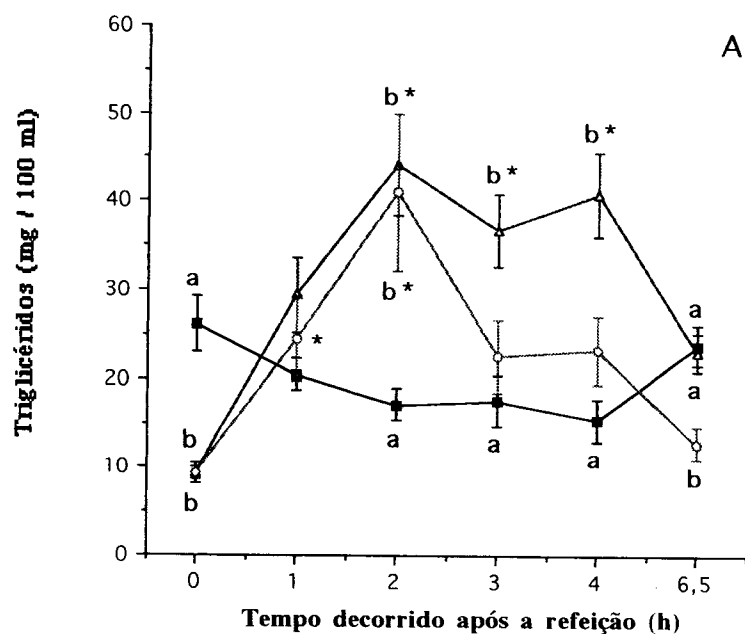


Figura VI.6. Efeito das dietas na concentração plasmática pós-prandial de triglicéridos (A) e glicose (B) com os animais que receberam as dietas testemunha (■), soja (Δ) e tremoço (○).

a,b  $p \leq 0,05$  entre médias com letras diferentes.

\*  $p \leq 0,05$  em relação aos valores pré-prandiais.

Barras verticais são os erros padrão das médias.



Quadro VI.28. Digestibilidades aparentes ileal e fecal (média e erro padrão da média) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), azoto (N), matéria gorda (MG), extractivo não azotado (ENA) e matéria mineral (MM).

Níveis	Dietas					
	Testemunha		Soja		Tremoço	
	ileal	fecal	ileal	fecal	ileal	fecal
MS	0,905 <sup>a</sup> 0,010	0,961 <sup>a*</sup> 0,004	0,848 <sup>a</sup> 0,022	0,890 <sup>b</sup> 0,009	0,771 <sup>b</sup> 0,007	0,840 <sup>b*</sup> 0,010
MO	0,917 <sup>a</sup> 0,009	0,967 <sup>a*</sup> 0,003	0,867 <sup>a</sup> 0,020	0,908 <sup>b*</sup> 0,008	0,791 <sup>b</sup> 0,006	0,856 <sup>b*</sup> 0,010
N	0,918 0,004	0,945 <sup>a*</sup> 0,004	0,899 0,012	0,861 <sup>b*</sup> 0,010	0,884 0,004	0,878 <sup>b</sup> 0,013
MG	0,891 0,018	0,938 <sup>a*</sup> 0,022	0,816 0,068	0,872 <sup>b</sup> 0,078	0,905 0,018	0,876 <sup>b</sup> 0,027
ENA	0,928 <sup>a</sup> 0,011	0,986 <sup>a*</sup> 0,007	0,871 <sup>a</sup> 0,019	0,935 <sup>b*</sup> 0,037	0,705 <sup>b</sup> 0,011	0,830 <sup>b*</sup> 0,011
MM	0,750 <sup>a</sup> 0,032	0,880 <sup>a*</sup> 0,013	0,627 0,052	0,678 <sup>b</sup> 0,020	0,527 <sup>b</sup> 0,030	0,645 <sup>b*</sup> 0,023

a,b a determinado nível (ileal ou fecal)  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

\*  $p \leq 0,05$  entre valores fecais e ileais.

Quadro VI.29. Digestibilidade aparente ileal (média  $\pm$  erro padrão da média) e verdadeira (calculada) dos ácidos aminados (AA).

AA <sup>2</sup>	Digestibilidade				
	APARENTE (dietas completas)			VERDADEIRA <sup>1</sup> (concentrados)	
	Testemunha	Soja	Tremoço	Soja	Tremoço
ASP	0,927 $\pm$ 0,00	0,913 $\pm$ 0,02	0,913 $\pm$ 0,00	0,964	0,967
TRI	0,878 $\pm$ 0,00	0,868 $\pm$ 0,02	0,865 $\pm$ 0,01	0,978	0,992
SER	0,922 $\pm$ 0,00	0,906 $\pm$ 0,02	0,892 $\pm$ 0,01	0,988	0,975
GLU	0,941 $\pm$ 0,01	0,915 $\pm$ 0,02	0,885 $\pm$ 0,01	0,986	0,946
PRO	0,956 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,896 $\pm$ 0,02	0,884 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,978	0,973
GLI	0,842 $\pm$ 0,01	0,870 $\pm$ 0,02	0,870 $\pm$ 0,01	0,957	0,963
ALA	0,893 $\pm$ 0,01	0,896 $\pm$ 0,01	0,877 $\pm$ 0,01	0,973	0,975
CIS	0,789 $\pm$ 0,01	0,854 $\pm$ 0,02	0,797 $\pm$ 0,02	0,954	0,908
VAL	0,946 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,906 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,897 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,976	0,974
MET <sup>3</sup>	0,963 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,905 $\pm$ 0,01	0,854 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,967	0,971
ILE	0,955 $\pm$ 0,00	0,936 $\pm$ 0,01	0,931 $\pm$ 0,01	0,985	0,982
LEU	0,958 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,937 $\pm$ 0,01	0,931 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,986	0,980
TIR	0,953 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,917 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,936 $\pm$ 0,01	0,987	0,989
FEN	0,950 $\pm$ 0,00	0,935 $\pm$ 0,01	0,925 $\pm$ 0,01	0,987	0,984
HIS	0,945 $\pm$ 0,00	0,916 $\pm$ 0,01	0,877 $\pm$ 0,01	0,978	0,951
LIS <sup>3</sup>	0,929 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,912 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,857 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,996	0,998
ARG	0,934 $\pm$ 0,00	0,959 $\pm$ 0,01	0,966 $\pm$ 0,00	0,996	0,992
NAA <sup>4</sup>	0,933 $\pm$ 0,00	0,915 $\pm$ 0,01	0,907 $\pm$ 0,00	0,982	0,974

<sup>1</sup> valores calculados para os concentrados proteicos assumindo que a digestão da proteína láctea foi completa e que as quantidades de ácidos aminados por kg de matéria seca ingerida que escapam à digestão do intestino delgado com a dieta testemunha corresponde fracção endógena nas outras dietas.

<sup>2</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; VAL: valina; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>3</sup> suplemento excluído.

<sup>4</sup> azoto dos ácidos aminados analisados excepto o N-amídico dos ácidos aspártico e glutâmico.

<sup>a,b</sup>  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

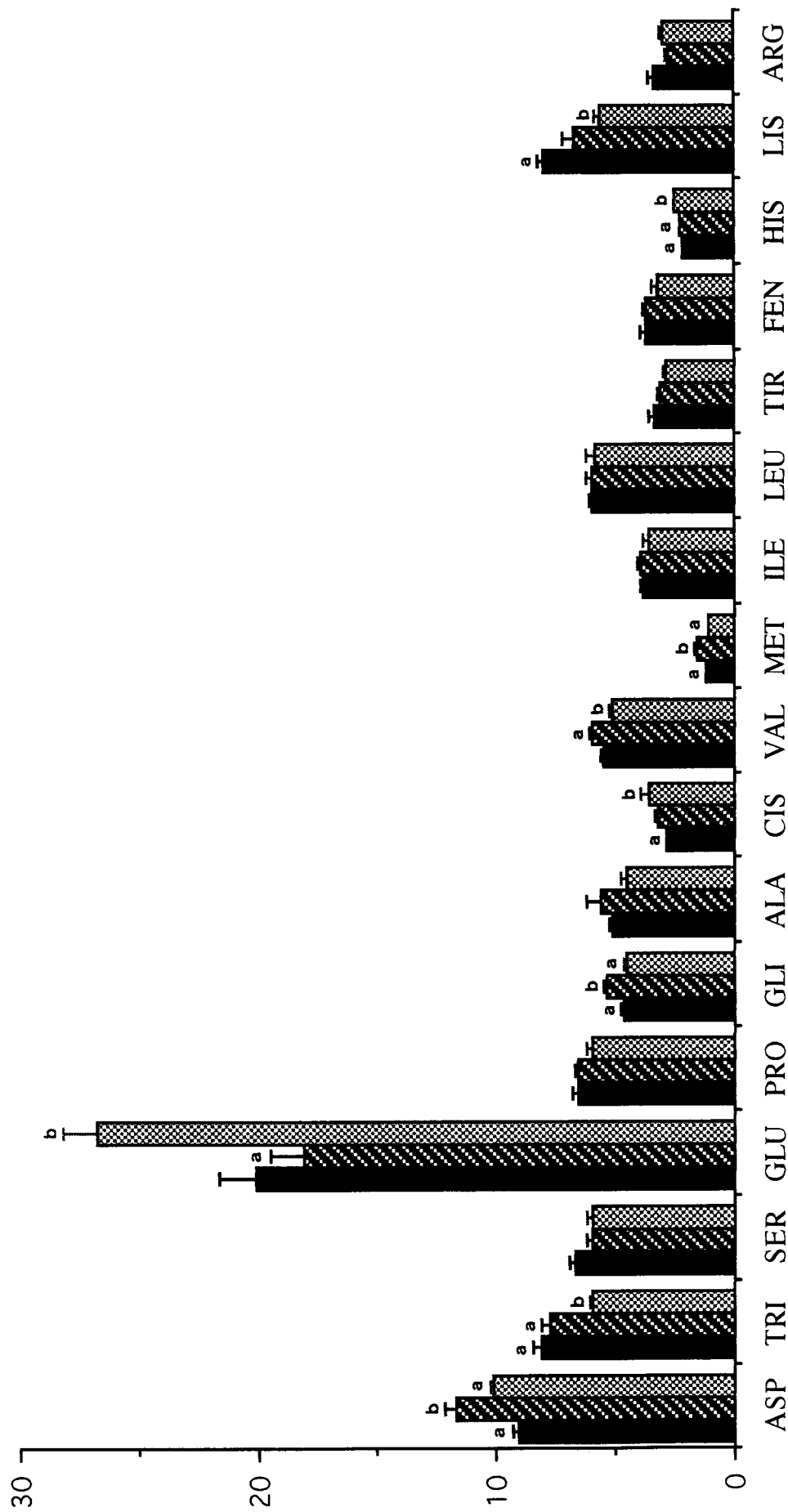


Figura VI.7. Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais com as dietas testemunha (■), soja (▨) e tremoço (▩). a,b  $p \leq 0,05$  entre médias com letras diferentes. Barras verticais são os erros padrão das médias.

Quadro VI.30. Distâncias de  $\chi^2$  entre os digesta ileais e misturas teóricas de proteínas.

	Digesta		
	Testemunha	Soja	Tremoço
Dietas			
Testemunha	227	278	265
Soja	123	129	175
Tremoço	201	228	205
Digesta			
Testemunha	—	28	72
Soja	28	—	86
Tremoço	72	86	—
Concentrado de Soja (Cs)	161	161	180
Concentrado de Tremoço (Ctr)	325	357	265
Proteína endógena (E)	132	120	276
Bactéria (B)	204	156	336
Mistura ileal indigerida de proteínas			
E e B (MPEB)	38	29	134
Glicinina	—	214	—
Sub-unidades da glicinina			
A1	—	279	—
B2	—	303	—
$\beta$ -conglucina	—	533	—
Sub-unidades da $\beta$ -conglucina			
$\alpha$	—	574	—
$\beta$	—	549	—
Conglutina- $\alpha$	—	—	347
Conglutina- $\beta$	—	—	544
81% MPEB + 19% dieta testemunha	28*	—	—
82% MPEB + 18% Cs	—	31*	—
85% MPEB + 15% Ctr	—	—	114*
89% MPEB + 11% Conglutina- $\alpha$	—	—	120*
92% MPEB + 8% Conglutina- $\beta$	—	—	122*
87% Digesta testemunha + 13% Ctr	—	—	65*
90% Digesta testemunha + 10% Conglutina- $\alpha$	—	—	67*
93% Digesta testemunha + 7% Conglutina- $\beta$	—	—	68*

\*  $p \leq 0,05$  para o melhor ajustamento retido entre o digesta ileal e as misturas teóricas de proteínas. E: composição média das fezes do borrego axénico (Combe 1976) e do mecónio do vitelo (Grongnet *et al.* 1981). B: composição média da bactéria fecal do porco (Mason *et al.* 1976) e da ovelha (Mason 1979). MPEB: mistura de proteína comum que escapa à digestão nos vitelos que receberam dietas baseadas em proteína láctea, de peixe ou de soja (Guilloteau *et al.* 1986b). Glicinina (Okubo *et al.* 1969),  $\beta$ -conglucina (Koshiyama 1968), congulutinas  $\alpha$  e  $\beta$  (Duranti *et al.* 1981), sub-unidades da glicinina (Staswick *et al.* 1984, Hirano *et al.* 1985, Momma *et al.* 1985a,b, Negoro *et al.* 1985).

Quadro VI.31. Quantidade (mg / kg matéria seca ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente indigeridos (média  $\pm$  erro padrão da média) e composição da proteína adicional indigerida (% dos AA analisados).

AA <sup>2</sup>	Dietas			Proteína adicional indigerida <sup>1</sup>	
	Testemunha	Soja	Tremoço	Soja	Tremoço
ASP	1281 $\pm$ 51 <sup>a</sup>	2181 $\pm$ 451	2059 $\pm$ 87 <sup>b</sup>	22,09	12,55
TRI	1147 $\pm$ 24	1370 $\pm$ 186	1223 $\pm$ 72	5,47	1,23
SER	947 $\pm$ 29	1086 $\pm$ 185	1227 $\pm$ 70	3,41	4,52
GLU	2911 $\pm$ 427 <sup>a</sup>	3488 $\pm$ 853	5485 $\pm$ 457 <sup>b</sup>	14,14	41,52
PRO	933 $\pm$ 79	1185 $\pm$ 202	1213 $\pm$ 28	6,19	4,52
GLI	657 $\pm$ 58	985 $\pm$ 180	922 $\pm$ 38	8,05	4,27
ALA	733 $\pm$ 44	982 $\pm$ 110	917 $\pm$ 49	6,13	2,98
CIS	398 $\pm$ 26 <sup>a</sup>	583 $\pm$ 80	727 $\pm$ 60 <sup>b</sup>	4,54	5,31
VAL	783 $\pm$ 52	1055 $\pm$ 145	1048 $\pm$ 49	6,68	4,28
MET	171 $\pm$ 13	264 $\pm$ 28	219 $\pm$ 18	2,28	0,77
ILE	535 $\pm$ 26	705 $\pm$ 115	719 $\pm$ 54	4,16	2,97
LEU	836 $\pm$ 44	1080 $\pm$ 160	1178 $\pm$ 81	6,00	5,52
TIR	478 $\pm$ 25	565 $\pm$ 91	585 $\pm$ 53	2,13	1,74
FEN	525 $\pm$ 22	660 $\pm$ 94	664 $\pm$ 61	3,30	2,23
HIS	302 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	409 $\pm$ 69	503 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	2,61	3,24
LIS	1130 $\pm$ 48	1190 $\pm$ 151	1140 $\pm$ 48	1,48	0,16
ARG	461 $\pm$ 12	517 $\pm$ 112	597 $\pm$ 41	1,36	2,19

<sup>1</sup> quantidade total de ácidos aminados encontradas na porção terminal do íleo, com as dietas soja e tremoço, subtraída da obtida com a dieta testemunha.

<sup>2</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; VAL: valina; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; FEN: fenilalanina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>a,b</sup>  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

## **CAPÍTULO VII - EXPERIÊNCIA 3: DIGESTÃO DAS PROTEÍNAS DO GLÚTEN DE TRIGO E DA BATATA PELO VITELLO PRÉ-RUMINANTE: DIGESTIBILIDADE, COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS AMINADOS E PROTEÍNAS IMUNOREACTIVAS NO DIGESTA ILEAL**

A presente experiência foi conduzida de forma a avaliar a influência da utilização das proteínas do glúten de trigo nativo e da batata em leites de substituição destinados à alimentação do vitelo pré-ruminante. Avaliou-se com os presentes ensaios o efeito das referidas fontes proteicas sobre o desempenho produtivo dos animais e a sua utilização digestiva.

### **VII.1. MATERIAIS E MÉTODOS**

A metodologia utilizada na presente experiência foi idêntica à da experiência anterior e por isso aqui descrevemos apenas aspectos respeitantes ao presente ensaio.

#### **VII.1.1. Dietas experimentais**

##### **VII.1.1.1. Caracterização das dietas experimentais**

Prepararam-se dois concentrados proteicos a partir de uma farinha de trigo (*Triticum aestivum*) e dos efluentes da batata (*Solanum tuberosum* L) contendo, respectivamente, 84% e 82% de PB (% na MS) (Quadro VII.32). O concentrado de trigo foi o glúten nativo. O concentrado proteico de batata foi obtido a partir dos subprodutos da batata por coagulação térmica. Ambos os produtos foram preparados pela Roquette Frères (Lestrem, France).

Prepararam-se três dietas experimentais (testemunha (T), glúten (G) e batata (B)) de forma a conterem aproximadamente 23% de PB e 21% de MG (com base na MS) (Quadro VII.32). Na dieta testemunha, a proteína foi proveniente na sua totalidade de LPD e AA de síntese (Quadro VII.33). Nas outras duas dietas, 51 a 52% da proteína foi proveniente dos concentrados proteicos de glúten de trigo ou de batata, sendo o restante proveniente do LPD e AA de síntese. Os suplementos de L-lisina-HCl e DL-metionina foram calculados de forma a obter nas três dietas experimentais níveis totais de 1,8 e 0,9% de lisina e AA sulfurados, respectivamente. A taxa de substituição foi escolhida de forma a utilizar nas três dietas a mesma prémistura de gordura baseada no LPD. A composição em AA dos concentrados proteicos e das dietas experimentais é apresentada no Quadro VII.34.

#### VII.1.1.2. Preparação e distribuição das dietas experimentais

A dieta testemunha foi um alimento completo (alimento de base 1). As outras duas dietas foram obtidas por mistura, no momento da sua utilização, de um alimento de base (alimento de base 2 ou 3), dos concentrados proteicos de glúten de trigo ou de batata e de lactose, nas seguintes proporções (%):

Alimento	Dieta		
	Testemunha	Glúten	Batata
Alimento de base 1	100	—	—
Alimento de base 2	—	—	75,380
Alimento de base 3	—	75,380	—
Concentrado de batata	—	—	14,732
Concentrado de glúten	—	14,528	—
Lactose	—	10,091	9,888

Após o período pré-experimental os animais de ambos os ensaios foram submetidos a três períodos experimentais. Cada vitelo recebeu sucessivamente cada uma das três dietas experimentais (testemunha, glúten e batata) durante um período de duas semanas (uma de

adaptação à dieta e uma de determinação dos diversos parâmetros avaliados) por ordens diferentes segundo um Quadrado Latino Duplo e de acordo com os esquemas seguintes:

#### Ensaio 1

Períodos	Vitelos	A	B	C	D	E	F
1		T	T	B	B	G	G
2		B	G	G	T	T	B
3		G	B	T	G	B	T

#### Ensaio 2

Períodos	Vitelos	A	B	C	D	E
1		T	T	B	B	G
2		B	G	G	T	T
3		G	B	T	G	B

### VI.1.2 Animais e alimentação

Para o presente trabalho utilizou-se um total de 11 animais, 6 machos no ensaio 1 e 5 fêmeas fistuladas no ensaio 2. Os animais iniciaram os períodos experimentais com a idade média de 2 e 3 meses de vida, nos ensaios 1 e 2, respectivamente.

A quantidade de alimento oferecida a cada vitelo foi de 58 g de MS / kg<sup>0,75</sup> / dia e ajustada semanalmente ao peso corporal do animal.

### VI.1.3. Parâmetros avaliados

Para a concretização dos objectivos desta experiência realizaram-se dois ensaios. No ensaio 1 avaliou-se o desempenho produtivo dos animais e determinou-se a digestibilidade fecal dos constituintes dos alimentos. A digestibilidade ileal e a composição em AA dos



digesta foram determinadas nos animais cânulados do ensaio 2. Os animais deste ensaio serviram ainda para a quantificação e identificação das proteínas imunoreactivas.

A metodologia utilizada para determinação das digestibilidades dos alimentos foi idêntica à da experiência anterior. Os animais foram munidos do catéter no abomaso e da cânula reentrante no duodeno quando atingiram a idade média de 2,5 meses de vida.

#### **VI.1.4. Análises laboratoriais**

As análises da MS, N, MG, MM e a composição em AA das fontes proteicas e/ou digesta e/ou fezes foram realizadas de forma idêntica à descrita na experiência anterior. No entanto, na presente experiência não foi possível dosear correctamente a fenilalanina no digesta ileal, possivelmente devido ao seu elevado conteúdo em mucoproteína.

As proteínas do LPD e dos digesta testemunha foram extraídas numa solução tampão fosfato (PBS) (0,14 M NaCl, 0,02 M Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,0025 M KCl, 0,0015 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7,4). As proteínas do glúten de trigo e correspondente digesta foram extraídas numa solução de etanol (96%) e água (70:30, v / v). Finalmente, as proteínas foram extraídas do concentrado de batata e correspondente digesta num tampão borato (0,1 M NaBO<sub>3</sub>, 0,15 M NaCl, pH 8,0) ou num tampão SDS-Tris preparado segundo Laemmli (1970). Os extractos de proteína foram preparados por agitação contínua de uma determinada quantidade de amostra (1 g / 20 ml) durante 60 minutos à temperatura ambiente (25°C) e recuperação do sobrenadante por centrifugação a 12 000 g durante 30 minutos. As proteínas solúveis dos extractos obtidos foram determinadas segundo o método de Lowry *et al.* (1951).

As electroforeses SDS-PAGE (Laemmli 1970) foram efectuadas em condições redutoras. As bandas obtidas por electroforese das proteínas de ambos os concentrados proteicos são apresentadas na Figura VII.8. Como esperado, a extracção em SDS aumentou efectivamente a solubilidade das proteínas do concentrado de batata o que é demonstrado pelo aparecimento de proteínas de baixo peso molecular.

A detecção das proteínas imunoreactivas efectuou-se utilizando anticorpos produzidos em coelhos contra as proteínas "nativas", isto é, extraídas dos concentrados proteicos do glúten de trigo e da batata como descrito anteriormente. Cada antigéneo foi injectado subcutaneamente em três coelhos, em 30 pontos diferentes. A quantidade de proteína injectada por animal foi aproximadamente de 1 mg para cada antigéneo, emulsificado (v / v) em adjuvante de Freund (Sigma, La Verpillière, France) completo (primeira injeção) ou incompleto (injeções seguintes). A imunização repetiu-se 4 vezes com intervalos entre si de 21 dias. O serum completo foi diluído à razão de 1 para 500 em PBS, antes de utilizado nos testes imunoquímicos.

As proteínas imunoreactivas dos concentrados de glúten de trigo e de batata assim como as dos respectivos digesta foram detectadas pela técnica "dot-blotting" (Stott 1989). Para tal, procedeu-se ao recorte de folhas de nitrocelulose (NC) (Hybond-C super, Amersham, Buckinghamshire, UK) de forma a revestir um aparelho de "dot-blotting" de 96 orifícios (Convertible Filtration Manifold System, Gibco BRL, Gaithersburg, MA, USA). As membranas, após imersão em PBS, foram colocadas no referido sistema. Procedeu-se então à deposição (5µl) de diluições em série (1:1) das soluções dos extractos de proteína "standardizadas" (0,15 mg / ml), sob vácuo, sobre os discos de NC delimitados pelos orifícios do aparelho. Após 10 minutos, as membranas foram retiradas e imergidas numa solução saturante (LPD, 50 mg / ml) em tampão Tris (Tris 10 mM, NaCl 150 mM, pH 8,0) e colocadas num agitador de placas. Decorridos 30 minutos, as membranas foram passadas três vezes por um tampão Tris-Tween 20 (0,5%, v / v). O aparelho "dot-blotting" foi revestido novamente com estas folhas de NC saturadas. Os serum específicos (diluição 1:500) foram então depositados (5µl) nas áreas das membranas de NC já revestidas com as diluições dos antigéneos. Após 10 minutos sob vácuo, as membranas foram finalmente retiradas, lavadas em tampão Tri-Tween 20 e incubadas com Igs anti-coelho conjugadas à peroxidase (Sigma). Após lavagem, as membranas foram incubadas com uma solução de diaminobenzidina (Sigma) como substrato do enzima, até uma coloração óptima castanha permanente ser desenvolvida (geralmente 5 minutos). Sob acção do enzima, a

diaminobenzidina fornece um produto castanho insolúvel que precipita sobre a membrana em quantidade proporcional à quantidade de proteínas imunoreactivas presentes nos extractos de proteína depositados inicialmente. As membranas foram secas em estufa a 37°C, durante 2 horas, antes da análise visual. O LPD e os digesta dos vitelos que receberam a dieta testemunha foram utilizados como controle negativo. Os níveis de antígenos foram titulados como o  $\log_2$  das diluições, acima das quais a coloração castanha desapareceu.

As amostras dos extractos de proteína dos dois concentrados proteicos e dos respectivos digesta foram ainda analisadas pela técnica "immuno-blotting" após electroforese SDS-PAGE e electro-transferência sobre as membranas de NC (Gershoni e Palade 1982 e Stott 1989).

#### **VI.1.5. Cálculos realizados e tratamento estatístico dos resultados**

Os cálculos realizados e o tratamento estatístico dos resultados efectuaram-se de forma idêntica ao descrito para a experiência anterior. No entanto, no respeito aos perfis em AA das proteínas, na presente experiência dosearam-se apenas 16 AA pelo que se procedeu às devidas correcções da formula de cálculo da distância do  $\chi^2$ .

As composições de referência de AA das proteínas do glúten de trigo foram as das proteínas solúveis (Feillet 1976), gluteninas nativas segundo o fraccionamento de Osborne (Orth e Bushuk 1973), gluteninas purificadas (Huebner e Wall 1976), gliadinas totais (Pépin 1981) e as suas sub-unidades (Ewart 1976, Bietz *et al.* 1977, Terce-Laforgue *et al.* 1980), gliadinas de elevado peso molecular (Bietz e Wall 1973) e uma mistura teórica de proteínas contendo 20% de proteínas solúveis, 35% de gliadinas e 45% de gluteninas, segundo Popineau (1985). Para a análise dos resultados da dieta batata utilizou-se a composição média em AA da batata (revisto por Davin 1985).

## **VII.2. RESULTADOS**

As condições de saúde dos animais foram de uma forma geral satisfatórias em ambos os ensaios. As cânulas permaneceram funcionais durante todos os períodos experimentais.

### **VII.2.1. Ingestão alimentar, crescimento e estado de saúde dos animais**

Para nenhum dos parâmetros avaliados foram observadas diferenças significativas entre grupos ( $p > 0,05$ ) (Quadro VII.35). Os valores obtidos sugerem que a ingestão alimentar foi muito satisfatória no grupo de animais que ingeriu a dieta testemunha no qual não se registou rejeição de alimento. Pelo contrário, dois vitelos recusaram 29 e 32% das quantidades propostas com a dieta glúten e 7 e 28% com a dieta batata. Assim, as recusas alimentares representaram 10 e 6% da média proposta com as dietas glúten e batata, respectivamente. O GPV dos vitelos que ingeriram as dietas glúten e batata foi inferior em 13 e 18%, respectivamente, em comparação com o dos vitelos que ingeriram a dieta testemunha. Consequentemente, a ingestão de MS / GPV foi 86 e 33% superior com as dietas glúten e batata, em comparação com a dieta testemunha, respectivamente.

O nível de MS das fezes foi similar (19%) entre as três dietas. No que respeita à quantidade de fezes excretada, embora não se tendo observado diferenças entre grupos, os valores registados sugerem que esta tenha sido superior com os vitelos que ingeriram as dietas glúten e batata em comparação com a da dieta testemunha.

### **VI.2.2. Digestibilidade dos nutrientes**

A digestibilidade aparente fecal dos nutrientes foi significativamente inferior com a dieta glúten em comparação com a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$ ), excepto para o N e o ENA (Quadro VII.36). O mesmo foi observado entre as dietas batata e testemunha, mas com diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) para todos os nutrientes, excepto para o ENA. A

digestibilidade do N com a dieta batata foi ainda inferior ( $p \leq 0,05$ ) à registada com a dieta glúten.

Os valores obtidos relativos à digestibilidade ileal sugerem que esta tenha sido inferior com as dietas glúten e batata quando comparadas com dieta testemunha. No entanto, as diferenças foram apenas significativas com a dieta batata para a MS, MO, N e MM. A mesma tendência foi observada com a dieta batata, em comparação com a dieta glúten, mas as diferenças foram significativas ( $p \leq 0,05$ ) apenas para a MM. Com as três dietas, a digestibilidade foi significativamente inferior ( $p \leq 0,05$ ) ao nível ileal que ao nível fecal, excepto para a MG com as dietas testemunha e glúten cujos valores, embora também inferiores, não atingiram significância estatística.

No que respeita à digestibilidade ileal aparente dos AA analisados os valores obtidos sugerem que esta tenha sido inferior com a dieta glúten, em comparação com a dieta testemunha, excepto para a cisteína, mas as diferenças foram significativas ( $p \leq 0,05$ ) apenas para a lisina (Quadro VII.37). O mesmo foi observado entre as dietas batata e testemunha (excepto para a arginina) com diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) para o ácido glutâmico, prolina, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e lisina. A dieta batata, em comparação com a dieta glúten, apresentou ainda valores de digestibilidade inferiores ( $p \leq 0,05$ ) para o ácido glutâmico e a cisteína. Embora não se tenham observado diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), os valores obtidos relativos à digestibilidade do NAA sugerem que esta tenha sido inferior com as dietas glúten e batata, em comparação com a dieta testemunha. Com as três dietas, a digestibilidade foi sempre superior para a valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e arginina, e inferior para o ácido aspártico, trionina, glicina, alanina e cisteína, que para o NAA. No entanto, esta comparação não foi objecto de análise estatística.

### **VII.2.3. Composição em ácidos aminados das fontes proteicas e dos digesta ileais**

O concentrado proteico de glúten de trigo apresentou consideravelmente mais ácido glutâmico, prolina, glicina, cisteína e menos ácido aspártico, leucina e lisina que o LPD

(Quadro VII.34). Pelo contrário, o concentrado proteico de batata apresentou mais ácido aspártico e glicina, e menos ácido glutâmico e prolina que o LPD. Daqui resultaram elevadas distâncias de  $\chi^2$  ( $\geq 88$ ) entre dietas.

A proporção do NAA (% do N total) foi inferior nos digesta ileais que nas dietas correspondentes (72, 71 e 65 vs 76, 78 e 80, com as dietas testemunha, glúten e batata, respectivamente). Em comparação com as respectivas dietas, a proteína dos digesta apresentou consideravelmente mais trionina, glicina, alanina, cisteína (e ácido glutâmico com a dieta batata), e menos metionina, isoleucina, leucina, tirosina e lisina (e prolina e arginina com as dietas testemunha e batata, respectivamente) (Quadro VII.34; Figura VII.9). Consequentemente, observaram-se distâncias de  $\chi^2$  muito elevadas entre os digesta e as dietas correspondentes ( $\geq 161$ ) (Quadro VII.38).

Em comparação com o digesta testemunha, o digesta glúten conteve mais prolina e menos alanina, valina e lisina ( $p \leq 0,05$ ) (Figura VII.9). No digesta batata, as proporções de ácido aspártico, glicina e cisteína foram superiores ( $p \leq 0,05$ ) que no digesta testemunha. Finalmente, a proporção de prolina foi superior e a de ácido aspártico inferior ( $p \leq 0,05$ ) no digesta glúten, em comparação com o digesta batata. As diferenças globais foram superiores entre o digesta glúten e os digesta testemunha ou batata ( $\chi^2 = 83$  ou  $81$ ), em comparação com as diferenças entre os digesta testemunha e batata ( $\chi^2 = 45$ ) (Quadro VII.38). No entanto, estes valores foram pequenos quando comparados com os observados entre os digesta e as respectivas dietas. Os digesta foram igualmente muito diferentes das fontes proteicas correspondentes ( $\chi^2 \geq 264$ ). O digesta glúten diferiu consideravelmente das principais fracções ou sub-unidades do glúten ( $\chi^2 \geq 143$ ). A glutenina purificada foi a proteína menos diferente da do digesta glúten, mas a distância considerável de  $\chi^2$  (143) indica que mesmo esta proteína, como um todo, não teve grande representação no digesta. A composição em AA dos digesta foi também, independentemente da dieta, muito diferente da das proteínas endógena e bacteriana ( $\chi^2 \geq 176$ ).

Quando os cálculos foram realizados excluindo o ácido glutâmico e a prolina observou-se uma diminuição das distâncias de  $\chi^2$  entre o digesta glúten e os outros dois

digesta, e as misturas teóricas de proteínas endógena e bacteriana (Quadro VII.39). As diferenças mais notáveis foram observadas na distância de  $\chi^2$  entre o digesta glúten e o digesta testemunha ( $\chi^2 = 41$ , em vez de 83) e a MPEB ( $\chi^2 = 39$ , em vez de 228).

As quantidades de AA encontradas na porção terminal do íleo, em relação à ingestão de MS, são apresentadas no Quadro VII.40. Os valores obtidos sugerem que as quantidades indigeridas tenham sido sempre superiores com as dietas glúten e batata em comparação com a dieta testemunha. No entanto, apenas entre as dietas batata e testemunha as diferenças observadas foram significativas ( $p \leq 0,05$ , excepto para o ácido glutâmico, prolina, histidina e arginina). As diferenças foram também significativas entre as duas proteínas vegetais para o ácido aspártico e a lisina. As fracções proteicas indigeridas adicionais, (calculadas como as quantidades de AA encontradas na porção terminal do íleo com as dietas glúten e batata, menos as obtidas com a dieta testemunha) foram ricas em ácido glutâmico e prolina com a dieta glúten, e em ácido aspártico e ácido glutâmico com a dieta batata, em comparação com a dieta testemunha. O somatório destes representou 54,6 e 37,5% da quantidade total dos AA, respectivamente. As referidas fracções indigeridas foram muito diferentes das proteínas endógenas, bacterianas, do glúten e da batata ( $\chi^2 \geq 223$ ). Em comparação com o respectivo digesta total, a proteína adicional indigerida foi mais similar no caso da dieta batata que no caso da dieta glúten ( $\chi^2 = 55$  e 377, respectivamente).

#### **VII.2.4. Proteínas imunoreactivas no digesta ileal**

As proteínas imunoreactivas, determinadas por análise "immuno-blotting", foram detectadas no extracto de proteína do concentrado de glúten de trigo mas não no do digesta correspondente. Pelo contrário, no que respeita à batata, as proteínas imunoreactivas foram detectadas no concentrado proteico e no respectivo digesta. Estas proteínas detectadas no digesta representaram aproximadamente 6% da quantidade presente no extracto de proteína do concentrado de batata (Figura VII.10). No entanto, as proteínas imunoreactivas detectadas pertencem à fracção proteica solúvel que representa apenas 2% do total da

proteína do concentrado de batata. A muito fraca solubilidade da proteína da batata reflecte o efeito da coagulação térmica desenvolvida para recuperação das proteínas dos efluentes da batata. Finalmente, os resultados obtidos por análise "immuno-blotting" demonstraram que as proteínas imunoreactivas detectadas na fracção solúvel do concentrado de batata apresentam Mr de 43 000, 22 000, 20 000 e 14 000 (Figura VII.11). As proteínas imunoreactivas encontradas no digesta ileal, quando a dieta batata foi oferecida aos vitelos, apresentaram Mr de 43 000 e inferior a 14 000.

### **VI.3. DISCUSSÃO DE RESULTADOS**

#### **VI.3.1. Desempenho produtivo dos animais**

Apesar de não se terem observado diferenças significativas, os valores obtidos sugerem um desempenho produtivo inferior dos animais que receberam as dietas de proteínas vegetais, em comparação com os que receberam a dieta testemunha. Os valores sugestivos de um GPV inferior dos vitelos que ingeriram as dietas glúten, e especialmente batata, em comparação com os da dieta testemunha, podem explicar-se pelos valores observados respeitantes à ingestão alimentar e digestibilidade dos nutrientes.

As condições de saúde dos animais foram de uma forma geral satisfatórias. Não foram observados casos de diarreia como indicam os valores do teor em MS das fezes. Uma eventual quantidade superior de fezes excretadas com as dietas glúten e batata, em relação à dieta testemunha, como sugerem os valores registados, está em concordância com o observado geralmente quando da utilização de fontes proteicas vegetais neste tipo de alimento.



### VI.3.2. Digestibilidade e composição em ácidos aminados dos digesta

A digestibilidade dos nutrientes foi de uma forma geral inferior com as dietas glúten e batata, em comparação com a dieta testemunha, quer ao nível fecal quer ao nível ileal (Quadro VII.36). Ao nível ileal, as variações individuais foram mais importantes e consequentemente apenas se registaram diferenças significativas entre as dietas batata e testemunha. A dieta batata parece ter sido ainda ligeiramente menos digerível que a dieta glúten, embora diferenças significativas tenham sido observadas apenas para o N ao nível fecal.

O valor calculado da digestibilidade aparente fecal do N do concentrado proteico de glúten de trigo foi 0,91 o qual é ligeiramente inferior ao obtido por Toullec e Grongnet (1990) (0,94). Esta diferença pode ser atribuída aos diferentes níveis de inclusão (14,5 vs 5,5%). Pelo contrário, o valor calculado da digestibilidade do N para o concentrado proteico de batata (0,86) foi ligeiramente superior ao registado previamente (0,83), com um produto similar, neste mesmo laboratório (Toullec e Coroller, resultados não publicados).

A elevação da digestibilidade aparente da maioria dos nutrientes entre os níveis ileal e fecal concorda com observações prévias quando da utilização de leites de substituição incorporando fontes proteicas lácteas ou não (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a), excepto para a MG com a qual não se esperava observar uma clara absorção ao nível do intestino grosso. Da análise dos resultados das digestibilidades ileal e fecal das MG, obtidos anteriormente com 11 alimentos diferentes neste mesmo laboratório, constata-se que globalmente as suas médias são muito aproximadas, e a diferença sem qualquer significado estatístico ( $p = 0,54$ ). Esta observação é lógica uma vez que a digestão das MG é praticamente conseguida na porção terminal do íleo. Com efeito, o intestino grosso só consegue absorver ácidos gordos de cadeia curta, mas estes, quando presentes nas MG alimentares, são particularmente bem absorvidos ao nível do intestino delgado, não aparecendo assim (ou em quantidade muito reduzida) no intestino grosso. Consequentemente, se os ácidos gordos de cadeia longa que escapam à digestão do intestino delgado não são absorvidos no intestino grosso, não deverão ser encontradas

diferenças notáveis entre as digestibilidades ileal e fecal das MG. No entanto, admite-se que se possa produzir um pequeno aporte de MG ao nível do intestino grosso resultante de descamações da mucosa e da proliferação de bactérias. Podemos assim esperar, eventualmente, uma ligeira diminuição da digestibilidade aparente entre a porção terminal do íleo e o tubo digestivo. No entanto, os aportes resultantes de descamações e da proliferação bacteriana, no intestino grosso, são provavelmente fracos em relação às variações fisiológicas individuais da digestibilidade. A este respeito, note-se que a variabilidade da digestibilidade é geralmente mais importante para as MG que para a MO ou o N.

De qualquer forma, no presente trabalho não esperávamos observar uma elevação da digestibilidade das MG entre a porção terminal do íleo e o tubo digestivo, com as três dietas experimentais, embora diferenças significativas tenham sido observadas apenas no caso da dieta batata. A única explicação encontrada para este facto é a de que as cânulas possam ter perturbado a digestão das MG nos vitelos fistulados em comparação com a da dos vitelos intactos. É evidente que a colocação das cânulas, como todas as técnicas, tem inconvenientes e as suas limitações, não tendo um efeito favorável sobre a fisiologia digestiva dos animais: estas podem nomeadamente ter influência sobre a motricidade e eventualmente sobre as secreções digestivas. No entanto, pensamos que actualmente constituem a melhor técnica para o estudo da digestão na porção terminal do íleo. Admitimos a possibilidade de que tenhamos trabalhado neste ensaio com animais mais sensíveis que o habitual. Se a digestão das MG foi perturbada, o mesmo pode ter acontecido para os outros constituintes do alimento, nomeadamente para o N, mas a sua caracterização é mais difícil. Se analisarmos o efeito das cânulas sobre a digestão do N com a dieta testemunha observamos que a quantidade de N que escapa à digestão no intestino delgado foi de 3,3 g / kg de MS ingerida. Esta quantidade é ligeiramente superior à observada habitualmente (em média, 2,8 para os primeiros 5 ensaios realizados no Laboratório do Jeune Ruminant). No entanto, esta elevação (+ 17%) é de fraca magnitude em comparação com as diferenças entre as quantidades de MG indigeridas na porção

terminal do íleo e o tubo digestivo (+81% na porção terminal do íleo). A digestão do N foi assim provavelmente pouco perturbada em relação à das MG; a comparação entre dietas permanece assim válida, pelo menos no que respeita aos parâmetros relacionados com o N, e que constituem o principal objectivo do ensaio. Além disso, como a eventual perturbação da digestão das MG foi idêntica para as três dietas experimentais, esta não deverá ter afectado as comparações entre grupos para qualquer um dos parâmetros analisados.

No que concerne à digestibilidade ileal aparente do N, os valores calculados para os concentrados proteicos do glúten de trigo e da batata foram 0,84 e 0,76, o que representou 92 e 83% da digestibilidade do LPD, respectivamente. O valor do glúten de trigo foi similar ao de observações anteriores com proteína de trigo solubilizado (Toullec e Guilloteau, resultados não publicados), lactosoro, concentrados proteicos de soja tratada a álcool e de peixe hidrolisado (Caugant *et al.* 1993a,b, Guilloteau *et al.* 1986b). Pelo contrário, o valor do concentrado de batata foi inferior aos dos produtos acima mencionados e aos obtidos com uma farinha de soja processada e com a ervilha pré-gelatinizada (Caugant 1993a, Nunes do Prado 1989a). Assim, o glúten nativo parece ser facilmente digerido pelo vitelo pré-ruminante enquanto que no caso do concentrado de batata um processamento adicional poderia melhorar a sua digestibilidade.

A menor proporção de NAA (% do N total) nos digesta, em comparação com as dietas, sugere, como na experiência anterior, que os primeiros sejam abundantes em secreções digestivas e células de descamação as quais se sabe serem ricas em hexosaminas e ureia (Combe *et al.* 1980, Souffrant 1991). A menor digestibilidade aparente de alguns AA observada com a dieta glúten e especialmente com a dieta batata, em comparação com a dieta testemunha, está em concordância com os resultados obtidos por outros autores com leites de substituição incorporando fontes proteicas não lácteas como as da bactéria (Guilloteau *et al.* 1980, Sedgman *et al.* 1985), peixe ou soja (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a, Caugant *et al.* 1993a), ervilha (Bush *et al.* 1992a) ou tremçoço (experiência anterior). No entanto, contrastando com o observado previamente com um glúten parcialmente hidrolisado (Bush *et al.* 1992b), as diferenças entre as dietas glúten e

testemunha não atingiram aqui níveis significativos, excepto para a lisina. A fraca digestibilidade aparente da trionina e da glicina observada com todas as dietas estudadas deveu-se possivelmente ao elevado conteúdo destes AA na proteína endógena (Sauer *et al.* 1977, Guilloteau *et al.* 1986b). A eventual menor digestibilidade aparente da trionina sugerida pelos valores observados com ambas as dietas de proteínas vegetais, e da cisteína com a dieta batata, pode dever-se em parte a um incremento de perdas de proteína endógena (Guilloteau *et al.* 1986b). O mesmo fenómeno foi já observado com a maioria dos produtos provenientes da soja (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a) e outras leguminosas como a ervilha (Bush *et al.* 1992a).

As quantidades de AA indigeridas encontradas na porção terminal do íleo foram de uma forma geral superiores com as dietas glúten e batata, em comparação com a dieta testemunha (Quadro VII.40). Consequentemente, a digestibilidade verdadeira dos AA com o concentrado glúten e especialmente com o concentrado batata foi sempre inferior a 1 (0,92 e 0,87 para o NAA, respectivamente) (Quadro VII.37). Os AA essenciais e semi-essenciais, com excepção da histidina e cisteína, foram mais digestíveis que o NAA para ambos os concentrados. A relativa fraca digestibilidade da cisteína parece ser usual já que o mesmo foi previamente observado com a soja, ervilha e peixe (Guilloteau *et al.* 1986b, Nunes do Prado *et al.* 1989a, Bush *et al.* 1992a). No entanto, as proteínas do trigo solubilizado não apresentam esta característica (Toullec e Guilloteau, resultados não publicadas). Os resultados respeitantes à digestibilidade verdadeira da proteína podem ser comparados aos obtidos em experiências similares, realizadas neste mesmo laboratório, com concentrados proteicos de lactosoro e de soja tratados a álcool (Caugant *et al.* 1993a,b). Os valores obtidos com o concentrado glúten foram inferiores aos observados com o lactosoro para os AA essenciais, excepto para a trionina, metionina, isoleucina e lisina. As maiores diferenças foram observadas para a histidina e cisteína (-0,11 e -0,06). O concentrado de glúten foi digerido na mesma extensão que o concentrado de soja tratado a álcool, excepto para a histidina (-0,05); este apresentou mesmo valores ligeiramente superiores para a trionina, cisteína, valina e isoleucina (+0,03 a +0,05). Pelo contrário, a digestibilidade

verdadeira da proteína da batata foi claramente inferior à dos concentrados de lactosoro, excepto para a arginina. A diferença foi particularmente importante para a cisteína (-0,34). O concentrado batata foi também menos digerível que o concentrado de soja, mas as diferenças foram pequenas, excepto para a cisteína (-0,24).

Como esperado, quando os vitelos receberam a dieta testemunha, a composição em AA dos digesta foi muito diferente da da proteína da dieta completa, bacteriana ou endógena. A mistura teórica entre a mistura comum de proteínas endógenas e bacterianas (MPEB) e a dieta testemunha que apresentou o melhor ajustamento com o digesta testemunha conteve apenas 13% de dieta testemunha e foi apenas ligeiramente mais próxima do digesta testemunha que a MPEB unicamente ( $\chi^2 = 67$  em vez de 81). Assim, a proteína que escapa à digestão do intestino delgado com a dieta testemunha parece ser quase inteiramente de origem endógena e bacteriana.

A substituição de 52% da proteína do LPD pelas do glúten ou da batata foi responsável por algumas alterações na composição dos AA do digesta ileal (Figura VII.9). As diferenças na composição de AA do digesta ileal entre as dietas glúten e batata foram também importantes. A mistura teórica entre o digesta testemunha e a proteína do glúten que minimizou a distância  $\chi^2$  ( $\chi^2 = 31$ ) com o digesta glúten conteve 33% de concentrado de glúten ( $p \leq 0,05$ ) (Quadro VII.38). Esta observação sugere que a menor digestibilidade aparente do N da dieta glúten possa dever-se a uma digestão incompleta da proteína do glúten. As distâncias de  $\chi^2$  entre as principais proteínas do glúten e o respectivo digesta sugerem que a glutenina possa ser fracção indigerida mais importante. No entanto, a composição em AA da proteína adicional indigerida resultante da dieta glúten, quando comparada com a dieta testemunha, foi muito diferente da da proteína do glúten completo, endógena ou bacteriana ( $\chi^2 > 495$ ). Esta fracção foi particularmente rica em ácido glutâmico e prolina como já observado em experiências anteriores com um glúten hidrolisado (Bush *et al.* 1992b). Esta pode ser constituída principalmente pela sequência repetitiva de Pro-Glu-Glu-Pro-Fen-Pro-Glu a qual é abundante no N-terminal das principais proteínas do glúten (Tatham e Scherwry 1985). Quando os cálculos foram efectuados

excluindo o ácido glutâmico e a prolina, a distância de  $\chi^2$  entre os digesta testemunha e glúten diminuiu ( $\chi^2 = 41$ , em vez de 83) (Quadro VII.39). Além disso, a distância de  $\chi^2$  entre o digesta glúten e a MPEB foi drasticamente reduzida ( $\chi^2 = 39$ , em vez de 228). Esta observação suporta a hipótese de que a composição de fundo em AA é próxima entre estes digestas.

A mistura teórica entre as proteínas do digesta testemunha e as da dieta batata que minimizou a distância  $\chi^2$  com o digesta batata apresentou apenas 1% de proteína de batata. Assim, a menor digestibilidade aparente do N observada com a dieta batata deveu-se provavelmente mais a uma elevação das perdas de proteínas endógenas e bacterianas indigeridas que a uma digestão incompleta da proteína da dieta. A composição em AA da proteína adicional indigerida, resultante da proteína da batata, foi muito diferente da da proteína da dieta completa ( $\chi^2 > 223$ ) mas próxima da do digesta completo ( $\chi^2 = 55$ ). Além disso, não foi encontrada nenhuma mistura teórica desta proteína com as proteínas endógenas e bacterianas que permitisse obter um ajustamento satisfatório com a fracção adicional indigerida. Assim, apenas pequenas quantidades de fracções proteicas, apresentando perfis de AA similares aos da proteína intacta da dieta, provavelmente escaparam a digestão. Estas fracções foram ricas em ácido aspártico, ácido glutâmico e cisteína os quais parecem apresentar uma relativa fraca disponibilidade aparente.

Finalmente, como na experiência anterior, a utilização de métodos mais específicos como a técnica do N<sup>15</sup> (Souffrant 1991) permitirá uma mais rigorosa quantificação da proteína alimentar residual nos digesta ileais.

### VII.3.3. Proteínas imunoreactivas

Nenhuma imunoreactividade foi observada no digesta glúten com os anticorpos preparados contra a forma nativa da proteína do glúten. Isto significa provavelmente que fracções do glúten parcialmente digeridas, presentes no digesta, perderam os seus epitopos reactivos. Também, no digesta ileal de vitelos que receberam uma dieta contendo farinha de soja, os polipeptidos ácidos da glicinina da soja puderam ser evidenciados apenas

indirectamente, recorrendo-se a anticorpos de polipeptidos anti-básicos, após electroforese SDS-PAGE em condições não redutoras (Tukur e Lallès, resultados não publicados). As proteínas imunoreactivas detectadas na fracção solúvel do concentrado de batata apresentaram Mr que concordam com os resultados obtidos por Ahldén e Trågårdh (1992), que descreveram três proteínas principais da batata (Mr de 44 000, 20 000, 14 000), e com as observações de Suh *et al.* (1990) no que respeita ao polimorfismo molecular de proteínas de Mr média (22 000, 23 000, 24 000). No digesta ileal resultante da dieta batata foram detectadas proteínas específicas de Mr de 43 000 e inferior a 14 000. Podemos assim colocar a hipótese de que algumas proteínas, com a Mr mais elevada, encontram-se virtualmente intactas na porção terminal do intestino delgado do vitelo, como foi demonstrado para a legumina da ervilha (Bush *et al.* 1992a) e para a glicinina da soja (Tukur e Lallès, observações não publicadas). As proteínas da batata com menores Mr nos digesta devem ser produtos da digestão mas será necessário uma caracterização mais precisa. Embora a proteína imunoreactiva detectada tenha aqui representado apenas uma pequena fracção da proteína da dieta, esta pode causar reacções imunológicas e ser responsável por um inferior desempenho produtivo dos animais como demonstrado com a soja (Sissons 1982) e a ervilha (Bush *et al.* 1992a).

#### VII.4. CONCLUSÕES

A substituição de 52% da proteína do LPD pelas do glúten nativo ou da batata resultou de uma forma geral num decréscimo das digestibilidades aparentes ileal e fecal dos nutrientes. No entanto, os valores obtidos na presente experiência foram similares aos de trabalhos anteriores com concentrados proteicos de glúten parcialmente hidrolisado ou de batata. A menor digestibilidade aparente da proteína do glúten e da batata deveu-se, pelo menos parcialmente, à sua menor digestibilidade verdadeira. Os epitopos das proteínas imunoreactivas da batata, mas não das do glúten, permaneceram provavelmente

suficientemente intactos na porção terminal do intestino delgado para serem reconhecidos pelos anticorpos específicos preparados contra as estruturas nativas. A digestibilidade verdadeira da proteína da batata foi inferior que a da proteína do glúten de trigo, especialmente para a cisteína.



Quadro VII.32. Composição química das fontes proteicas e dietas (% da matéria seca, partes por milhão para os oligoelementos).

	Fontes proteicas		Testemunha	Dietas	
	Glúten	Batata		Glúten	Batata
Humidade	7,2	7,2	3,9	3,6	3,6
N x 6,25	84,2	82,2	23,4	23,3	22,8
Gordura	4,7	4,7	21,1	21,6	21,3
Extractivo não azotado	10,3	9,9	48,9	48,1	49,1
Cinzas	0,8	3,2	6,6	7,0	6,8
Ca	0,12	0,22	1,06	1,11	1,05
P	0,24	0,61	0,87	0,81	0,86
K	0,06	0,95	1,17	1,10	1,04
Na	0,01	0,04	0,41	0,45	0,41
Mg	0,03	0,05	0,10	0,16	0,12
Cl	0,08	0,32	0,98	1,37	0,98
Fe	66	151	4	15	28
Zn	43	30	78	100	80
Mn	18	6	53	57	56
Cu	0	42	7	5	8

Quadro VII.33. Composição das dietas experimentais.

Ingredientes (% de pó)	Dietas		
	Testemunha	Glúten	Batata
Prémistura de gordura <sup>1</sup>	49,48	49,48	49,48
Leite em pó desnatado	35,76	—	—
Concentrado de glúten de trigo	—	14,53	—
Concentrado de batata	—	—	14,73
Lactose	3,67	20,49	21,44
Amido prégelatinizado	8	8	8
L-lisina-HCl	0,124	0,947	0,118
DL-metionina	0,167	0,050	0,080
Vitaminas e minerais	2,79	6,50	6,15

<sup>1</sup> sebo (99,7%) e emulsificante (0,3%) homogeneizado em leite desnatado (400 g gordura / kg de matéria seca).

Quadro VII.34. Composição de ácidos aminados (AA) das fontes proteicas e dietas (g / 100 g AA).

AA <sup>1</sup>	Fontes proteicas		Testemunha	Dietas	
	Glúten	Batata		Glúten	Batata
ASP	3,17	12,35	7,76	5,26	10,10
TRI	2,74	6,32	4,44	3,55	5,50
SER	4,63	5,35	5,29	4,88	5,36
GLU	39,52	11,62	23,11	30,97	16,92
PRO	12,73	5,04	9,26	11,07	7,12
GLI	3,49	4,92	1,87	2,73	3,53
ALA	2,56	4,89	3,13	2,87	4,10
CIS	3,27	1,97	1,31	2,17	1,83
VAL	4,05	6,95	6,13	5,03	6,71
MET	1,75	2,37	3,46	2,16	2,70
ILE	4,24	6,37	5,14	4,68	5,79
LEU	7,29	10,48	10,01	8,42	9,99
TIR	3,28	5,71	4,82	3,94	5,22
HIS	1,95	2,34	2,71	2,30	2,51
LIS	1,67	7,74	8,23	6,51	8,04
ARG	3,65	5,58	3,32	3,47	4,57
Σ AA (g / 16 g N) <sup>2</sup>	101,71	97,82	95,55	98,50	96,99
NAA (% N total) <sup>3</sup>	77,38	83,09	76,36	77,68	80,29

<sup>1</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; VAL: valina; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>2</sup> somatório dos AA analisados.

<sup>3</sup> azoto dos AA analisados excepto o N-amídico dos ácidos aspártico e glutâmico.

Mr x 10<sup>3</sup>

94 →

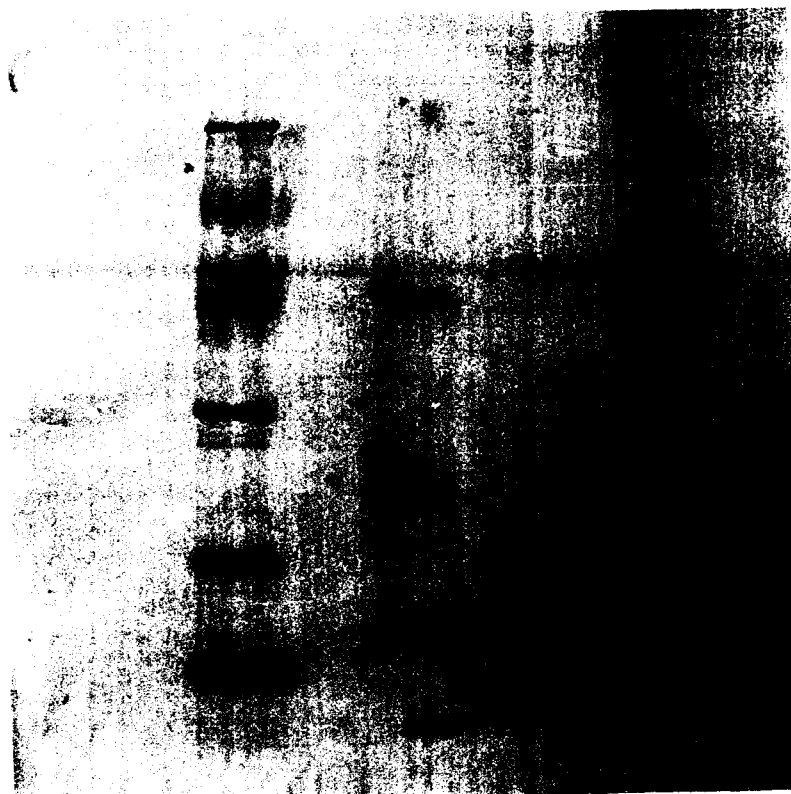
67 →

43 →

30 →

20 →

14 →



1

2

3

4

Figura VII.8. Electroforese SDS-PAGE dos pesos moleculares "standards" (pista 1), concentrado de batata extraído num tampão borato (pista 2), concentrado de batata extraído em SDS-Tris (pista 3) e concentrado de glúten de trigo extraído numa solução etanólica (pista 4).

Quadro VII.35. Crescimento, ingestão e eficiência alimentar (média  $\pm$  erro padrão da média).

	Dietas		
	Testemunha	Glúten	Batata
Ganho de peso vivo (g / d)	1333 $\pm$ 88	1166 $\pm$ 241	1095 $\pm$ 151
Ingestão alimentar <sup>1</sup>			
Total de matéria seca (kg)	10,12 $\pm$ 0,27	9,10 $\pm$ 0,68	9,68 $\pm$ 0,66
- % da quantidade proposta	100,0 $\pm$ 0,00	89,7 $\pm$ 6,5	94,2 $\pm$ 4,6
- por kg de ganho de peso vivo	1,56 $\pm$ 0,14	2,90 $\pm$ 1,47	2,07 $\pm$ 0,47
Excreção de fezes (kg)	2,2 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,3	3,8 $\pm$ 0,7

<sup>1</sup> ingestão alimentar individual, expressa em % da quantidade proposta, dos vitelos em que se registraram recusas de alimento: dieta glúten (71 e 68%); dieta batata (93 e 72%).

Quadro VII.36. Digestibilidades aparentes ileal e fecal (média e erro padrão da média) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), azoto (N), matéria gorda (MG), extractivo não azotado (ENA) e matéria mineral (MM).

Níveis	Dietas					
	Testemunha		Glúten		Batata	
	ileal	fecal	ileal	fecal	ileal	fecal
MS	0,888 <sup>a</sup> 0,012	0,960 <sup>a*</sup> 0,005	0,856 <sup>ab</sup> 0,016	0,935 <sup>b*</sup> 0,006	0,814 <sup>b</sup> 0,021	0,928 <sup>b*</sup> 0,003
MO	0,901 <sup>a</sup> 0,011	0,965 <sup>a*</sup> 0,005	0,869 <sup>ab</sup> 0,015	0,943 <sup>b*</sup> 0,005	0,836 <sup>b</sup> 0,021	0,935 <sup>b*</sup> 0,003
N	0,912 <sup>a</sup> 0,006	0,951 <sup>a*</sup> 0,006	0,874 <sup>ab</sup> 0,012	0,930 <sup>a*</sup> 0,004	0,833 <sup>b</sup> 0,018	0,901 <sup>b*</sup> 0,011
MG	0,875 0,021	0,931 <sup>a</sup> 0,020	0,815 0,032	0,866 <sup>b</sup> 0,020	0,788 0,041	0,871 <sup>b*</sup> 0,008
ENA	0,906 0,017	0,986 <sup>*</sup> 0,003	0,896 0,014	0,984 <sup>*</sup> 0,002	0,863 0,022	0,979 <sup>*</sup> 0,003
MM	0,712 <sup>a</sup> 0,039	0,893 <sup>a*</sup> 0,015	0,699 <sup>a</sup> 0,040	0,829 <sup>b*</sup> 0,020	0,543 <sup>b</sup> 0,025	0,827 <sup>b*</sup> 0,009

a,b a determinado nível (ileal ou fecal)  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

\*  $p \leq 0,05$  entre valores fecais e ileais.

Quadro VII.37. Digestibilidade aparente ileal (média  $\pm$  erro padrão da média) e verdadeira (calculada) dos ácidos aminados (AA).

AA <sup>2</sup>	Digestibilidade				
	APARENTE (dietas completas)			VERDADEIRA <sup>1</sup> (concentrados)	
	Testemunha	Glúten	Batata	Glúten	Batata
ASP	0,920 $\pm$ 0,01	0,861 $\pm$ 0,02	0,852 $\pm$ 0,02	0,884	0,845
TRI	0,867 $\pm$ 0,01	0,825 $\pm$ 0,01	0,843 $\pm$ 0,01	0,930	0,898
SER	0,913 $\pm$ 0,01	0,901 $\pm$ 0,01	0,872 $\pm$ 0,01	0,968	0,901
GLU	0,921 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,908 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,807 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,935	0,719
PRO	0,946 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,898 $\pm$ 0,02	0,865 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,885	0,794
GLI	0,811 $\pm$ 0,02	0,787 $\pm$ 0,03	0,757 $\pm$ 0,03	0,839	0,774
ALA	0,885 $\pm$ 0,01	0,855 $\pm$ 0,02	0,845 $\pm$ 0,01	0,924	0,873
CIS	0,822 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,827 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,682 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,892	0,610
VAL	0,931 $\pm$ 0,01	0,902 $\pm$ 0,01	0,886 $\pm$ 0,01	0,941	0,889
MET <sup>3</sup>	0,978 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,956 $\pm$ 0,01	0,938 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,957	0,929
ILE	0,941 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,926 $\pm$ 0,01	0,902 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,963	0,905
LEU	0,955 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,930 $\pm$ 0,01	0,912 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,946	0,908
TIR	0,956 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,932 $\pm$ 0,01	0,924 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,948	0,926
HIS	0,942 $\pm$ 0,01	0,882 $\pm$ 0,02	0,885 $\pm$ 0,01	0,858	0,874
LIS <sup>3</sup>	0,945 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,904 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,914 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,966	0,934
ARG	0,927 $\pm$ 0,01	0,917 $\pm$ 0,01	0,931 $\pm$ 0,01	0,959	0,968
NAA <sup>4</sup>	0,926 $\pm$ 0,01	0,895 $\pm$ 0,01	0,871 $\pm$ 0,01	0,924	0,873

<sup>1</sup> valores calculados para os concentrados proteicos assumindo que a digestão da proteína láctea foi completa e que as quantidades de ácidos aminados por kg de matéria seca ingerida que escapam à digestão do intestino delgado com a dieta testemunha corresponde fracção endógena nas outras dietas.

<sup>2</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; VAL: valina; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

<sup>3</sup> suplemento excluído.

<sup>4</sup> azoto dos ácidos aminados analisados excepto o N-amídico dos ácidos aspártico e glutâmico.

a,b  $p \leq 0,05$  entre valores seguidos de letras diferentes.

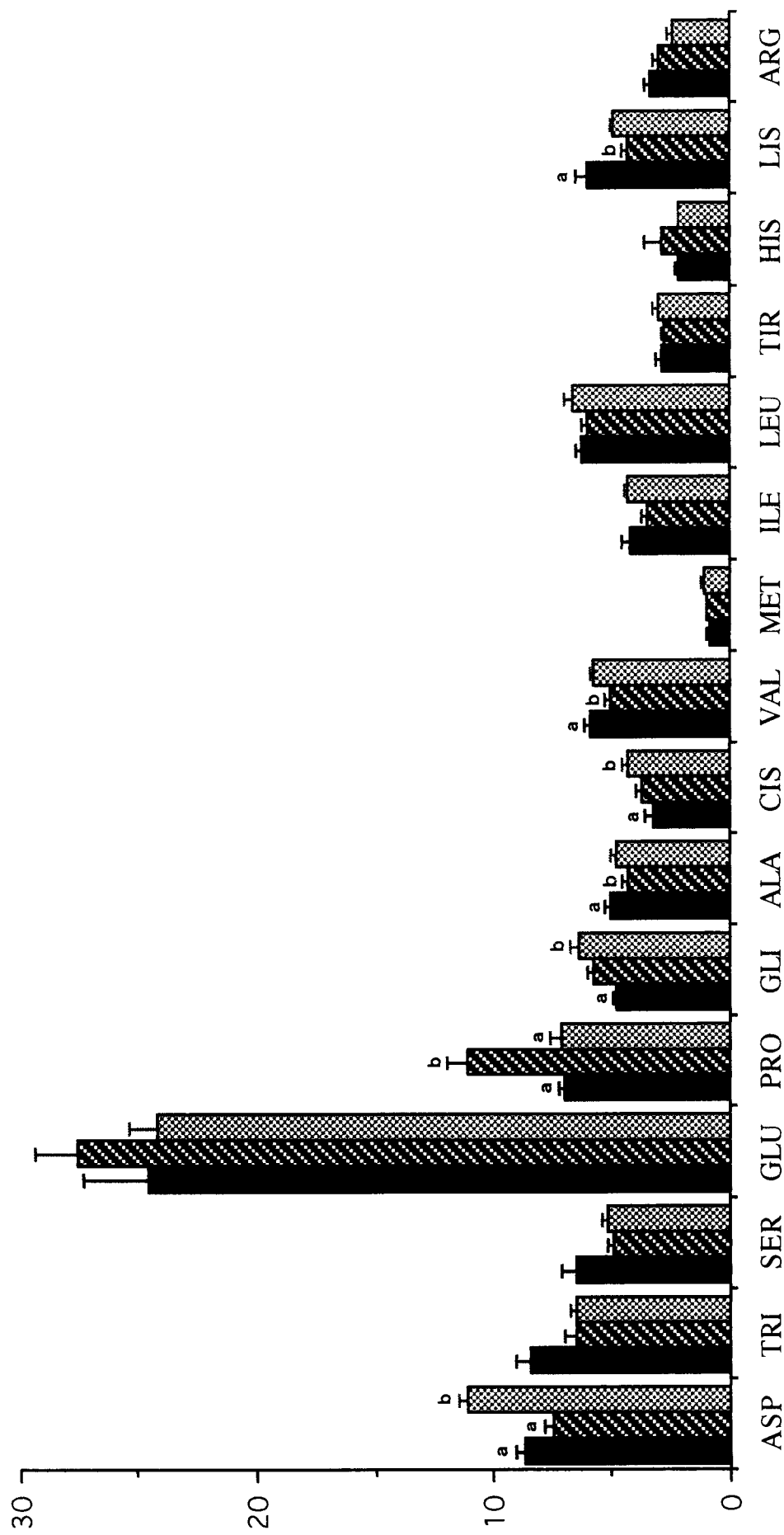


Figura VII.9. Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais com as dietas testemunha (■), glúten (▨) e batata (▩).

a,b  $p \leq 0,05$  entre médias com letras diferentes. Barras verticais são os erros padrão das médias.



Quadro VII.38. Distâncias de  $\chi^2$  entre o digesta ileal e misturas teóricas de proteínas.

	Digesta		
	Testemunha	Glúten	Batata
<b>Dietas</b>			
Testemunha	248	295	297
Glúten	229	161	274
Batata	200	334	227
<b>Digesta</b>			
Testemunha	—	83	45
Glúten	83	—	81
Batata	45	81	—
Concentrado de glúten de trigo (Cgt)	480	264	490
Concentrado de batata	334	547	338
Proteína endógena (E)	176	319	229
Bactéria (B)	273	469	257
Mistura ileal de proteínas E e B indigeridas (MPEB)	81	228	105
Proteínas solúveis do trigo (Ps)	—	280	—
Gliadinas totais (Gli)	—	471	—
Gliadinas de elevado peso molecular (Gli e)	—	413	—
<b>Sub-unidades das gliadinas</b>			
$\gamma$ 1	—	586	—
$\gamma$ 2	—	617	—
$\beta$ 22	—	560	—
$\beta$ 13	—	589	—
$\alpha$	—	372	—
Gluteninas (Glu)	—	251	—
Gluteninas purificadas (Glu p)	—	143	—
Proteínas do glúten de trigo (Pgt)	—	169	—
Proteínas da batata (Pb)	—	—	395
87% MPEB + 13% Dieta testemunha	67*	—	—
51% MPEB + 49% Cgt	—	38*	—
45% MPEB + 55% Pgt	—	40*	—
49% MPEB + 51% Glu p	—	62*	—
60% MPEB + 40% Gli	—	45*	—
67% Digesta testemunha + 33% Cgt	—	31*	—
68% Digesta testemunha + 32% Glu p	—	42*	—
99% Digesta testemunha + 1% Pb	—	—	44*

\*  $p \leq 0,05$  para o melhor ajustamento entre o digesta ileal e as misturas teóricas de proteínas retidas.

E: composição média das fezes do borrego axénico (Combe 1976) e do mecónio do vitelo (Grongnet *et al.* 1981). B: composição média da bactéria fecal do porco (Mason *et al.* 1976) e da ovelha (Mason 1979). MPEB: mistura de proteína comum que escapa à digestão nos vitelos que receberam dietas baseadas em proteína láctea, de peixe ou de soja (Guilloteau *et al.* 1986b). Ps (Feillet 1976). Gli (Pépin 1981). Gli e (Bietz e Wall 1973). Sub-unidades das gliadinas (Ewart 1976, Bietz *et al.* 1977, Terce-Laforgue *et al.* 1980). Glu segundo o fraccionamento de Osborne (Orth e Bushuk 1973). Glu p (Huebner e Wall 1976). Pgt: mistura teórica de proteínas contendo 0,20 de proteínas solúveis, 0,35 de gliadinas e 0,45 de gluteninas (Popineau 1985). Pb (revisto por Davin 1985).

Quadro VII.39. Distâncias de  $\chi^2$  entre o digesta ileal e misturas teóricas de proteínas (prolina e ácido glutâmico excluídos).

	Digesta		
	Testemunha	Glúten	Batata
<b>Dietas</b>			
Testemunha	303	356	369
Glúten	211	312	269
Batata	170	210	210
<b>Digesta</b>			
Testemunha	—	41	57
Glúten	41	—	35
Batata	57	35	—
Concentrado de glúten de trigo	330	247	327
Concentrado de batata	144	175	162
Proteína endógena (E)	54	84	131
Bactéria (B)	122	131	115
Mistura ileal de proteínas E e B indigeridas (MPEB)	177	39	51

\*  $p \leq 0,05$  para o melhor ajustamento retido entre o digesta ileal e as misturas teóricas de proteínas.

E: composição média das fezes do borrego axénico (Combe 1976) e do mecónio do vitelo (Grongnet *et al.* 1981). B: composição média da bactéria fecal do porco (Mason *et al.* 1976) e da ovelha (Mason 1979). MPEB: mistura de proteína comum que escapa à digestão nos vitelos que receberam dietas baseadas em proteína láctea, de peixe ou de soja (Guilloteau *et al.* 1986b).

Quadro VII.40. Quantidade (mg / kg de matéria seca ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente indigeridos (média ± erro padrão da média) e composição da proteína adicional indigerida (% dos AA analisados).

AA <sup>2</sup>	Dietas			Proteína adicional indigerida <sup>1</sup>	
	Testemunha	Glúten	Batata	Glúten	Batata
ASP	1410 ± 151 <sup>a</sup>	1848 ± 236 <sup>a</sup>	3582 ± 478 <sup>b</sup>	5,01	13,88
TRI	1345 ± 101 <sup>a</sup>	1573 ± 129	2076 ± 189 <sup>b</sup>	2,61	4,68
SER	1050 ± 76 <sup>a</sup>	1226 ± 132	1648 ± 154 <sup>b</sup>	2,00	3,82
GLU	4166 ± 780	7201 ± 1425	7863 ± 110	34,69	23,63
PRO	1137 ± 115	2876 ± 555	2312 ± 325	19,88	7,51
GLI	806 ± 107 <sup>a</sup>	1473 ± 224	2066 ± 268 <sup>b</sup>	7,62	8,06
ALA	821 ± 80 <sup>a</sup>	1053 ± 116	1524 ± 141 <sup>b</sup>	2,64	4,49
CIS	529 ± 95 <sup>a</sup>	949 ± 158	1401 ± 162 <sup>b</sup>	4,81	5,57
VAL	966 ± 119 <sup>a</sup>	1251 ± 157	1838 ± 163 <sup>b</sup>	3,25	5,57
MET	137 ± 9 <sup>a</sup>	227 ± 29	328 ± 44 <sup>b</sup>	1,03	1,22
ILE	687 ± 91 <sup>a</sup>	873 ± 101	1371 ± 114 <sup>b</sup>	2,13	4,37
LEU	1022 ± 112 <sup>a</sup>	1494 ± 190	2117 ± 167 <sup>b</sup>	5,39	7,00
TIR	478 ± 62 <sup>a</sup>	682 ± 72	957 ± 83 <sup>b</sup>	2,34	3,06
HIS	358 ± 59	688 ± 141	691 ± 65	3,78	2,13
LIS	979 ± 80 <sup>a</sup>	1047 ± 95 <sup>a</sup>	1556 ± 142 <sup>b</sup>	0,78	3,69
ARG	552 ± 74	731 ± 70	756 ± 68	2,04	1,30

<sup>1</sup> quantidade total de ácidos aminados encontrada na porção terminal do íleo, com as dietas glúten e batata, subtraída da obtida com a dieta testemunha.

<sup>2</sup> ASP: ácido aspártico; TRI: trionina; SER: serina; GLU: ácido glutâmico; PRO: prolina; GLI: glicina; ALA: alanina; CIS: cisteína; VAL: valina; MET: metionina; ILE: isoleucina; LEU: leucina; TIR: tirosina; HIS: histidina; LIS: lisina; ARG: arginina.

a,b p ≤ 0,05 entre valores seguidos de letras diferentes.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Cp*	Cp*	Cp	O	O	O	O	O	O	O	O	O
B	LPD	LPD	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
C	Dt	D*	D	O	O	O	O	O	O	O	O	O
D	Dt	D*	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
E	Dt	D*	D	O	O	O	O	O	O	O	O	O
F	Dt	D*	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
G	Dt	D*	D	O	O	O	O	O	O	O	O	O
H	Dt	D*	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

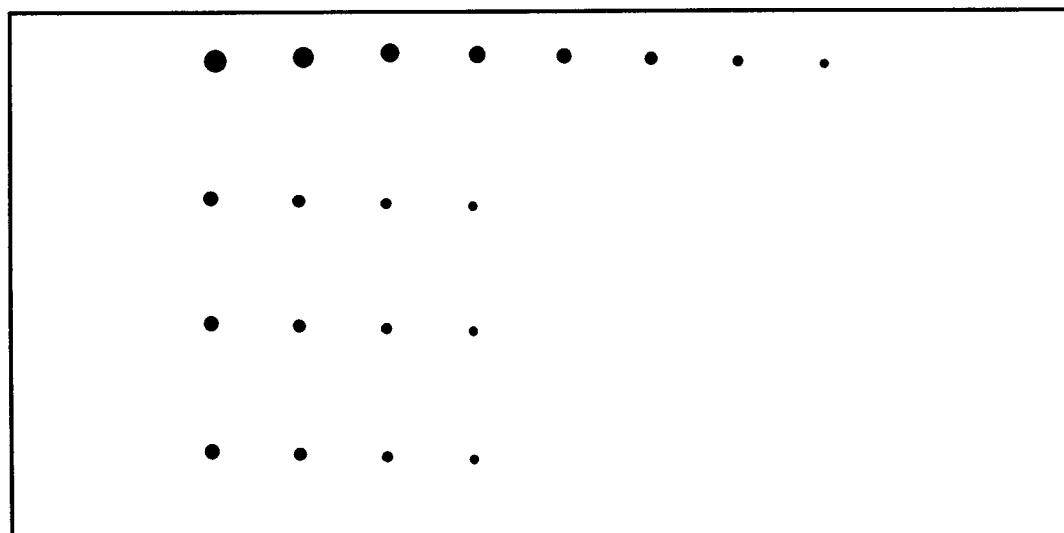


Figura VII.10. Representação esquemática da análise "dot-blotting" do concentrado de batata e respectivo digesta.

Painel superior: posição das amostras (ou tratamentos) e diluições. Painel inferior: resultados.

Cp Concentrado proteico; LPD leite em pó desnatado; Dt Digesta testemunha; D Digesta; O diluição em série da solução de proteína, da esquerda para a direita; \* discos sem anticorpos.

Mr x 10<sup>3</sup>

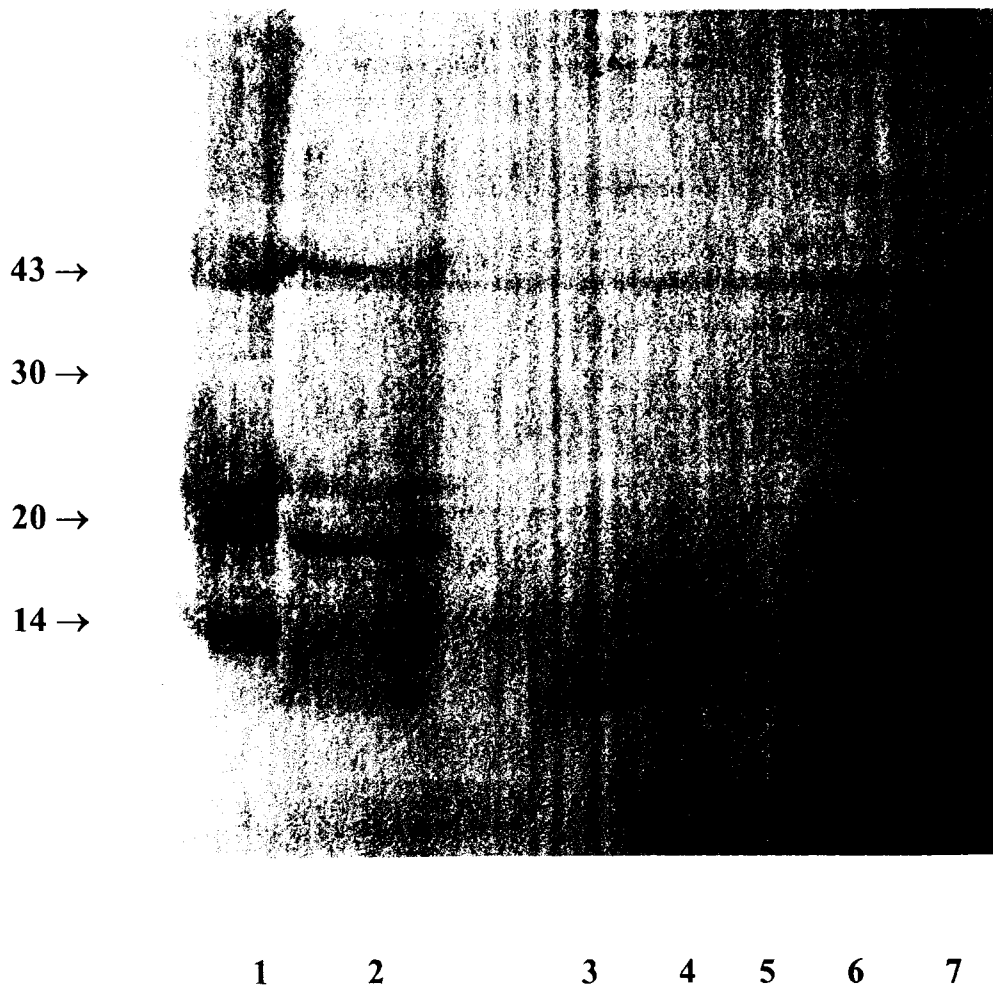


Figura VII.11. Análise "immuno-blotting" da batata nativa (pista 1), do concentrado de batata (pista 2) e respectivos digesta (pista 3,4,5,6 e 7).

## CAPÍTULO VIII - CONCLUSÕES GERAIS

A digestão das proteínas pelo vitelo pré-ruminante envolve um grande número de fenômenos complexos de origem fisiológica, alimentar e ambiental que se interagem entre si mutuamente.

Ao plano dos mecanismos fisiológicos, a utilização de produtos de soja pouco elaborados nos leites de substituição, pode ser responsável por uma diminuição da capacidade de absorção intestinal, ainda que de magnitude limitada e transitória. A este respeito, o vitelo pré-ruminante surge como um animal que difere consideravelmente das outras espécies no que concerne à excreção urinária de marcadores de permeabilidade intestinal. Finalmente, quando se interpretam resultados de excreção destes marcadores dever-se-á prestar atenção ao tipo de frequência de distribuição e a eventuais correlações com os volumes de excreção de urina.

A coagulação das proteínas do leite no abomaso parece ser essencial para uma boa digestão destas, em particular no animal jovem, imaturo ao plano das secreções digestivas e sua regulação. A incorporação das proteínas de substituição traduz-se frequentemente numa aceleração da evacuação gástrica com consequências, por vezes nefastas, ao nível digestivo. Esta situação foi observada no presente trabalho quando da utilização das proteínas da soja e do tremoço.

Apesar da mais fraca utilização digestiva da proteína, quando do recurso a fontes proteicas vegetais, algumas destas apresentam ainda uma digestibilidade relativamente elevada como seja o caso de derivados da soja muito elaborados, do tremoço ou do glúten de trigo ou pelo menos satisfatória como seja o caso da batata. A diminuição da digestibilidade ileal aparente das matérias azotadas, parâmetro mais adequado que a digestibilidade fecal aparente para hierarquizar as fontes proteicas, resulta de uma elevação do fluxo de proteínas indigeridas na porção terminal do íleo. A composição em AA das proteínas indigeridas pode ser vizinha, ou pelo contrário muito diferente, da das proteínas da dieta. No presente trabalho, a composição em AA das proteínas indigeridas encontradas

nos digesta foi muito diferente da das proteínas da dieta quando da utilização das proteínas da soja, do tremço e da batata. Esta observação exclui a presença de grandes proporções de proteínas alimentares intactas nos digesta. Neste caso, a menor digestibilidade do N deveu-se principalmente a uma elevação das perdas de proteínas endógenas ou bacterianas. Pelo contrário, caso das proteínas do glúten de trigo, a menor digestibilidade aparente ileal do N parece ter sido resultado, pelo menos parcialmente, de uma incompleta digestão da proteína alimentar. As proteínas alimentares indigeridas podem ser reconhecidas na porção terminal do íleo por anticorpos preparados contra as suas formas nativas como foi demonstrado no caso das proteínas da batata. No entanto, quando se interpretam resultados desta natureza deverá ser prestada atenção já que os epitopos das proteínas imunoreactivas podem ser digeridos ou estruturalmente suficientemente modificados na porção terminal do íleo e já não serem reconhecidos pelos anticorpos.

Os dados disponíveis, relativos à digestibilidade ileal das proteínas, são ainda muito fragmentados e os produtos disponíveis no mercado por vezes de qualidade (nutricional e/ou antinutricional) insuficientemente constante para estabelecer relações previsíveis fiáveis entre as matérias primas e desempenho produtivo dos animais. No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho, sugerem que a inclusão de proteínas vegetais nas dietas dos vitelos pré-ruminantes, pelo menos no que concerne ao tremço, ao glúten de trigo nativo e à batata, pode estar limitada pela sua menor palatabilidade e digestibilidade que podem ser parcialmente responsáveis por uma diminuição do desempenho produtivo dos animais. A discussão do nosso trabalho teve como base as proteínas da soja, do tremço, do glúten de trigo e da batata, mas esta é provavelmente válida, pelo menos parcialmente, para outras fontes proteicas vegetais. Novos estudos sobre estes produtos são desejáveis mas o seu desenvolvimento está largamente dependente da procura agro-económica.

As perspectivas a curto termo, suscitadas pelos resultados dos nossos trabalhos, são a de uma mais completa caracterização das proteínas estudadas e/ou identificação dos respectivos principais fragmentos indigeridos. A longo termo, são necessários estudos de digestibilidade real, como sugerem as nossas observações e as de outros trabalhos contemporâneos, de forma a melhor abordar o comportamento intrínseco das proteínas

alimentares à digestão *in vivo*, a eficácia dos tratamentos tecnológicos, e finalmente os factores de variação de perdas ileais de matérias azotadas endógenas.



## CAPÍTULO IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahldén I, Trågårdh G (1992) A study of soluble proteins from potato varieties used in the Swedish starch industry. *Food Chem* 44, 113-118
- Akinyele IO, Harshbarger KE (1983) Performance of young calves fed soybean protein replacers. *J Dairy Sci* 66, 825-832
- Alais C (1984) Science du lait. Principes des techniques laitières. Edition SEPIAC, Paris, 814 pp
- Alumot E, Nitsan Z, (1961) The influence of soybean antitrypsin on the intestinal proteolysis of the chick. *J Nutr* 73, 71-77
- Anantharaman K, Finot PA (1993) Nutritional aspects of food proteins in relation to technology. *Food Rev Int* 9, 629-655
- André C, André F, Colin L, Cavagna S (1987) Measurement of intestinal permeability to mannitol and lactulose as a means of diagnosing food allergy and evaluating therapeutic effectiveness of disodium cromoglycate. *Ann Allergy* 59, 127-130
- André C, Descos L, Minaire Y (1990) Comparison between lactulose-mannitol test and <sup>51</sup>Cr-labelled ethylene diamine tetraacetate test in inflammatory bowel diseases. *Hepato-gastroenterology* 37, 113-117
- AOCS (1983) Sampling and analysis of oilseed by products. AOCS tentative method. Trypsin inhibitor activity. Ba, 12-75
- Ash RW (1964) Abomasal secretion and emptying in suckled calves. *J Physiol* 172, 425-438
- Ballester D, Yanez E, Garcia R, Erazo S, Lopez F, Haardt E, Cornejo S, Lopez A, Pokniak J, Chichester CO (1980) Chemical composition, nutritive value and toxicological evaluation of two species of sweet lupin (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). *J Agric Food Chem* 28, 402-405
- Banwell JG, Howard R, Kabir I, Adrian TE, Diamond RH, Abramowsky C (1993) Small intestinal growth caused by feeding red kidney bean phytohemagglutinin lectin to rats. *Gastroenterology* 104, 1669-1677
- Barr G (1981) Soybean meal in calf milk replacers. *J Am Oil Chem Soc* 58, 313-320
- Barratt MEJ, Porter P (1979) Immunoglobulin classes implicated in intestinal disturbances of calves associated with soya protein antigens. *J Immunol* 123, 676-680
- Barratt MEJ, Strachan PJ, Porter P (1979) Immunologically mediated nutritional disturbances associated with soya protein antigens. *Proc Nutr Soc* 38, 143-150

- Barth CA, Lunding B, Schmitz M, Hagemester H (1993) Soybean trypsin inhibitor(s) reduce absorption of exogenous and increase loss of endogenous protein in miniature pigs. *J Nutr* 123, 2195-2200
- Bauchart D (1983) Evolution avec l'âge de la cholestérolémie et de la triglycéridémie postprandiales chez le veau préruminant; influence de l'ingestion de sorbitol. *Reprod Nutr Dev* 23, 81-92
- Bauchart D, Arousseau B, Auclair E, Labarre A (1985) Addition of sorbitol to a milk substitute for veal calves. II. Effects on plasma, liver and muscle lipids. *Reprod Nutr Dev* 25, 411-425
- Bazin RC, Brisson GJ (1976) Plasma lipids, ketone bodies and glucose concentrations in calves fed high and low fat milk replacers. *J Dairy Sci* 59, 1301-1305
- Berot S, Davin A (1985) Technologie d'extraction et de purification des matières protéiques végétales. In: *Protéines végétales* (Godon B, Ed), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 335-472
- Beynen AC, van Gils LGM (1983) Postprandial changes in the levels of lipids, glucose, urea and nonprotein nitrogen in the serum of veal calves fed milk replacers containing either milk powder or soybean protein concentrate. *Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkde* 49, 49-56
- Beynen AC, van Gils LGM (1984) Postprandial levels of serum glucose and performance of veal calves fed milk replacers containing skim milk powder or soybean protein concentrate. *Nutr Rep Int* 29, 663-671
- Bielorai R, Bondi A (1963) Relationship between "antitryptic factors" of some plant protein feeds and products of proteolysis precipitable by trichloroacetic acid. *J Sci Food Agric* 14, 124-132
- Bietz JA, Huebner FR, Sanderson JE, Wall JS (1977) Wheat gliadin homology revealed through N-terminal amino acid sequence analysis. *Cereal Chem* 54, 1070-1083
- Bietz JA, Wall JS (1973) Isolation and characterization of gliadin like subunits from glutenin. *Cereal Chem* 50, 537-547
- Biljsma PB, Peeters RA, Groot JA, Taminiu JAJM, van der Meer R (1993) Comparison of the lactulose / mannitol urinary recovery ratio *in vivo* to their permeability ratio in small intestine *in vitro* in man. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 17, 474-475 (abstr)
- Binnerts WT, van't Klooster ATH, Frens AM (1968) Soluble chromium indicator measured by atomic absorption in digestion experiments. *Vet Rec* 82, 470
- Bjarnason I, Maxton D, Reynolds AP, Catt S, Peters TJ, Menzies IS (1994) Comparison of four markers of intestinal permeability in control subjects and patients with coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 26, 630-639
- Blagrove RJ, Gillepsie JM (1974) *Lupin* storage proteins. *Proc Aust Biochem Soc* 7, 3

- Blagrove RJ, Gillepsie JM (1975) Isolation, purification and characterization of the seed globulins of *Lupinus angustifolius*. *Aust J Plant Physiol* 2, 13-27
- Blagrove RJ, Gillepsie JM (1978) Comparative studies on the proteins from seeds of *Lupinus angustifolius*. *Aust J Plant Physiol* 5, 651-663
- Blomquist L, Bark T, Hedenborg G, Svenberg T, Norman A (1993) *Scand J Gastroenterol* 28, 274-280
- Bolton JR, Merritt AM, Cimprich RE, Ramberg CF, Streett W (1976) Normal and abnormal D-xylose absorption in the horse. *Cornell Vet* 66, 183-197
- Brandon DL, Bates AH, Friedman M (1988) Enzyme-linked immunoassay of soybean Kunitz trypsin inhibitor using monoclonal antibodies *J Food Sci* 53, 102-106
- Brandon DL, Bates AH, Friedman M (1989) Monoclonal antibody-based enzyme immunoassay of the Bowman-Birk protease inhibitor of soybeans. *J Agric Food Chem* 37, 1192-1196
- Brandon DL, Haque S, Bates AH, Friedman M (1987) Interaction of monoclonal antibodies with soybean trypsin inhibitors. *J Agric Food Chem* 37, 195-200
- Brooks JR, Morr CV (1985) Current aspects of soy protein fractionation and nomenclature. *J Am Oil Chem Soc* 62, 1347-1354
- Bush LJ, Staley TE (1980) Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *J Dairy Sci* 63, 672-680
- Bush RS, Toullec R, Caugant I, Guilloteau P (1991) Intolerance to pea protein in the preruminant calf. *In: New Trends in Veal Calf Production* (Metz JHM, Groenestein CM, Eds), Pudoc, Wageningen, 253-256
- Bush RS, Toullec R, Caugant I, Guilloteau P (1992a) Effects of raw pea flour on nutrient digestibility and immune responses in the preruminant calf. *J Dairy Sci* 75, 3539-3552
- Bush RS, Toullec R, Caugant I, Guilloteau P, Barré P (1992b) Digestibilité iléale d'un gluten de blé partiellement hydrolysé chez le veau préruminant. *Ann Zootech* 41, 31-32
- Catsimpoolas N, Ekenstam C (1969) Isolation of alpha, beta, gamma conglycinins. *Arch Biochem Biophys* 129, 490-497
- Caugant I, Toullec R, Formal M, Guilloteau P, Savoie L (1993a) Digestibility and amino acid composition of digesta at the end of the ileum in preruminant calves fed soyabean protein. *Reprod Nutr Dev* 33, 335-347
- Caugant I, Toullec R, Guilloteau P, Savoie L (1993b) Whey protein digestion in the distal ileum of the preruminant calf. *Anim Feed Sci Technol* 41, 223-236
- Cheeke PR, Kelly JD (1989) Metabolism, toxicity and nutritional implications of quinolizidine (*lupin*) alkaloids. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional*

- Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 189-201
- Cheffel JC, Cuq JL, Lorient D (1985) Les protéines du lait. *In: Protéines alimentaires* (Cheffel JC, Cuq JL, Lorient D, Eds), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 156-192
- Combe E (1976) Influence de la microflore sur la composition en acides aminés des fèces des agneaux. *C R Soc Biol* 170, 787-793
- Combe E, Patureau-Mirand P, Bayle G, Pion R (1980) Influence de l'aliment et de la microflore sur la teneur en sucres aminés des contenus digestifs et des fèces chez le rat, l'agneau et le veau préruminant. *Reprod Nutr Dev* 20, 1707-1715
- Coombe NB, Smith RH (1973) Absorption of glucose and galactose and digestion and absorption of lactose by the preruminant calf. *Br J Nutr* 30, 331-344
- Coombe NB, Smith RH (1974) Digestion and absorption of starch, maltose and lactose by the preruminant calf. *Br J Nutr* 31, 227-235
- Cornell R, Walker WA, Isselbacher KJ (1971) Intestinal absorption of horseradish peroxidase. A cytochemical study. *Lab Invest* 25, 42-48
- Crowe SE, Perdue MH (1992) Gastrointestinal food hypersensitivity: basic mechanisms of pathophysiology. *Gastroenterology* 103, 1075-1095
- Daussant J, Skakoun A (1985) Les méthodes immunochimiques appliquées à l'analyse des protéines végétales. *In: Protéines végétales* (Godon B, Ed), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 81-107
- Davico MJ, Lefavre J, Thivend P, Barlet JP (1979) Feedback regulation of pancreatic secretion in the young milk-fed calf. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 4A, 1147-1152
- Davin A (1985) Propriétés biochimiques et physico-chimiques des protéines d'organes végétaux de réserve enterrés (tubercules et racines). *In: Protéines végétales* (Godon B, Ed), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 245-261
- Davies DT, Law AJR (1977) An improved method for quantitative fractionation of casein mixtures using ion exchange chromatography. *J Dairy Res* 44, 213-221
- Dawson DP, Morrill JL, Reddy PG, Minocha HC, Ramsey HA (1988) Soy protein concentrate and heated soy flours as protein sources in milk replacer for preruminant calves. *J Dairy Sci* 71, 1301-1309
- De Boer R, Hiddink J (1977) Reverse osmosis and ultrafiltration in the treatment of food waste. *Chemical Engineering in a Hostile World*, EUROCHEM Conference, Paper No. 38, Session 8, 16 pp
- Deutsch HF, Smith VR (1957) Intestinal permeability to proteins in the newborn herbivore. *Am J Physiol* 191, 271-276
- Di Pietro CM, Liener IE (1989) Soybean protease inhibitors in foods. *J Food Sci* 54, 606-609

- Dréau D, Lallès JP, Salmon H, Toullec R (1995) IgM, IgA IgG1 and IgG2 specific responses in blood and gut secretion of calves fed soyabean products. *Vet Immunol Immunopathol* 47, 57-67
- Duranti M, Guerrieri N, Takahashi T, Cerletti P (1988) The legumine-like storage protein of *Lupinus albus* seeds. *Phytochemistry* 27, 15-23
- Duranti M, Restani P, Poniatowska M, Cerletti P (1981) The seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochemistry* 20, 2071-2075
- Duvaux C (1989) Mécanismes d'intolerance digestive aux protéines de soja chez le veau préruminant (et le porcelet). Thèse Université Rennes I, 130 pp
- Duvaux C, Guilloteau P, Toullec R, Sissons JW (1990a) A new method of estimating the proportions of different proteins in a mixture using amino acid profiles: application to undigested proteins in the preruminant calf. *Ann Zootech* 39, 9-18
- Duvaux C, Sissons JW, Pedersen HE, Guilloteau P, Toullec R (1990b). Digestion of allergenic soya protein in the preruminant calf. *Reprod Nutr Dev* 30 (Suppl 2), 194
- Duvaux-Ponter C, Lallès JP, Toullec R (1993) Soya protein antigenicity and small intestinal motility in preruminant calves. *Ann Zootech* 42, 151
- Eberts TJ, Sample RHB, Glick MR, Ellis GH (1979) A simplified, colorimetric micromethod for xylose in serum or urine, with phloroglucinol. *Clin Chem* 25, 1440-1443
- Eggum BO, Tomes G, Beams RM, Datta FU (1993) Protein and energy evaluation with rats of seed from 11 lupin cultivars. *Anim Feed Sci Technol* 43, 109-119
- Elia M, Behrers R, Northrop C, Wraight P, Neale G (1987) Evaluation of mannitol, lactulose and <sup>51</sup>Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate as markers of intestinal permeability in man. *Clin Sci* 73, 197-204
- Ewart JAD (1976) A Cappelle-Desprez  $\beta$ -gliadin of high mobility. *J Sci Food Agric* 27, 695-698
- Faichney GJ, Weston RH (1971) Digestion by ruminant lambs of a diet containing formaldehyde treated casein. *Aust J Agric Res* 22, 461-468
- Feillet P (1976) Les albumines et globulines du blé. *Ann Technol Agric* 25, 203-216
- Fenwick DE, Oakenfull D (1981) Saponin content of food plants and some prepared foods. *J Sci Food Agric* 34, 186-191
- Gabius HJ, Engelhardt R, Hellman KP, Ochsenfahrt A (1987) Preparation of neoglycoprotein-enzyme conjugate using a heterobifunctional reagent and its use in solid-phase assays and histochemistry. *Anal Biochem* 165, 349-355
- Gallaher D, Schneeman BO (1986) Nutritional and metabolic response to plant inhibitors of digestive enzymes. In: *Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods* (Friedman M, Ed), Plenum, New York & London, 167-184

- Gardner RW, Shupe MG, Brimhall W, Weber DJ (1991) Causes of adverse responses to soyabean milk replacers in young calves. *J Dairy Sci* 73, 1312-1317
- Gaudreau JM, Brisson GJ (1978) Abomasum emptying in young dairy calves fed milk replacers containing animal or vegetable fats. *J Dairy Sci* 61, 1435-1443
- Gershoni JM, Palade GE (1982) Electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gels to a positively charged membrane filter. *Anal Biochem* 124, 396
- Gorrill ADL, Thomas JW (1967) Body weight changes, pancreas size and enzyme activity, and proteolytic enzyme activity and protein digestion in intestinal contents from calves fed soybean and milk protein diets. *J Nutr* 92, 86-92
- Grant G (1989) Anti-nutritional effects of soyabean: a review. *Progress in Food Nutrition Science* 13, 317-348
- Grant G, Ewen SWB, Bardocz S, Brown DS, Dorward PM, Watt WB, Stewart JC, Pusztai A (1989) Local (gut) and systemic responses of rats to dietary soybean (*Glycine max*) proteins. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 34-38
- Grant G, van Driessche E (1993) Legume lectins: Physicochemical and nutritional properties. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (van der Poel AFB, Huisman J, Saini HS, Eds), Wageningen Pers, 219-233
- Greer F, Brewer AC, Pusztai A (1985) Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats. *Br J Nutr* 54, 95-103
- Grizard J, Toullec R, Guilloteau P, Patureau-Mirand P (1982) Influence de la cinétique d'évacuation gastrique de l'aliment sur l'insulinémie chez le veau préruminant. *Reprod Nutr Dev* 22, 475-484
- Grongnet JF, Patureau-Mirand P, Toullec R, Prugnaud J (1981) Utilisation des protéines du lait et du lactosérum par le jeune veau préruminant. Influence de l'âge et de la dénaturation des protéines du lactosérum. *Ann Zootech* 30, 443-464
- Guéguen J (1983) Legume seed protein extraction, processing, and end product characteristics. In: *Plant protein for human food* (Bowell CE, Petit L, Eds), Nijhoff, The Hague, 267-303
- Guéguen J, Azanza JL (1985) Propriétés biochimiques et physico-chimiques des protéines de légumineuses et d'oléagineux. In: *Protéines végétales* (Godon B, Ed), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 135-159
- Guéguen J, van Oort MG, Quillien L, Hessing M (1993) The composition, biochemical characteristics and analysis of proteinaceous antinutritional factors in legume seeds. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (van der Poel AFB, Huisman J, Saini HS, Eds), Wageningen Pers, 9-30

- Guilloteau P, Corring T, Chayvialle JA, Bernard C, Sissons JW, Toullec R (1986a) Effect of soya protein on digestive enzymes, gut hormone and anti-soya antibody plasma levels in the preruminant calf. *Reprod Nutr Dev* 26, 717-728
- Guilloteau P, Corring T, Toullec R, Garnot P, Robelin J (1984) Enzyme potentialities of the abomasum and pancreas of the calf. 1. Effect of age in the preruminant. *Reprod Nutr Dev* 24, 315-325
- Guilloteau P, Paruelle JL, Toullec R, Mathieu CM (1975) Utilisation des protéines par le veau préruminant à l'engrais. III. Influence du remplacement des protéines du lait par celles du poisson sur la vidange stomacale. *Ann Zootech* 24, 243-253
- Guilloteau P, Patureau-Mirand P, Toullec R, Prugnaud J (1980) Digestion of milk and methanol-grown bacteria protein in the preruminant calf. II. Amino acid composition of ileal digesta and faeces and blood levels of free amino acids kinetics. *Reprod Nutr Dev* 20, 615-629
- Guilloteau P, Toullec R (1983) Circadian changes in the abomasal secretions of the preruminant calf. *Reprod Nutr Dev* 23, 967-977
- Guilloteau P, Toullec R, Culioli J, Le Douaron D (1977) Utilisation de protéines par le veau préruminant à l'engrais. V. Utilisation digestive des protéines du poisson, du soja et de la féverole. *Ann Zootech* 26, 15-28
- Guilloteau P, Toullec R, Grongnet JF, Patureau-Mirand P, Prugnaud J (1986b) Digestion of milk, fish and soyabean protein in the preruminant calf: flow of digesta, apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta. *Br J Nutr* 55, 571-592
- Guilloteau P, Toullec R, Patureau-Mirand P (1979) Utilisation des protéines par le veau préruminant à l'engrais. VII. Influence du remplacement des protéines du lait par celles du soja et de la féverole sur l'évacuation gastrique. *Ann Zootech* 28, 1-17
- Guilloteau P, Toullec R, Patureau-Mirand P, Prugnaud J (1981) Importance of the abomasum in digestion in the preruminant calf. *Reprod Nutr Dev* 21, 885-899
- Guilloteau P, Sauvant D, Patureau-Mirand P (1983) Methods of comparing amino acid composition of proteins: application to undigested proteins in the preruminant calf. *Ann Nutr Metab* 27, 457-469
- Haeney MR, Culank LS, Montgomery RD, Sammons HG (1978) Evaluation of xylose absorption as measured in blood and urine: a one-hour blood xylose screening test in malabsorption. *Gastroenterology* 75, 393-400
- Hall EJ, Batt RM (1991a) Abnormal permeability precedes the development of a gluten sensitive enteropathy in Irish setter dogs. *Gut* 32, 749-753
- Hall EJ, Batt RM (1991b) Differential sugar absorption for the assessment of canine intestinal permeability: the cellobiose / mannitol test in gluten-sensitive enteropathy of Irish setters. *Res Vet Sci* 51, 83-87

- Hall EJ, Batt RM, Brown A (1989) Assessment of canine intestinal permeability using <sup>51</sup>Cr-labeled ethylenediaminetetraacetate. *Am J Vet Res* 50, 2069-2074
- Hamer RJ, Koninx JF, van Oort MG, Mouwen JM, Huisman J (1989) New developments in lectin analysis. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 30-33
- Hamer RJ, Vlooswijk R, van Oort MG (1992) Antigenicity of legume proteins in animal feeding. *First Eur Conf on Grain Legumes*, Angers, France, 453-454
- Henschel MJ (1973) Comparison of the development of proteolytic activity in the abomasum of the preruminant calf with that in the stomach of the young rabbit and guinea-pig. *Br J Nutr* 30, 285-296
- Heppell LMJ, Sissons JW, Banks SM (1989) Sensitisation of preruminant calves and piglets to antigenic protein in early weaning diets: control of systemic antibody responses. *Res Vet Sci* 47, 257-262
- Heppell LMJ, Sissons JW, Pedersen HE (1987a) A comparison of the antigenicity of soya-bean-based infant formulas. *Br J Nutr* 58, 393-403
- Heppell LMJ, Sissons JW, Stobo IJF, Thurston SM, Duvaux C (1987b) Immunological intolerance in calves fed antigenic soyabean protein. *In: Food Allergy* (Chandra KR, Ed), Nutr Res Educ Fdn St John's, Newfoundland, 109-115
- Hessing M, van de Hoef R, van Biert M, Vlooswijk RAA, van Oort MG, Hamer R (1993) Antigenicity and cross reactivity of legume proteins. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (van der Poel AFB, Huisman J, Saini HS, Eds), Wageningen Pers, 55-59
- Heyman M, Desjeux JF (1992) Significance of intestinal food protein transport. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 15, 48-57
- Hill KJ (1956) Gastric development and antibody transference in the lamb, with some observations on the rat and guinea-pig. *Q J Exp Physiol* 41, 421-432
- Hill KJ, Noakes DE, Lowe RA (1970) Gastric digestive physiology of the calf and piglet. *In: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant* (Phillipson AT, Ed), Oriel, Newcastle Upon Tyne, 166-179
- Hirano H, Fukazawa C, Harada K (1985) The primary structures of the A4 and A5 subunits are highly homologous to that of the A3 subunit in the glycinin seed storage protein of soyabean. *FEBS Letters* 181, 124-128
- Hollander D (1992) The intestinal permeability barrier. A hypothesis as to its regulation and involvement in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 27, 721-726
- Hudson BJB (1979) The nutritional quality of lupin seed. *Qual Plant Fds Hum Nutr* 29, 245-251



- Huebner FR, Wall JS (1976) Fractionation and quantitative differences of glutenin from wheat varieties varying in backing quality. *Cereal Chem* 53, 258-269
- Hughes SA, Murphy PA (1983) Varietal influence on the quantity of glycinin in soybeans. *J Agric Food Chem* 31, 376-379
- Huisman J (1989) Antinutritional factors (ANFs) in the nutrition of monogastric farm animals. In: *Nutrition and Digestive Physiology in Monogastric Farm Animals* (van Weerden EJ, Huisman J, Eds), Pudoc, Wageningen, 17-35
- Huisman J, Jansman AJM (1991) Dietary effects and some analytical aspects of antinutritional factors in peas (*Pisum sativum*), common beans (*Phaseolus vulgaris*) and soybeans (*Glycine max L*) in monogastric farm animals. A literature review. *Nutr Abstr Rev (Ser B)* 61, 901-921
- Huisman J, van der Poel AFB, Verstegen MWA, van Weerden EJ (1990) Antinutritional factors (ANF) in pig production. *World Rev Anim Prod* 2, 78-82
- Ireland PA, Dziejczak SZ, Kearsley MW (1986) Saponin content of soya and some commercial soya products by means of high-performance liquid chromatography of the saponins. *J Sci Food Agric* 37, 694-698
- Iwabushi S, Yamauchi F (1987) Determination of glycinin and  $\beta$ -conglycinin in soybean proteins by immunological methods. *J Agric Food Chem* 35, 200-205
- Jaffe G (1981) Phytic acid in soybeans. *J Am Oil Chem Soc* 58, 493-495
- Jalonen T, Isolauri E, Heyman M, Crain-Denoyelle AM, Sillanaukee P, Koivula T (1991) Increased  $\beta$ -lactoglobulin absorption during rotavirus enteritis in infants: relationship to sugar permeability. *Pediatr Res* 30, 290-293
- Jansman AJM, Schulze H, van Leeuwen P, Verstegen MWA (1994) Effects of protease inhibitors and lectins from soya on the true digestibility and endogenous excretion of crude protein in piglets. In: *VIIth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs* (Souffrant WB, Hagemester H, Eds), EAAP, Herning, Denmark, Publ No 8, Dummertorf, Bad Doberan, 322-324
- Jeffcott LB (1972) Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biol Rev* 47, 439-464
- Jenkins KJ, Emmons DB (1982) Evidence for beneficial effect of chymosin-casein clots in abomasum on calf performance. *Nutr Rep Int* 26, 635-643
- Jenkins KJ, Mahadevan S, Emmons DB (1980) Susceptibility of proteins used in calf milk replacers to hydrolysis by various proteolytic enzymes. *Can J Anim Sci* 60, 907-914
- Jousselin W (1988) Quel veau de produire demain? *Association Francaise des Techniciens de l'Alimentation Animale*, Rennes, France, 9 pp
- Kakade ML, Hoffa DE, Liener IE (1973) Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. *J Nutr* 103, 1772-1778

- Kakade ML, Rackis JJ, Mc Ghee JE, Puski G (1974) Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem* 51, 376-382
- Kakade ML, Thompson RD, Englstand WE, Behrens GC, Yoder RD, Crane FM (1976) Failure of soybean trypsin inhibitor to exert deleterious effects in calves. *J Dairy Sci* 59, 1484-1489
- Kaminogawa S, Yamauchi K (1972) Decomposition of  $\beta$ -casein by milk protease. Similarity of the decomposed products to temperature sensitive and R-caseins. *Agric Biol Chem* 36, 255-260
- Khorasani GR, Ozimek L, Sauer WC, Kennelly JJ (1989a) Substitution of milk protein with isolated soy protein in calf milk replacers. *J Anim Sci* 67, 1634-1641
- Khorasani GR, Sauer WC, Maenhout F, Kennelly JJ (1989b) Substitution of milk protein with soy flour or meat-solubles in calf milk replacers. *Can J Anim Sci* 69, 373-382
- Kik M, Huisman J, van der Poel A, Mouwen J (1989a) Pathological changes of the small intestinal mucosa of piglets after feeding *Phaseolus vulgaris* beans. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 49-53
- Kik MJL, Rojer JM, Mouwen JMV, Koninkx JFGJ, van Dijk JE, van der Hage MH (1989b) The interaction between plant lectins and the small intestinal epithelium: a primary cause of intestinal disturbance. *Vet quarterly* 11, 108-115
- Kilshaw PJ (1981) Gastrointestinal hypersensitivity in the preruminant calf. *Curr Top Vet Med Anim Sci* 12, 203-218
- Kilshaw PJ, Sissons JW (1979a) Gastrointestinal allergy to soyabean protein in preruminant calves. Antibody production and digestive disturbances in calves fed heated soyabean flour. *Res Vet Sci* 27, 361-365
- Kilshaw PJ, Sissons JW (1979b) Gastrointestinal allergy to soyabean protein in preruminant calves. Allergenic constituents of soyabean products. *Res Vet Sci* 27, 366-371
- Kilshaw PJ, Slade H (1980) Passage of ingested protein into the blood during gastrointestinal hypersensitivity reactions: experiments in the preruminant calf. *Clin Exp Immunol* 41, 572-582
- Kilshaw PJ, Slade H (1982) Villus atrophy and crypt elongation in the small intestine of preruminant calves fed with heated soyabean flour or wheat gluten. *Res Vet Sci* 33, 305-308
- Kitamura K, Takagi T, Shibasaki K (1976) Subunit structure of soybean 11S globulin. *Agric Biol Chem* 40, 1837-1844
- Knorr D, Kohler GO, Betschart AA (1977) Potato protein concentrates: the influence of various methods of recovery upon yield, compositional and functional characteristics. *J Food Process Preserv* 1, 235-247

- Kolar CW, Wagner TJ (1991) Alternative protein use in calf milk replacers. *In: New Trends in Veal Calf Production* (Metz JHM, Groenestein CM, Eds), Pudoc, Wageningen, 211-215
- Koldovsky O (1989) Search for role of milk-born biologically active peptides for the suckling. *J Nutr* 119, 1543-1551
- Koshiyama I (1968) Chemical and physical properties of a 7S protein in soyabean globulins. *Cereal Chem* 45, 394-404
- Koshiyama I, Kikuchi M, Harada K, Fukushima D (1981) 2S globulins of soybean seeds. 1. Isolation and characterization of protein components. 2. Physicochemical and biological properties of protease inhibitors in 2S globulins. *J Agric Food Chem* 29, 336-343
- Krugliak P, Hollander D, Schlaepfer CC, Nguyen H, Ma Ty (1994) Mechanisms and sites of mannitol permeability of small and large intestine in the rat. *Dig Dis Sci* 39, 796-801
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685
- Lallès JP (1991) Mécanismes d'hypersensibilité digestive aux protéines de substitution d'origine végétale chez le veau préruminant. *In: Le veau de boucherie face aux bouleversements de la filière*, AFTAA, Paris, 12 pp
- Lallès JP (1993a) Nutritional and antinutritional aspects of soyabean and field pea proteins used in veal calf production. *Livest Prod Sci* 34, 181-202
- Lallès JP (1993b) Méthodes d'appréciation de l'antigénicité des protéines de substitution destinées à l'alimentation du veau de boucherie. *In: Alimentation du veau de boucherie*, AFTAA, INA-PG, Paris, 11 pp
- Lallès JP, Poncet C (1990) Changes in ruminal and intestinal digestion during and after weaning in dairy calves fed concentrate diets containing pea or soyabean meal. 1. Digestion of organic matter and nitrogen. *Livest Prod Sci* 24, 129-142
- Lallès JP, Toullec R (1991) La digestion des protéines chez le veau préruminant. *In: Le veau de boucherie de demain et le choix stratégique des protéines*. Protein Technologies International PTI, Saint- Louis, USA, 33 pp
- Lallès JP, Roger L, Toullec R (1991) Antigenicity and digestive utilization of soya protein by veal calves. *In: Protein Metabolism and Nutrition* (Eggum BO, Boisen S, Borsting C, Daenfer A, Hvelplund T, Eds), EAAP, Herning, Denmark, Publ No 59, 222-224
- Lallès JP, André F, Toullec R (1993a) Assessment of the small intestine function in the preruminant calf using lactulose, sucrose and mannitol as permeability probes. *Nutr Clin Metab* 7, 255
- Lallès JP, Plumb JW, Mills ENC, Morgan MRA, Tukur HM, Toullec R (1993b) Antigenic activity of some soyabean products used in veal calf feeding: comparison between *in vitro* tests (ELISA polyclonal vs monoclonal) and with *in vivo* data. *In: Recent*

*Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (van der Poel AFB, Huisman J, Saini HS, Eds), Wageningen Pers, 281-286

- Lallès JP, Salmon H, Bakker NPM, Tolman GH (1993c) Effects of dietary antigens on health, performance and immune system of calves and piglets. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (van der Poel AFB, Huisman J, Saini HS, Eds), Wageningen Pers, 253-270
- Lallès JP, Toullec R, Bouchez P, Roger L (1994) Antigenicity and digestive utilisation of four soyabean products by the preruminant calf. *Livest Prod Sci* 34
- Lallès JP, Toullec R, Branco Pardal P, Sissons JW (1995) Hydrolysed soy protein isolate sustains high nutritional performance in veal calves. *J Dairy Sci* 78, 194-204
- Le Hüerou-Luron I, Guilloteau P, Puigserver A, Toullec R, Wicker C (1990) Effects of age and weaning on the enzyme activities of abomasum, pancreas and intestine in the calf. *Reprod Nutr Dev* 30, 132
- Le Hüerou-Luron I, Guilloteau P, Wicker-Planquart C, Chayvialle JA, Burton J, Mouats A, Toullec R, Puigserver A (1992) Gastric and pancreatic enzyme activities and their relationship with some gut regulatory peptides during postnatal development and weaning in calves. *J Nutr* 122, 1434-1445
- Le Hüerou-Luron I, Le Drean G, Chayvialle JA, Benard C, Rome V, Toullec R, Guilloteau P (1994) Are secretin and cholecystokinin (CCK) involved in the regulation of postprandial pancreatic juice secretion and plasma regulatory peptides levels. *In: Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, VIII International symposium on ruminant physiology* (Giesecke D, Ed), DLG-Verlag, Frankfurt, vol 3, 298
- Liener IE (1989) Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 6-13
- Liener IE, Kakade ML (1972) Protease inhibitors. *In: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs* (Liener IE, Ed), Academic Press Inc, New York, 7-68
- Lim SG, Menzies IS, Lee CA, Johnson MA, Pounder RE (1993) Intestinal permeability and function in patients infected with human immunodeficiency virus. A comparison with coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 28, 573-580
- Lindner P, Kaplan B, Weiler E, Ben-Gera I (1981) Fractionation of potato juice proteins into acid-soluble and acid-coagulable fractions. *Food Chem* 6, 323-35
- Liu K, Markakis P (1989) An improved colorimetric method for determining antitryptic activity in soybean products. *Cereal Chem* 66, 415-422
- Lyman RL, Olds BO, Green GM (1974) Chymotrypsinogen in the intestine of rats fed soybean trypsin inhibitor and its inability to suppress pancreatic enzyme secretions. *J Nutr* 104, 105-110

- Lobley RW, Burrows PC, Warwick R, Dawson DJ, Holmes R (1990) Simultaneous assessment of intestinal permeability and lactose tolerance with orally administered raffinose, lactose and L-arabinose. *Clin Sci* 79, 175-183
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265-275
- Makkink CA, Heinz T (1991) Endogenous N losses at the terminal ileum of young piglets fed diets based on either skim milk or soybean meal. In: *Digestive Physiology in Pigs* (Verstegen MWA, Huisman J, den Hartog LA, Eds), EAAP, publ No 54, Pudoc, Wageningen, 196-200
- Malige B (1982) Les protéines du lactosérum extraites par chromatographie. In: *Protéines animales* (Bourgeois CM, Le Rœux P, Eds), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 191-201
- Martin P, Collin JC, Garnot P, Ribadeau-Dumas B, Mocquot G (1981) Evaluation of bovine rennets in terms of absolute concentrations of chymosin and pepsin A. *J Dairy Res* 48, 447-456
- Martin P, Trieu-Cuot P, Collin JC, Ribadeau-Dumas B (1982) Purification and characterization of bovine gastricsin. *Eur J Biochem* 122, 31-39
- Mason VC (1979) The quantitative importance of bacterial residues in the non-dietary faecal nitrogen of sheep. I Methodology studies. *Z Tierphysiol Tierernähr u Futtermittelkd* 41, 131-139
- Mason VC, Just A, Bech-Anderens S (1976) Bacterial activity in the hind gut of pigs. 2 Its influence on the apparent digestibility of nitrogen and amino acids. *Z Tierphysiol Tierernähr u Futtermittelkd* 36, 310-324
- Maxton DG, Bjarnason I, Reynolds AP, Catt SD, Peters TJ, Menzies IS (1986) Lactulose <sup>51</sup>Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate, L-rhamnose and polyethyleneglycol 500 as probe markers for assessment *in vivo* of human intestinal permeability. *Clin Sci* 71, 71-80
- Mc Carthy EF, Mc Dougall EI (1953) Absorption of immune globulin by the young lamb after ingestion of colostrum. *Biochem J* 55, 177-182
- Meddings JB, Sutherland LR, Byles NI, Wallace JL (1993) Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease. *Gastroenterology* 104, 1619-1626
- Menzies IS (1984) Transmucosal passage of inert molecules in health and disease. In: *Intestinal absorption and secretion* (Skadhauge E, Heintz K, Higham MN, Eds), Lancaster, England, MTP, 527-571
- Mir PS, Burton JH, Wilkie BN, Burnside EB (1993) Effects of processing methods for soybean meal used in milk replacers on intestinal xylose uptake and serum antibody to soybean antigen when fed to calves of various ages. *Can J Anim Sci* 73, 191-200

- Momma T, Negoro T, Hirano H, Matsumoto A, Udaka K, Fukazawa C (1985a) Glycinin A<sub>5</sub>A<sub>4</sub>B<sub>3</sub> mRNA: cDNA cloning and nucleotide sequencing of a splitting storage protein subunit of soyabean. *Eur J Biochem* 149, 491-496
- Momma T, Negoro T, Udaka K, Fukuzawa F (1985b) A complete cDNA coding for the sequence of glycinin A<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> subunit precursor. *FEBS Letters* 188, 117-122
- Moreira MA, Hermodson MA, Larkins BA, Nielsen NC (1979) Partial characterization of the acidic and basic polypeptides of glycinin. *J Biol Chem* 254, 9921-9926
- Moreira MA, Mahoney WC, Larkins BA, Nielsen NC (1981) Comparison of the antigenic properties of the glycinin polypeptides. *Arch Biochem Biophys* 210, 643-646
- Mori T, Utsumi S, Inaba H, Kitamura K, Harada K (1981) Differences in subunit composition of glycinin among soyabean cultivars. *J Agric Food Chem* 29, 20-23
- Mortenson FN, Espe DL, Cannon CY (1935) Effect of heating milk on the time which the curds remain in the abomasum of calves. *J Dairy Sci* 18, 229-238
- Mowat AM (1987) The regulation of immune responses to dietary protein antigens. *Immunol Today* 8, 93-98
- Murphy PA, Resurreccion AP (1984) Varietal and environmental differences in soybean glycinin and  $\beta$ -conglycinin content. *J Agric Food Chem* 32, 911-915
- Mylrea PJ (1966) Digestion of milk in young calves. I. Flow and acidity of the content of the small intestine. *Res Vet Sci* 7, 333-334
- Negoro T, Momma T, Fukuzawa C (1985) A cDNA clone encoding a glycinin A<sub>1a</sub> subunit precursor of soyabean. *Nucleic Acids Res* 13, 6719-6731
- Nielsen NC (1985) Structure of soy proteins. In: *New protein foods* (Altschul AM, Wilche HL, Eds), Academic, Orlando, 5, 27-64
- Nitsan Z, Alumot E (1964) Overcoming the inhibition of intestinal proteolytic activity caused by raw soybean in chicks of different ages. *J Nutr* 84, 179-184
- Noordewier GJ, van Kempen GJM (1983a) Het gebruik van aardappeleiwit in het rantsoen voor vleeskalveren. 1. Gehele of gedeeltelijke vervanging van ondermelkpoeder door aardappeleiwit in het rantsoen voor vleeskalveren. *Bedrijfsontwikkeling Jaargang* 14, 203-206
- Noordewier GJ, van Kempen GJM (1983b) Het gebruik van aardappeleiwit in het rantsoen voor vleeskalveren. 2. Het effect van solanine op de groei en voederconversie van vleeskalveren. *Bedrijfsontwikkeling Jaargang* 14, 207-211
- Nunes do Prado I, Toullec R, Guilloteau P, Guéguen J (1989a) Digestion des protéines de pois et de soja chez le veau préruminant. II. Digestibilité apparente à la fin de l'iléon et du tube digestif. *Reprod Nutr Dev* 29, 425-439

- Nunes do Prado I, Toullec R, Guilloteau P, Guéguen J (1990) Digestion des protéines de pois dans la caillette et l'intestin grêle du veau préruminant: résultats préliminaires. *Reprod Nutr Dev* 30 (Suppl 2), 195-196
- Nunes do Prado I, Toullec R, Lallès JP, Guéguen J, Hingand L, Guilloteau P (1989b) Digestion des protéines de pois et de soja chez le veau préruminant. I. Taux circulants de nutriments, formation d'anticorps et perméabilité intestinale aux macromolécules. *Reprod Nutr Dev* 29, 413-424
- Nunes do Prado I, Toullec R, Lallès JP, Hingand L, Guéguen J (1988) Anticorps contre les protéines alimentaires et perméabilité intestinale aux macromolécules chez le veau préruminant recevant de la farine de pois. *Reprod Nutr Dev* 28 (Suppl 1), 157-158
- Nuss J, Hadziyev D (1980) Effect of heat on molecular weight and charge of potato proteins. *Can Inst Food Sci Technol J* 13, 80-86
- Okubo K, Asano M, Shibasaki I (1969) On basic subunits dissociated from C (11S) components of soyabean proteins with urea. *Agric Biol Chem* 33, 463-465
- Oosten (1976) Protein from potato starch mill effluent. In: *Food from Waste* (Birch GG, Parker KJ, Worgan JT, Eds), Applied Science, London, 196-204
- Orth RA, Bushuk W (1973) Studies of glutenin. I. Comparison of preparative methods. *Cereal Chem* 50, 106-114
- Papasouliotis K, Gruffydd-Jones TJ, Sparkes AH, Cripps PJ, Millard WG (1993) Lactulose and mannitol as probe markers for *in vivo* assessment of passive intestinal permeability in healthy cats. *Am J Vet Res* 54, 840-844
- Paruelle JL, Toullec R, Frantzen JF, Mathieu CM (1972) Utilisation des protéines par le veau préruminant à l'engrais. I. Utilisation digestive des protéines de soja et des levures d'alcanes incorporées dans les aliments d'allaitement. *Ann Zootech* 21, 319-331
- Patureau-Mirand P, Prugnaud J, Pion R (1971) Influence de la nature des protéines des aliments d'allaitement sur l'acidoaminémie libre du veau préruminant. Proc. Xème Congrès International de Zootechnie, Thème VII, Versailles
- Patureau-Mirand P, Toullec R, Guilloteau P, Pion R (1977) Influence de la nature des protéines alimentaires sur la composition en acides aminés des fèces du veau préruminant. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 17, 71-83
- Pedersen HE (1986) Studies of soya-bean protein intolerance in the preruminant calf. Ph. D. Thesis, University of Reading, Reading, U.K., 323 pp
- Pélissier JP, Guilloteau P, Brulé G, Toullec R (1983) Digestion des protéines du lait dans la caillette du veau préruminant. Evacuation gastrique après un repas d'épreuve. *Reprod Nutr Dev* 23, 161-173
- Pépin D (1981) Étude des propriétés tensioactives des fractions de gliadines de blé extraites par des traitements physiques. Thèse Université Paris Sud, Orsay

- Petit HV, Ivan M, Brisson GJ (1987) The use of an oxalate-NaOH buffer to study milk replacers coagulation in preruminant calves. *J Dairy Sci* 70, 2565-2570
- Petit HV, Ivan M, Brisson GJ (1988) Digestibility and blood parameters in the preruminant calf fed a clotting or a nonclotting milk replacer. *J Anim Sci* 66, 986
- Petit HV, Ivan M, Brisson GJ (1989) Digestibility measured by faecal and ileal collection in preruminant calves fed a clotting or a non-clotting milk replacer. *J Dairy Sci* 72, 123-128
- Peyraud JL (1983) Rôle respectif des enzymes de l'hôte et de la flore intestinale dans la digestion de l'amidon et de ses dérivés (produits amyliques) chez le jeune agneau préruminant. Thèse ENSA Rennes, 7B, 173 pp
- Pierce AE (1960)  $\beta$ -lactoglobulin in the urine of the newborn suckled. *Nature* 188, 940-941
- Popineau Y (1985) Propriétés biochimiques et physico-chimiques des protéines de céréales. *In: Protéines végétales* (Godon B, Ed), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 161-210
- Pusztai A (1989) Biological effects of dietary lectins. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen 17-29
- Quigg J, Brydon G, Ferguson A, Simpson J (1993) Evaluation of canine small intestinal permeability using the lactulose / rhamnose urinary excretion test. *Res Vet Sci* 55, 326-332
- Rackis JJ, Honig DH, Sessa DJ, Steggerda FR (1970) Flavour and flatulence factors in soybean protein products. *J Agric Food Chem* 18, 977-982
- Rackis JJ, Wolf WJ, Baker EC (1986) Protease inhibitors in plant foods: Content and inactivation. *In: Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods* (Friedman M, Ed), Plenum, New York, 203-237
- Ramage JK, Stanis A, Scicchitano R, Hunt RH, Perdue M (1988) Effect of immunologic reactions on rat intestinal epithelium. Correlation of increased permeability to chromium 51-labeled ethylenediaminetetraacetic acid and ovalbumin during acute inflammation and anaphylaxis. *Gastroenterology* 94, 1368-1375
- Reddy PG, Morrill JL, Minocha HC (1985) Effect of early weaning on the cell mediated immune response of dairy calves. *Nutr Rep Int* 31, 501-503
- Reiter B (1978) Review of the progress of dairy science: antimicrobial system in milk. *J Dairy Res* 45, 131-147
- Rerat A, Corring T (1991) Animal factors affecting protein digestion and absorption. *In: Digestive Physiology in Pigs* (Verstegen MWA, Huisman J, Den Hartog LA Eds), EAAP, publ No 54, Pudoc, Wageningen, 5-34
- Restani P, Duranti M, Cerletti P, Simonetti P (1981) Subunit composition of the seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochemistry* 20, 2077-2083



- Ribadeau-Dumas B (1979) Progrès récents dans la biochimie des protéines du lait. *Rev Lait Fr* 371, 45-59
- Roberts RC, Briggs DR (1965) Isolation and characterization of the 7S component of soybean globulins. *Cereal Chem* 42, 71-85
- Sauer WC, Ozimek L (1986) Digestibility of amino-acids in swines: results and their practical applications. *Livest Prod Sci* 15, 367-387
- Sauer WC, Stothers SC, Parker RJ (1977) Apparent and true availabilities of amino acids in wheat and milling by-products for growing pigs. *Can J Anim Sci* 57, 775-784
- Scanff P, Savalle B, Miranda G, Pélissier JP, Guilloteau P, Toullec R (1990) *In vivo* gastric digestion of milk proteins. Effect of technological treatments. *J Agric Food Chem* 38, 1623-1629
- Scanff P, Yvon M, Pélissier JP, Guilloteau P, Toullec R (1991) Effect of some technological treatments of milk on amino acid composition of *in vivo* effluents during gastric digestion. *J Agric Food Chem* 39, 1482-1487
- Scanff P, Yvon M, Pélissier JP, Guilloteau P, Toullec R (1992) Effect of technological treatments of milk on *in vivo* gastric emptying of immunoreactive whey proteins. *Le Lait* 72, 43-51
- Schoeneberger H, Sam O, Gross R, Cremer HD, Elmadfa I (1981) Protein quality of *Lupinus albus* and *Lupinus mutabilis*. *Die Nahrung* 25, 667-677
- Sedgman CA, Roy JHB, Thomas J, Stobo IJF, Ganderton P (1985) Digestion, absorption and utilization of single-cell protein by the preruminant calf. The true digestibility of milk and bacterial protein and the apparent digestibility and utilisation of their constituent amino acids. *Br J Nutr* 54, 219-224
- Seegraber FJ, Morrill JL (1979) Effect of soy protein on intestinal absorptive ability of calves by the xylose absorption test. *J Dairy Sci* 62, 972-977
- Seegraber FJ, Morrill JL (1982) Effect of soy protein on calves' intestinal absorptive ability and morphology determined by scanning electron microscopy. *J Dairy Sci* 65, 1962-1970
- Seegraber FJ, Morrill, JL (1986) Effect of protein source in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of small intestine. *J Dairy Sci* 69, 460-469
- Shoptaw L (1936) Soybean flour as a substitute for cow's milk in feeding dairy calves. *J Dairy Sci* 49, 95-99
- Stott DI (1989) Immunoblotting and dot-blotting. *J Immunol Methods* 119-153
- Silva AG, Huber JT, De Gregorio RM (1986) Influence of substituting two types of soybean protein for milk protein on gain and utilization of milk replacers in calves. *J Dairy Sci* 69, 172-180
- Sissons JW (1981) Digestive enzymes of cattle. *J Sci Food Agric* 32, 105-114

- Sissons JW (1982) Effects of soya-bean products on digestive processes in the gastrointestinal tract of preruminant calves. *Proc Nutr Soc* 41, 53-61
- Sissons JW, Pedersen HE, Duvaux C, Heppell LMJ, Turvey A (1989) Gut dysfunction and diarrhoea in calves fed antigenic soyabean proteins. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (Huisman J, van der Poel AFB, Liener IE, Eds), Pudoc, Wageningen, 359-362
- Sissons JW, Pedersen HE, Duvaux C, Thurston SM, Starkey S, Wass JAH (1987) Abnormalities in gastrointestinal motility in calves fed antigenic soyabean protein. *In: Food allergy* (Chandra KR, Ed), Nutr Res Educ Fdn St John's, Newfoundland, 95-108
- Sissons JW, Smith RH (1976) The effect of different diets, including those containing soya-bean products on digesta movement and water and nitrogen absorption in the small intestine of the preruminant calf. *Br J Nutr* 36, 421-438
- Sissons JW, Smith RH (1979) Soya-bean products in feeds for preruminant calves. *Proc Nutr Soc* 38, 73A
- Sissons JW, Smith RH, Hewitt D (1979) The effect of giving feeds containing soya-bean meal treated or extracted with ethanol on digestive processes in the preruminant calf. *Br J Nutr* 42, 477-485
- Sissons JW, Smith RH, Hewitt D, Nystrup A (1982) Prediction of the suitability of soy-bean products for feeding to preruminant calves by an *in-vitro* immunochemical method. *Br J Nutr* 47, 311-318
- Sissons JW, Thurston SM (1984) Survival of dietary antigens in the digestive tract of calves intolerant to soyabean products. *Res Vet Sci* 37, 242-246
- Sissons JW, Tolman H (1991) Antinutritional properties of soyabean antigens in calves. *In: Toxic Factors in Crop Plants*. (D'Mello JPF, Duffus CM, Eds), Proc. 2<sup>nd</sup> Spring Conf, Edinburgh, U.K., 62-85
- Smith RH, Sissons JW (1975) The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. *Br J Nutr* 33, 329-349
- Souffrant WB (1991) Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs. *In: Digestive Physiology in Pigs* (Verstegen MWA, Huisman J, Den Hartog LA, Eds), Pudoc, Wageningen, 147-166
- Staswick PE, Hermodson MA, Nielson NC (1981) Identification of the acidic and basic subunit complexes of glycinin. *J Biol Chem* 256, 8752-8755
- Staswick PE, Hermodson MA, Nielson NC (1984) The amino acid sequence of A2B1a subunit of glycinin. *J Biol Chem* 259, 13424-13430
- Stobo IJF, Ganderton P, Perfitt MW (1984) Effect of level of inclusion of antigen-free soya protein concentrate in a whey-based substitute for calves. *Anim Prod* 38, 557

- Stobo IJF, Roy JHB (1978) The use of non-milk proteins in milk substitutes for calves. *World Anim Rev* 25, 18-24
- Stott DI (1989) Immunoblotting and blotting. *J Immunol Methods* 119, 153-187
- Suh SG, Peterson JE, Stiekema WJ, Hannapel DJ (1990) Purification and characterization of the 22-kilodalton potato tuber proteins. *Plant Physiol* 94, 40-45
- Strobel S, Brydon WG, Ferguson A (1984) Cellobiose / mannitol sugar permeability test complements biopsy histopathology in clinical investigation of the jejunum. *Gut* 25, 1241-1246
- Tatham AS, Schrewry PR (1985) The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  and  $\omega$  gliadins. *J Cereal Sci* 3, 103-113
- Terce-Laforgue T, Charbonnier L, Moss J (1980) Isolation and characterization of  $\beta$ -gliadin fractions. *Biochem Biophys Acta* 625, 118-126
- Ternouth JH, Roy JHB (1973) The effect of diet and feeding technique on digestive function in the calf. *Ann Rech Vet* 4, 19-30
- Ternouth JH, Roy JHB, Shotton SM (1976) Concurrent studies on the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. 4. The effect of age. *Br J Nutr* 36, 523-535
- Ternouth JH, Roy JHB, Siddons RC (1974) Concurrent studies of the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. 2. The effect of addition of fat to skim milk and of "severe" preheating treatment of spray-dried skim-milk powder. *Br J Nutr* 31, 13-26
- Ternouth JH, Roy JHB, Thompson SY, Toothill J, Gillies CM, Edwards-Webb JD (1975) Concurrent studies of the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. 3. Further studies on the addition of fat to skim milk and the use of non-milk proteins in milk-substitute diets. *Br J Nutr* 33, 181-196
- Tolman GH, Demeersman M (1991) Digestibility and growth performance of wheat soluble protein for veal calves. In: *New Trends in Veal Calf Production* (Metz JHM, Groenestein CM, Ed), Pudoc, Wageningen, 227-233
- Toullec R (1980) Alimentation du veau de boucherie. In: *Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins*. (Jarrige R, Eds), INRA Publications, Paris, 185-190
- Toullec R (1981) Utilisation des protéines de luzerne par le veau préruminant. *Bull. Tech. CRZV Theix*, INRA 44, 9-12
- Toullec R, Coroller JY, Patureau-Mirand P (1977) Utilisation des protéines par le veau préruminant à l'engrais. VI. Influence de la solubilité des protéines de maïs et de poisson sur leur utilisation digestive. *Ann Zootech* 26, 523-532
- Toullec R, Coroller JY, Patureau-Mirand P, Melcion JP, Prugnaud JP, Vadebouze P, Delort-Laval J, Cerning-Beroard J (1980) Influence des traitements technologiques

- sur l'utilisation des protéines de la fève par le veau préruminant. *Ann Zootech* 29, 339-361
- Toullec R, Grongnet JF (1990) Remplacement partiel des protéines du lait par celles du blé ou du maïs dans les aliments d'allaitement: influence sur l'utilisation digestive chez le veau de boucherie. *Prod Anim* 3, 201-206
- Toullec R, Guilloteau P, Coroller JY (1979) Influence de la cinétique d'évacuation gastrique de l'aliment sur l'absorption chez le veau préruminant. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 19, 729-732
- Toullec R, Guilloteau P, Patureau-Mirand P, Sissons JW (1983) Digestion and absorption of protein in the preruminant. In: *Métabolisme et Nutrition Azotées*. (Arnal M, Pion R, Bonin D, Eds), EAAP, publ No 31, INRA, Paris, 245-261
- Toullec R, Lallès JP, Bouchez P (1994) Substitution of skim milk protein with soyabean protein concentrates and whey in milk replacers for veal calves. *Anim Feed Sci Technol* 50, 101-112
- Toullec R, Mathieu CM, Pion R (1974) Utilisation des protéines de lactosérum par le veau préruminant à l'engrais. II. Digestibilité et utilisation pour la croissance. *Ann Zootech* 23, 75-87
- Toullec R, Patureau-Mirand P, Thivend P, Vermorel M (1975) Bases physiologiques de la réalisation des aliments d'allaitement pour veaux. *L'alimentation et la vie* 63, 69-100
- Toullec R, Thivend P, Mathieu CM (1971) Utilisation des protéines du lactosérum par le veau préruminant à l'engrais. I. Vidange stomacale comparée du lait entier et de deux laits de remplacement ne contenant que des protéines de lactosérum comme source de matières azotées. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 11, 435-453.
- Travis S, Menzies I (1992) Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clin Sci* 82, 471-488
- Trocon JL, Toullec R (1989) Aliments d'allaitement pour veaux d'élevage. Remplacement de la poudre de lait écrémé par d'autres sources protéiques. *Prod Anim* 2, 117-128
- Tukur HM, Lallès JP, Mathis C, Caugant I, Toullec R (1993) Digestion of soyabean globulins, glycinin,  $\alpha$ -conglycinin and  $\beta$ -conglycinin, in the preruminant and the ruminant calf. *Can J Anim Sci* 73, 891-905
- Turner MW, Boulton P, Shields JG, Strobel S, Gibson S, Miller HRP, Levinsky RJ (1988) Intestinal hypersensitivity reactions in the rat. I. Uptake of intact protein, permeability to sugars and their correlation with mucosal mast-cell activation. *Immunology* 63, 119-124
- Tzeng D, Davis CL (1980) Amino acid nutrition of the young calf. Estimation of methionine and lysine requirements. *J Dairy Sci* 63, 441-450
- Valdehouse P, Bergeron E, Gaborit T, Delort-Laval J (1980) Content and distribution of trypsin inhibitors and haemagglutinins in some legume seeds. *Can J Plant Sci* 60, 695-701

- Vallés E (1980) Les protéases gastriques bovines utilisées en fromagerie. Thèse de Docteur-Ingénieur, Université de Paris-Sud, 230 pp
- van Dijk JE, Fledderus A, Mouwen JMVM, Holzhauser C (1988) Gastrointestinal food allergy and its role in large domestic animals. *Vet Res Commun* 12, 47-59
- van Weerden EH, Huisman J (1978) Digestibility of "Pruteen" in veal calves at the end of the digestive tract and at the terminal ileum. ILOB report 451, 25 pp
- van Weerden EH, Huisman J, van Hellemond KK (1977) Verterings-fysiologisch onderzoek. Enkele uitkomsten ten aanzien van het maagkanaal van het mestkalf. Landbouwk, *Tijdschrift* 89, 217-224
- Walker WA, Wu M, Isselbacher KJ, Bloch KJ (1975) Intestinal uptake of macromolecules. III - Studies on the mechanism by which immunization interferes with antigen uptake. *J Immunol* 115, 854-861
- Warshaw AL, Walker WA, Isselbacher KJ (1974) Protein uptake by the intestine: evidence for absorption of intact macromolecules. *Gastroenterology* 66, 987-992
- Weaver LT, Coombs RRA (1988) Does "sugar" permeability reflect macromolecular absorption? A comparison of the gastro-intestinal uptake of lactulose and beta-lactoglobulin in the neonatal guinea pig. *Int Archs Allergy Appl Immunol* 85, 133-135
- Weaver LT, Laker MF, Nelson R, Lucas A (1987) Milk feeding and changes in intestinal permeability and morphology in the newborn. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 6, 351-358
- Webb KE, Direzio DB, Matthews JC (1993) Recent developments in gastrointestinal absorption and tissue utilization of peptides. *J Dairy Sci* 76, 351-361
- Webb KE, Matthews JC, Direzio DB (1992) Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives. *J Anim Sci* 70, 3248-3257
- Williams JB, Knodt CB (1950) The further development of milk replacement for dairy calves. *J Dairy Sci* 33, 809-814
- Williams VJ, Roy JHB, Gillies CM (1976) Milk-substitute diet composition and abomasal secretion in the calf. *Br J Nutr* 36, 317-335
- Williams AP, Smith RH (1975) Concentrations of amino acids and urea in the plasma of the preruminant calf and estimation of the amino acid requirements. *Br J Nutr* 33, 149-158
- Yvon M, Levieux D, Valluy MC, Pelissier JP, Patureau-Mirand P (1993) Colostrum protein digestion in newborn lamb. *J Nutr* 123, 586-596
- Yvon M, Pélissier JP, Guilloteau P, Toullec R (1986) Digestion des protéines du lait dans la caillette du veau préruminant. *Reprod Nutr Dev* 26, 705-715
- Yvon M, van Hille I, Pélissier JP, Guilloteau P, Toullec R (1984) *In vivo* milk digestion in the calf abomasum. II. Milk and whey proteolysis. *Reprod Nutr Dev* 24, 835-843

## ANEXO 1 (experiência 1)

Quadro 41. Idade (d) e peso vivo (kg) dos grupos de animais (média e erro padrão da média).

	Dietas			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
Idade (d)				
chegada	8	8	8	8
início do ensaio	42	42	42	42
final do ensaio	122	122	122	122
Peso vivo (kg)				
chegada	47.0 ± 2.3	47.7 ± 2.6	47.0 ± 2.8	47.6 ± 2.4
final do ensaio	165.6 ± 2.4	156.9 ± 4.0	144.4 ± 12.1	135.8 ± 12.2

Quadro 42. Valores individuais dos volumes de urina (ml) e da quantidade de marcadores (% da dose oral) excretados e de concentração plasmática de D-xilose (g/l).

Quadro 42.1. Volumes de excreção urinária (ml).

Dietas	D-manitol + Sacarose + Cr-EDTA			D-xilose		
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
Testemunha	2650	1320	1270	2084	2040	2280
Testemunha	568	690	360	606	485	270
Testemunha	3054	640	1780	3260	4490	1280
Testemunha	3350	360	3300	320	682	920
Testemunha	444	300	460	3035	760	590
Testemunha	1914	540	1740	-	975	1140
Testemunha	260	--	525	3292	890	2020
IPShe	266	460	455	3406	1660	2100
IPShe	3150	1950	2250	2540	1500	7000
IPShe	3184	320	4910	2840	3760	2930
IPShe	2210	1325	1330	-	580	595
IPShe	3020	765	-	1870	1325	960
IPShe	1510	1215	1910	3709	1220	1050
IPShe	2810	2980	110	3560	1360	1290
CSNA	3145	725	1510	2350	1090	520
CSNA	817	970	2170	903	1050	4750
CSNA	2590	900	1280	-	1480	2690
CSNA	1700	2940	1645	2040	240	3590
CSNA	1950	1700	1720	1904	2680	3180
CSNA	2715	1055	740	1907	2570	4930
CSNA	-	2950	505	369	1770	4210
FSA	942	400	-	1024	1370	3450
FSA	291	990	500	3477	5180	-
FSA	2240	1670	2450	2950	2150	3160
FSA	3190	5680	-	455	1760	1485
FSA	2810	980	1260	1012	135	-
FSA	1140	1510	1970	-	2130	1700
FSA	2100	840	-	-	660	-

Quadro 42.2. Excreção urinária de sacarose e de D-manitol (% da dose oral).

Dieta	Manitol			Sacarose		
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
Testemunha	1,814	4,190	5,269	3,373	2,685	3,920
Testemunha	3,297	6,309	0,770	2,751	2,685	0,470
Testemunha	4,316	1,625	2,325	5,272	1,610	1,586
Testemunha	2,859	—	2,873	2,908	—	2,825
Testemunha	3,260	2,158	0,300	2,648	1,361	0,227
Testemunha	3,335	5,866	2,459	5,349	3,422	2,692
Testemunha	—	—	—	—	—	—
IPSHE	0,163	0,280	3,473	0,030	0,080	1,775
IPSHE	5,124	2,030	2,600	5,945	2,085	2,426
IPSHE	2,660	5,502	1,293	2,252	2,217	2,155
IPSHE	2,239	1,910	1,764	2,059	2,169	1,474
IPSHE	3,007	2,735	0,428	3,063	2,630	0,378
IPSHE	1,315	2,808	2,072	1,753	2,442	1,471
IPSHE	2,048	2,687	1,168	2,796	3,415	0,474
CSNA	2,656	4,387	2,448	3,604	2,412	1,623
CSNA	2,222	1,675	3,994	1,944	1,439	2,313
CSNA	3,361	1,789	3,711	3,739	1,517	4,137
CSNA	1,315	2,819	1,542	1,534	2,212	1,929
CSNA	2,756	2,590	2,093	2,996	2,333	2,946
CSNA	4,030	3,992	2,138	6,223	2,624	1,730
CSNA	—	2,540	1,929	—	1,304	1,620
FSA	1,658	0,602	—	1,718	0,231	—
FSA	1,813	1,465	2,702	1,056	1,697	0,999
FSA	4,002	2,046	1,364	3,092	1,507	0,164
FSA	3,488	2,849	—	3,905	—	—
FSA	3,597	2,532	2,201	3,906	1,543	1,510
FSA	3,891	2,339	0,863	2,869	1,715	1,019
FSA	2,091	2,560	—	2,519	1,018	—



Quadro 42.3. Excreção urinária de Cr-EDTA (% da dose oral).

Dietas	Períodos					
	P <sub>0</sub>		P <sub>1</sub>		P <sub>2</sub>	
	0-6h	6-24h	0-6h	6-24h	0-6h	6-24h
Testemunha	2,124	1,553	2,185	2,554	3,961	2,138
Testemunha	2,325	2,209	3,425	1,946	0,583	2,665
Testemunha	3,517	2,054	2,132	5,766	1,476	1,486
Testemunha	2,370	2,761	1,955	7,804	3,065	2,632
Testemunha	2,441	3,257	1,097	1,942	0,271	1,430
Testemunha	3,856	1,558	3,381	1,836	2,495	2,150
Testemunha	0,684	6,303	-	-	4,577	2,276
IPSHE	0,000	4,220	0,008	4,863	2,224	2,769
IPSHE	3,844	2,606	1,554	1,882	1,567	1,560
IPSHE	1,770	1,743	4,458	4,860	1,411	1,633
IPSHE	2,362	2,083	1,100	0,456	1,134	1,989
IPSHE	2,366	3,910	2,142	1,847	0,354	-
IPSHE	0,801	1,349	1,974	1,128	0,970	1,053
IPSHE	1,694	1,338	1,191	0,874	0,960	7,627
CSNA	2,611	2,688	2,546	1,473	1,877	0,994
CSNA	2,085	3,650	1,171	2,293	1,863	1,796
CSNA	3,338	2,552	1,782	1,281	4,317	1,967
CSNA	1,154	0,594	2,631	1,094	1,881	1,126
CSNA	2,422	3,045	1,710	2,443	3,143	1,708
CSNA	2,950	3,785	3,569	1,906	1,983	1,818
CSNA	-	-	1,724	0,711	1,449	-
FSA	1,204	0,290	0,000	1,515	-	-
FSA	0,978	1,235	1,460	1,436	1,761	2,433
FSA	2,491	2,080	1,201	2,873	1,490	2,658
FSA	3,075	1,781	1,655	0,854	-	-
FSA	3,246	2,217	1,539	0,860	1,662	2,383
FSA	2,650	3,916	1,390	1,047	1,013	1,454
FSA	1,683	1,688	1,659	2,555	-	-

Quadro 42.4. Excreção urinária de D-xilose (% da dose oral).

Dieta	Períodos		
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
Testemunha	22,47	26,07	12,26
Testemunha	22,81	31,86	-
Testemunha	30,53	45,07	29,15
Testemunha	20,31	27,22	7,09
Testemunha	29,00	28,12	5,62
Testemunha	-	43,33	41,53
Testemunha	21,16	34,58	17,09
IPSHE	19,28	26,11	4,14
IPSHE	23,78	26,93	12,43
IPSHE	28,48	18,76	6,75
IPSHE	-	22,73	26,11
IPSHE	15,00	20,55	11,04
IPSHE	39,02	20,01	30,78
IPSHE	30,03	32,47	27,93
CSNA	19,70	8,62	20,91
CSNA	29,22	36,23	15,44
CSNA	-	17,89	14,65
CSNA	28,58	12,28	19,99
CSNA	15,99	15,82	7,83
CSNA	14,84	26,59	19,46
CSNA	16,36	13,68	6,09
FSA	19,93	16,11	3,71
FSA	62,75	20,45	-
FSA	20,80	22,00	12,64
FSA	13,74	12,76	12,45
FSA	10,72	1,96	-
FSA	-	23,69	23,56
FSA	62,84	15,13	-

Quadro 42.5. Concentração plasmática de D-xilose (g/l).

Diets	Periodos								
	P <sub>0</sub>			P <sub>1</sub>			P <sub>2</sub>		
	0h	2,5h	6h	0h	2,5h	6h	0h	2,5h	6h
Testemunha	0,037	0,400	0,166	0,038	0,205	0,476	0,065	0,383	0,132
Testemunha	0,060	0,457	0,257	0,049	0,550	0,250	0,053	0,375	0,234
Testemunha	0,052	0,421	0,347	0,096	0,534	0,133	0,052	0,489	0,216
Testemunha	0,079	0,288	0,277	0,091	0,439	0,324	0,081	0,319	0,210
Testemunha	-	-	-	0,063	0,312	0,123	0,054	0,380	0,102
Testemunha	0,044	0,310	0,148	0,045	0,438	0,189	0,042	0,915	-
Testemunha	0,077	0,404	0,304	0,049	0,369	0,446	0,066	0,137	0,140
IP SHE	0,054	0,402	0,117	0,089	0,532	0,259	0,036	0,365	0,120
IP SHE	0,070	0,491	0,369	0,066	0,312	0,165	0,046	0,573	0,245
IP SHE	-	-	-	0,067	0,321	0,095	0,048	0,351	0,139
IP SHE	0,056	0,405	0,244	0,051	0,406	0,192	0,076	0,277	0,159
IP SHE	0,065	0,401	0,283	0,044	0,358	0,134	0,074	0,126	0,166
IP SHE	0,064	0,405	0,192	0,047	0,401	0,169	0,074	0,323	0,134
IP SHE	0,064	0,440	0,270	0,066	0,421	0,178	0,045	0,142	0,193
CSNA	0,077	0,411	0,386	0,068	0,366	0,189	0,056	0,389	0,168
CSNA	0,080	0,470	0,325	0,038	0,485	0,181	0,065	0,393	0,194
CSNA	0,054	0,386	0,302	0,065	0,450	0,129	0,040	0,298	0,169
CSNA	0,051	0,328	0,231	0,045	0,293	0,215	0,039	0,214	0,180
CSNA	-	-	-	0,070	0,373	0,207	0,040	0,279	0,161
CSNA	0,073	0,309	0,228	0,048	0,272	0,146	0,044	0,148	0,188
CSNA	0,061	0,665	0,264	0,049	0,437	0,236	0,049	0,338	0,117
FSA	0,066	0,499	0,250	0,058	0,352	0,178	-	-	-
FSA	0,064	0,363	0,217	0,043	0,384	0,182	0,069	0,261	0,126
FSA	0,041	0,539	0,297	0,049	0,295	0,139	0,042	0,267	0,168
FSA	0,057	0,500	0,280	0,070	0,502	0,268	-	-	-
FSA	0,059	0,645	0,254	0,044	0,260	0,362	0,034	0,199	0,233
FSA	0,072	0,297	0,412	0,071	0,345	0,170	0,058	0,333	0,104
FSA	0,044	0,397	0,171	0,041	0,286	0,170	0,059	0,142	0,143

Quadro 43. Análise do efeito das dietas e da idade na excreção urinária dos marcadores.

Quadro 43.1. Efeito das dietas.

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	2,198	0,733	0,571
Dentro de grupos	22	28,229	1,283	$p = 0,64$
Total	25	30,427		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	26
H	1,912

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	96	16
IPSHE	7	73,5	10,5
CSNA	6	78,5	13,083
FSA	7	103	14,714

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	5,621	1,874	0,863
Dentro de grupos	22	47,749	2,17	$p = 0,4749$
Total	25	53,37		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	26
H	2,34

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	100	16,667
IPSHE	7	74	10,751
CSNA	6	89	14,833
FSA	7	88	12,571

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,422	0,141	1,252
Dentro de grupos	22	2,474	0,112	$p = 0,3152$
Total	25	2,896		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	26
H	3,146

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	92	15,333
IPSHE	7	89	12,714
CSNA	6	101	16,833
FSA	7	69	9,857

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1,757	0,586	0,581
Dentro de grupos	23	23,188	1,008	$p = 0,6334$
Total	26	24,946		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	1,91

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	109	15,571
IPSHE	7	74	10,571
CSNA	6	95	15,833
FSA	7	100	14,286

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,578	1,193	0,707
Dentro de grupos	23	38,797	1,687	$p = 0,5576$
Total	26			

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	2,182

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	105	15
IPSHE	7	98	14
CSNA	6	101	16,833
FSA	7	74	10,571

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	7,452	2,484	1,012
Dentro de grupos	23	56,465	2,455	$p = 0,4055$
Total	26	63,917		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	3,276

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	115	16,429
IPSHE	7	81	11,571
CSNA	6	104	17,333
FSA	7	78	11,143

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	378,92	126,307	0,698
Dentro de grupos	20	3619,999	181	$p = 0,5643$
Total	23	3998,919		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_0$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	24
H	1,88

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	88	11,667
IPSHE	6	84	14
CSNA	6	58	9,667
FSA	6	70	11,667

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	11,816	3,939	2,037
Dentro de grupos	22	42,531	1,933	$p = 0,138$
Total	25	54,347		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	26
H	2,816

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	5	87	17,4
IPSHE	7	91	13
CSNA	7	102	14,571
FSA	7	71	10,143

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,737	1,246	2,092
Dentro de grupos	21	12,506	0,596	$p = 0,1319$
Total	24	16,242		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	25
H	5,82

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	5	85	17
IPSHE	7	108	15,429
CSNA	7	88	12,571
FSA	6	44	7,333

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,171	0,057	0,807
Dentro de grupos	22	1,551	0,071	$p = 0,5036$
Total	25	1,722		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	26
H	2,333

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	67	11,167
IPSHE	7	118	16,857
CSNA	7	97	13,857
FSA	6	69	11,5

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	4,617	1,539	1,664
Dentro de grupos	23	21,269	0,925	$p = 0,2024$
Total	26	25,886		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	6,354

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	109	18,167
IPSHE	7	88	12,571
CSNA	7	121	17,286
FSA	7	60	8,571

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	17,595	5,865	2,295
Dentro de grupos	23	58,775	2,555	$p = 0,1046$
Total	26	76,37		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	5,081

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	122	20,333
IPSHE	7	92	13,143
CSNA	7	84	12
FSA	7	80	11,429

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	33,274	11,091	3,185
Dentro de grupos	23	80,087	3,482	$p = 0,0429$
Total	26	113,361		



Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	27
H	7,76

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	126	21
IPSHE	7	90	12,857
CSNA	7	100	14,286
FSA	7	62	8,857

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1283,991	427,997	7,503
Dentro de grupos	24	1368,989	57,041	$p = 0,001$
Total	27	2652,98		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_1$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	28
H	13,602

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	163	23,286
IPSHE	7	111	15,857
CSNA	7	71	10,143
FSA	7	61	8,714

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	2,588	0,863	0,599
Dentro de grupos	20	28,816	1,441	$p = 0,6233$
Total	23	31,404		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	24
H	1,728

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	80	13,333
IPSHE	7	72	10,286
CSNA	7	104	14,857
FSA	4	44	11

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	5,952	1,984	1,959
Dentro de grupos	20	20,252	1,013	$p = 0,1526$
Total	23	26,204		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	24
H	6,713

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	81	13,5
IPSHE	7	76	10,857
CSNA	7	119	17
FSA	4	24	6

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,35	0,117	1,012
Dentro de grupos	21	2,421	0,115	$p = 0,407$
Total	24	2,771		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	25
H	2,465

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	86	12,286
IPSHE	7	93	13,286
CSNA	7	111	15,857
FSA	4	35	8,75

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	6,702	2,234	1,892
Dentro de grupos	21	24,802	1,181	$p = 0,162$
Total	24	31,504		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	25
H	6,098

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	103	14,714
IPSHE	7	57	8,143
CSNA	7	121	17,286
FSA	4	44	11

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	4,385	1,462	0,841
Dentro de grupos	19	33,036	1,739	$p = 0,4884$
Total	22	37,421		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 6-24h  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	23
H	3,64

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	95	13,571
IPSHE	6	75	12,5
CSNA	6	46	7,667
FSA	4	60	15

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1,454	0,485	0,154
Dentro de grupos	19	59,95	3,155	$p = 0,9261$
Total	22	61,405		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	23
H	0,395

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	93	13,286
IPSHE	6	67	11,167
CSNA	6	71	11,833
FSA	4	45	11,25

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	95,357	31,786	0,302
Dentro de grupos	20	2108,49	105,424	$p = 0,8239$
Total	23	2203,847		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	24
H	0,311

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	79	13,167
IPSHE	7	89	12,714
CSNA	7	89	12,714
FSA	4	43	10,75

Quadro 43.2. Efeito da idade.

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	1,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
$P_0$ Manitol	11	2,2
$P_1$ Manitol	11	2,2
$P_2$ Manitol	8	1,6

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	4

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
$P_0$ Manitol	14	2,333
$P_1$ Manitol	14	2,333
$P_2$ Manitol	8	1,333

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	0.333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol	13	2,167
P <sub>1</sub> Manitol	12	2
P <sub>2</sub> Manitol	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sub>r</sub> -quadrado	3,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol	11	2,75
P <sub>1</sub> Manitol	7	1,75
P <sub>2</sub> Manitol	6	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sub>r</sub> -quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose	14	2,8
P <sub>1</sub> Sacarose	9	1,8
P <sub>2</sub> Sacarose	7	1,4

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	6,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose	15	2,5
P <sub>1</sub> Sacarose	14	2,333
P <sub>2</sub> Sacarose	7	1,167

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	1,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose	14	2,333
P <sub>1</sub> Sacarose	10	1,667
P <sub>2</sub> Sacarose	12	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sup>2</sup> -quadrado	6,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose	11	2,75
P <sub>1</sub> Sacarose	9	2,25
P <sub>2</sub> Sacarose	4	1

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sup>2</sup> -quadrado	8,4

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol	15	3
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol	6	1,2
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol	9	1,8

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	5,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol	16	2,667
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol	12	2
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol	8	1,333

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	6,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol	15	2,5
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol	7	1,167
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol	14	2,333

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi-quadrado	1,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol	10	2,5
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol	7	1,75
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol	7	1,75

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	1,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h	14	2,333
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h	10	1,667

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	0,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h	13	2,167
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	0,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h	13	2,167
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h	11	1,833
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h	12	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sup>2</sup> -quadrado	2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h	10	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h	6	1,5
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h	8	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	3

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 6-24h	15	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 6-24h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 6-24h	9	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	3

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 6-24h	15	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 6-24h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 6-24h	9	1,5



Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	4,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 6-24h	16	2,667
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 6-24h	11	1,833
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 6-24h	9	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sup>2</sup> -quadrado	1,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 6-24h	7	1,75
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 6-24h	7	1,75
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 6-24h	10	2,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	3

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	12	2
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	15	2,5
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	9	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	0,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	13	2,167
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	2,333

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	15	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	10	1,667
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sub>r</sub> -quadrado	3,5

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	10	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	5	1,25
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	9	2,25

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sub>r</sub> -quadrado	8,4

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose	11	2,2
P <sub>1</sub> Xilose	14	2,8
P <sub>2</sub> Xilose	5	1

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	6,333

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose	14	2,333
P <sub>1</sub> Xilose	15	2,5
P <sub>2</sub> Xilose	7	1,167

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi.-quadrado	1,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose	14	2,333
P <sub>1</sub> Xilose	12	2
P <sub>2</sub> Xilose	10	1,667

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	3
Chi.-quadrado	4,667

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose	8	2,667
P <sub>1</sub> Xilose	7	2,333
P <sub>2</sub> Xilose	3	1

Quadro 44. Análise do efeito das dietas na concentração plasmática de xilose.

Análise de variância a um factor X<sub>1</sub>: Dietas Y<sub>1</sub>: P<sub>0</sub> 0h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	2,880E-4	9,599E-5	0,63
Dentro de grupos	21	0,003	1,524E-4	p = 0,6039
Total	24	0,003		

Análise de variância a um factor X<sub>1</sub>: Dietas Y<sub>1</sub>: P<sub>0</sub> 2,5h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,022	0,007	0,794
Dentro de grupos	21	0,196	0,009	p = 0,5107
Total	24	0,218		

Análise de variância a um factor X<sub>1</sub>: Dietas Y<sub>1</sub>: P<sub>0</sub> 6h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,007	0,002	0,419
Dentro de grupos	21	0,12	0,006	p = 0,7411
Total	24	0,127		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_1$  0h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,751E-4	1,250E-4	0,455
Dentro de grupos	24	0,007	2,748E-4	$p = 0,7162$
Total	27	0,007		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_1$  2,5h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,014	0,005	0,559
Dentro de grupos	24	0,201	0,008	$p = 0,6473$
Total	27	0,215		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_1$  6h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,047	0,016	2,031
Dentro de grupos	24	0,184	0,008	$p = 0,1363$
Total	27	0,231		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_1$  6h

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	28
H	2,457

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	124,5	17,786
IPSHE	7	76,5	10,929
CSNA	7	100,5	14,357
FSA	7	104,5	14,929

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_2$  0h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,001	1,799E-4	0,973
Dentro de grupos	22	0,004	1,850E-4	$p = 0,4234$
Total	25	0,005		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_2$  2,5h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,119	0,04	1,583
Dentro de grupos	22	0,552	0,025	$p = 0,2219$
Total	25	0,671		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ :  $P_2$  6h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,001	3,006E-4	0,16
Dentro de grupos	21	0,039	0,002	$p = 0,9217$
Total	24	0,04		

Quadro 45. Excreção urinária (% da dose oral) e/ou concentração plasmática (g/l) dos marcadores (média e erro padrão da média).

Quadro 45.1 Excreção urinária de Cr-EDTA.

Intervalo de colheita	Períodos <sup>2</sup>	Dietas <sup>1</sup>			
		Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
0-6 h	$P_0$	2,47 ± 0,39	1,83 ± 0,46	2,43 ± 0,31	2,19 ± 0,34
	$P_1$	2,36 ± 0,37	1,78 ± 0,52	2,16 ± 0,30	1,27 ± 0,22
	$P_2$	2,35 ± 0,62	1,23 ± 0,22	2,36 ± 0,38	1,48 ± 0,17
6-24 h	$P_0$	2,81 ± 0,63	2,46 ± 0,45	2,72 ± 0,47	1,89 ± 0,42
	$P_1$	3,64 ± 1,03	2,27 ± 0,70	1,60 ± 0,24	1,59 ± 0,31
	$P_2$	2,11 ± 0,19	2,77 ± 0,10	1,57 ± 0,17	2,23 ± 0,27
0-24 h	$P_0$	5,29 ± 0,39	4,30 ± 0,61	5,15 ± 0,71	4,08 ± 0,68
	$P_1$	6,00 ± 0,99 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,97	3,76 ± 0,36	2,86 ± 0,37 <sup>b</sup>
	$P_2$	4,46 ± 0,71	4,15 ± 0,97	4,08 ± 0,53	3,71 ± 0,42

<sup>1</sup> isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).

<sup>2</sup>  $P_0$ ,  $P_1$  e  $P_2$  uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77, respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

<sup>a,b</sup> médias na mesma linha são diferentes quando seguidas de letras diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Quadro 45.2. Excreção urinária de D-xilose.

Períodos <sup>2</sup>	Dietas <sup>1</sup>			
	Testemunha	IPSHE	CSNA	FSA
$P_0$	24,4 ± 1,8	25,9 ± 3,5	20,8 ± 2,7	31,8 ± 9,9
$P_1$	33,8 ± 2,9 <sup>a</sup>	23,9 ± 1,8 <sup>ab</sup>	18,7 ± 3,6 <sup>b</sup>	16,0 ± 2,8 <sup>b</sup>
$P_2$	18,8 ± 5,7 *	17,0 ± 4,1	14,9 ± 2,2	13,1 ± 4,1

<sup>1</sup> isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).

<sup>2</sup>  $P_0$ ,  $P_1$  e  $P_2$  uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77 respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

<sup>a,b</sup> médias na mesma linha são diferentes quando seguidas de letras diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

\*  $P_2$  diferente de  $P_0$  e de  $P_1$  com a dieta testemunha ( $p \leq 0,05$ ).

Quadro 45.3. Concentração plasmática de D-xilose.

Períodos	Diets											
	Testemunha			IPSHE			CSNA			FSA		
	0 h	2,5 h	6 h	0 h	2,5 h	6 h	0 h	2,5 h	6 h	0 h	2,5 h	6 h
P <sub>0</sub>	0,058	0,380	0,250	0,062	0,424	0,246	0,066	0,428	0,289	0,058	0,463	0,269
	0,007	0,027	0,032	0,002	0,015	0,035	0,005	0,053	0,025	0,004	0,045	0,029
P <sub>1</sub>	0,062	0,407	0,277	0,061	0,393	0,170	0,055	0,382	0,186	0,054	0,346	0,210
	0,009	0,046	0,054	0,006	0,028	0,019	0,005	0,030	0,014	0,005	0,031	0,029
P <sub>2</sub>	0,059	0,428	0,172	0,057	0,308	0,165	0,048	0,294	0,168	0,052	0,240	0,155
	0,005	0,091	0,017	0,006	0,057	0,016	0,004	0,034	0,010	0,006	0,032	0,022

<sup>1</sup> isolado de proteína de soja hidrolisado experimental (IPSHE), concentrado de proteína de soja não antigénico (CSNA) e farinha de soja antigénica (FSA).

<sup>2</sup> P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> uma semana antes e durante os dias 16 a 21 e 72 a 77, respectivamente, relativamente ao início do consumo das dietas experimentais.

Quadro 46. Relações entre o volume de urina e a taxa de excreção de marcadores.

Quadro 46.1. Regressões lineares.

Regressão simples X<sub>1</sub>: Urina P<sub>0</sub> Y<sub>1</sub>: Manitol P<sub>0</sub>

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,452	0,204	0,171	1,005

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	6,204	6,204	6,147
RESIDUAL	24	24,223	1,009	p = 0,0206
TOTAL	25	30,427		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,772				
DECLIVE	4,884E-4	1,970E-4	0,452	2,479	0,0206

Regressão simples X<sub>1</sub>: Urina P<sub>0</sub> Y<sub>1</sub>: Sacarose P<sub>0</sub>

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,612	0,374	0,348	1,18

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	19,965	19,965	14,344
RESIDUAL	24	33,405	1,392	p = 0,0009
TOTAL	25	53,37		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,239				
DECLIVE	0,001	2,313E-4	0,612	3,787	0,0009

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,592	0,35	0,324	0,805

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	8,74	8,74	13,483
RESIDUAL	25	16,206	0,648	p = 0,0011
TOTAL	26	24,946		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,128				
DECLIVE	0,001	1,491E-4	0,592	3,672	0,0011

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,548	0,301	0,272	0,29

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,871	0,871	10,319
RESIDUAL	24	2,025	0,084	p = 0,0037
TOTAL	25	2,896		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,693				
DECLIVE	1,830E-4	5,696E-5	0,548	3,212	0,0037

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA/Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,461	0,213	0,18	0,205

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,273	0,273	6,478
RESIDUAL	24	1,01	0,042	p = 0,0178
TOTAL	25	1,282		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,584				
DECLIVE	1,024E-4	4,022E-5	0,461	2,545	0,0178

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : log Xilose  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,577	0,333	0,301	0,139

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,201	0,201	10,487
RESIDUAL	21	0,403	0,019	p = 0,0039
TOTAL	22	0,604		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,171				
DECLIVE	8,407E-5	2,596E-5	0,577	3,238	0,0039

Quadro 46.2. Correlações de Spearman.

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Manitol  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1626
Rho	0,444
Z	2,22

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1063,5
Rho	0,636
Z	3,182

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

N	27
$\Sigma D^2$	1508,5
Rho	0,54
Z	2,751



Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1661,5
Rho	0,432
Z	2,16

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA/Manitol  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1900,5
Rho	0,35
Z	1,751

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : log Xilose  $P_0$

N	23
$\Sigma D^2$	830
Rho	0,59
Z	2,767

Quadro 47. Relações entre taxas de excreção de marcadores entre si.

Quadro 47.1. Regressões lineares.

Regressão simples  $X_1$ : Manitol  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,893	0,798	0,798	0,435

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	17,938	17,938	94,724
RESIDUAL	24	4,545	0,189	p = 0,0001
TOTAL	25	22,484		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,147				
DECLIVE	0,768	0,079	0,893	9,733	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : Sacarose  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,889	0,79	0,781	0,444

Análise de variância

Fonte	GL:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	17,759	17,759	90,206
RESIDUAL	24	4,725	0,197	p = 0,0001
TOTAL	25	22,484		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,524				
DECLIVE	0,577	0,061	0,889	9,498	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,288	0,083	0,04	0,946

Análise de variância

Fonte	GL:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,705	1,705	1,906
RESIDUAL	21	18,784	0,894	p = 0,1819
TOTAL	22	20,489		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	4,164				
DECLIVE	-1,486	1,076	-0,288	1,381	0,1819

Regressão simples  $X_1$ : Manito  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,832	0,691	0,679	0,828

Análise de variância

Fonte	GL:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	36,906	36,904	53,788
RESIDUAL	24	16,466	0,686	p = 0,0001
TOTAL	25	53,37		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-0,013				
DECLIVE	1,101	0,15	0,832	7,334	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
22	0,352	0,124	0,08	1,423

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	5,739	5,739	2,833
RESIDUAL	20	40,509	2,025	p = 0,1079
TOTAL	21	46,249		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	6,744				
DECLIVE	-2,73	1,622	-0,352	1,683	0,1079

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
22	0,163	0,027	-0,022	1,188

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,775	0,775	0,549
RESIDUAL	20	28,238	1,412	p = 0,4675
TOTAL	21	29,013		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	4,167				
DECLIVE	-1,003	1,354	-0,163	0,741	0,4675

Regressão simples  $X_1$ : Cr-EDTA/Manitol  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,733	0,537	0,518	0,236

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,556	1,556	27,869
RESIDUAL	24	1,34	0,056	p = 0,0001
TOTAL	25	2,896		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,195				
DECLIVE	1,101	0,209	0,733	5,279	0,0001

Quadro 47.2. Correlações de Spearman.

Correlação de Spearman  $X_1$ : Manitol  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	285,5
Rho	0,902
Z	4,512

Correlação de Spearman  $X_1$ : Sacarose  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	276
Rho	0,906
Z	4,528

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

N	23
$\Sigma D^2$	2552
Rho	-0,261
Z	-1,224

Correlação de Spearman  $X_1$ : Manitol  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose 0-6h  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	525,5
Rho	0,82
Z	4,102

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

N	22
$\Sigma D^2$	2528
Rho	-0,427
Z	-1,959

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose  $P_0$   $Y_1$ : Manitol  $P_0$

N	22
$\Sigma D^2$	2068,5
Rho	-0,168
Z	-0,77

Correlação de Spearman  $X_1$ : Cr/Ma  $P_0$   $Y_1$ : Sa/Ma  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1346
Rho	0,54
Z	2,699

Quadro 48. Regressões entre o volume de urina (log) e a taxa de marcadores excretados.

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,452	0,204	0,171	1,004

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	6,212	6,212	6,157
RESIDUAL	24	24,214	1,009	$p = 0,0205$
TOTAL	25	30,427		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-2,061				
DECLIVE	1,501	0,605	0,452	2,481	0,0205

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,62	0,384	0,359	1,17

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	20,504	20,504	14,973
RESIDUAL	24	32,866	1,369	$p = 0,0007$
TOTAL	25	53,37		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-5,748				
DECLIVE	2,727	0,705	0,62	3,869	0,0007

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,622	0,387	0,362	0,782

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	9,645	9,645	15,758
RESIDUAL	25	15,301	0,612	$p = 0,0005$
TOTAL	26	24,946		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-3,166				
DECLIVE	1,686	0,425	0,622	3,97	0,0005

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,29	0,084	0,048	1,53

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	5,387	5,387	2,301
RESIDUAL	25	58,53	2,341	p = 0,1418
TOTAL	26	63,917		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-5,862				
DECLIVE	2,874	1,895	0,29	1,517	0,1418

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Xilose  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,441	0,194	0,156	9,913

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	497,812	497,812	5,066
RESIDUAL	21	2063,498	98,262	p = 0,0352
TOTAL	22	2561,31		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-21,708				
DECLIVE	14,173	6,297	0,441	2,251	0,0352

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,652	0,425	0,401	0,263

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,23	1,23	17,732
RESIDUAL	24	1,665	0,069	p = 0,0003
TOTAL	25	2,896		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-1,084				
DECLIVE	0,668	0,159	0,652	4,211	0,0003

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA/Manitol  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,589	0,346	0,319	0,187

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,444	0,444	12,721
RESIDUAL	24	0,838	0,035	p = 0,0016
TOTAL	25	1,282		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-0,5				
DECLIVE	0,401	0,113	0,589	3,567	0,0016

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Manitol  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,097	0,009	-0,032	1,498

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,508	0,508	0,226
RESIDUAL	24	53,839	2,243	p = 0,6384
TOTAL	25	54,347		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	4,161				
DECLIVE	-0,456	0,959	-0,097	0,476	0,6384

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Sacarose  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
25	0,302	0,091	0,052	0,801

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,485	1,485	2,314
RESIDUAL	23	14,757	0,642	p = 0,1418
TOTAL	24	16,242		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-0,724				
DECLIVE	0,887	0,583	0,302	1,521	0,1418

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,11	0,012	-0,027	1,011

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,311	0,311	0,304
RESIDUAL	25	25,574	1,023	p = 0,586
TOTAL	26	25,886		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	2,906				
DECLIVE	-0,343	0,621	-0,11	0,552	0,586

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,053	0,003	-0,037	2,126

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,317	0,317	0,07
RESIDUAL	25	113,044	4,522	p = 0,7933
TOTAL	26	113,361		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,459				
DECLIVE	0,721	2,724	0,053	0,265	0,7933

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Xilose  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
28	0,228	0,052	0,016	9,834

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	138,361	138,361	1,431
RESIDUAL	26	2514,62	96,716	p = 0,2425
TOTAL	27	2652,98		



Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	3,098				
DECLIVE	6,456	5,398	0,228	1,196	0,2425

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_1$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_1$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
25	0,509	0,259	0,227	0,234

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,44	0,44	8,051
RESIDUAL	23	1,258	0,055	p = 0,0093
TOTAL	24	1,698		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-0,713				
DECLIVE	0,483	0,17	0,509	2,837	0,0093

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Manitol  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,197	0,039	-0,007	1,138

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,096	1,096	0,846
RESIDUAL	21	27,187	1,295	p = 0,3681
TOTAL	22	28,283		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,388				
DECLIVE	0,601	0,653	0,197	0,92	0,3681

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Sacarose  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,436	0,19	0,151	0,967

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	4,605	4,605	4,921
RESIDUAL	21	19,652	0,936	p = 0,0377
TOTAL	22	24,256		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-1,979				
DECLIVE	1,232	0,555	0,436	2,218	0,0377

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
24	0,145	0,021	-0,024	1,136

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,609	0,609	0,471
RESIDUAL	22	28,407	1,291	p = 0,4995
TOTAL	23	29,016		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,621				
DECLIVE	0,44	0,64	0,145	0,687	0,4995

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,325	0,105	0,063	1,617

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	6,476	6,476	2,476
RESIDUAL	21	54,929	2,616	p = 0,1306
TOTAL	22	61,405		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	18,599				
DECLIVE	-3,869	2,459	-0,325	1,573	0,1306

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Xilose  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,333	0,111	0,068	9,536

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	237,484	237,484	2,611
RESIDUAL	21	1909,743	90,94	p = 0,121
TOTAL	22	2147,227		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	49,373				
DECLIVE	-10,206	6,316	-0,333	1,616	0,121

Regressão simples  $X_1$ : log Urina  $P_2$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol  $P_2$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
24	0,504	0,254	0,22	0,306

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,703	0,703	7,501
RESIDUAL	22	2,063	0,094	$p = 0,012$
TOTAL	23	2,767		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	-0,628				
DECLIVE	0,473	0,173	0,504	2,739	0,012

Quadro 49. Análise do efeito das dietas e da idade na excreção urinária dos marcadores após corecção (c) para um volume de urina "standard".

Quadro 49.1. Efeito das dietas.

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,302	1,101	1,158
Dentro de grupos	22	20,914	0,951	$p = 0,3482$
Total	25	24,215		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	6,412	2,137	1,778
Dentro de grupos	22	26,449	1,202	$p = 0,1808$
Total	25	32,861		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,395	0,132	2,274
Dentro de grupos	22	1,272	0,058	$p = 0,1082$
Total	25	1,667		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,277	1,092	2,09
Dentro de grupos	23	12,02	0,523	$p = 0,1294$
Total	26	15,297		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	8,88	2,96	1,371
Dentro de grupos	23	49,65	2,159	$p = 0,2765$
Total	26	58,53		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose c  $P_0$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	78,145	26,048	0,249
Dentro de grupos	19	1986,354	104,545	$p = 0,8609$
Total	22	2064,499		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	10,328	3,443	1,741
Dentro de grupos	22	43,509	1,978	$p = 0,188$
Total	25	53,837		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	7,618	2,539	3,985
Dentro de grupos	21	13,382	0,637	$p = 0,0215$
Total	24	21,001		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,15	0,05	0,908
Dentro de grupos	20	1,104	0,055	$p = 0,4548$
Total	23	1,254		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	3,797	1,266	0,638
Dentro de grupos	22	43,621	1,983	$p = 0,5983$
Total	25	47,418		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	33,94	11,313	3,29
Dentro de grupos	23	79,1	3,439	$p = 0,0387$
Total	26	113,04		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose c  $P_1$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1337,736	445,912	9,084
Dentro de grupos	24	1178,045	49,085	$p = 0,0003$
Total	27	2515,78		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Manitol c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1,768	0,589	0,441
Dentro de grupos	19	25,418	1,338	$p = 0,7267$
Total	22	27,186		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	1,296	0,432	0,471
Dentro de grupos	19	17,433	0,918	$p = 0,706$
Total	22	18,73		

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	13,255	4,418	0,841
Dentro de grupos	18	94,591	5,255	$p = 0,4892$
Total	21	107,846		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	22
H	5,17

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	6	62	10,333
IPSHE	6	76	12,667
CSNA	6	91	15,167
FSA	4	24	6

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	5,159	1,72	1,48
Dentro de grupos	20	23,246	1,162	0,2503
Total	23	28,405		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h c  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	24
H	4,738

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	96	13,714
IPSHE	6	51	8,5
CSNA	7	114	16,286
FSA	4	39	9,75

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	0,654	0,218	0,076
Dentro de grupos	19	54,291	2,857	$p = 0,9721$
Total	22	54,945		

Teste de Kruskal-Wallis  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Cr-EDTA 0-24h c  $P_2$

G.L.	3
# Grupos	4
# Casos	23
H	0,085

Grupo:	# Casos:	$\Sigma$ Rank	Mean Rank:
Testemunha	7	86	12,286
IPSHE	6	68	11,333
CSNA	6	74	12,333
FSA	4	48	12

Análise de variância a um factor  $X_1$ : Dietas  $Y_1$ : Xilose c  $P_2$

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F
Entre grupos	3	237,135	79,045	0,67
Dentro de grupos	21	2478,571	118,027	$p = 0,5801$
Total	24	2715,707		

Quadro 49.2. Efeito da idade.

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	1,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol c	11	2,2
P <sub>1</sub> Manitol c	11	2,2
P <sub>2</sub> Manitol c	8	1,6

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	1

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol c	11	1,833
P <sub>1</sub> Manitol c	14	2,333
P <sub>2</sub> Manitol c	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	1,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol c	10	1,667
P <sub>1</sub> Manitol c	14	2,333
P <sub>2</sub> Manitol c	12	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi-quadrado	3,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Manitol c	11	2,75
P <sub>1</sub> Manitol c	7	1,75
P <sub>2</sub> Manitol c	6	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sub>2</sub> -quadrado	3,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose c	13	2,6
P <sub>1</sub> Sacarose c	10	2
P <sub>2</sub> Sacarose c	7	1,4

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>2</sub> -quadrado	1,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose c	10	1,667
P <sub>1</sub> Sacarose c	14	2,333
P <sub>2</sub> Sacarose c	12	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>2</sub> -quadrado	0,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose c	13	2,167
P <sub>1</sub> Sacarose c	11	1,833
P <sub>2</sub> Sacarose c	12	2

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sub>2</sub> -quadrado	3,5

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose c	11	2,75
P <sub>1</sub> Sacarose c	7	1,25
P <sub>2</sub> Sacarose c	6	1,5



Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sup>2</sup> -quadrado	12

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol c	10	2,5
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol c	8	2
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol c	6	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	2,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol c	14	2,333
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol c	13	2,167
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol c	9	1,5

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	2,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol c	14	2,333
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol c	9	1,5
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol c	13	2,167

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sup>2</sup> -quadrado	6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Sacarose/Manitol c	10	2,5
P <sub>1</sub> Sacarose/Manitol c	10	2,5
P <sub>2</sub> Sacarose/Manitol c	4	1

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	1

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h c	14	2,333
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h c	11	1,833
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h c	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	1

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h c	11	1,833
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h c	14	2,333
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h c	11	1,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sub>r</sub> -quadrado	1

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h c	10	1,667
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h c	13	2,167
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h c	13	2,167

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi <sub>r</sub> -quadrado	1,5

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-6h c	10	2,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-6h c	7	1,75
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-6h c	7	1,75

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	5,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	8	1,333
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	12	2
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	16	2,667

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	7

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h c	8	1,333
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h c	11	1,833
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h c	17	2,833

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	9,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h	8	1,333
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h	10	1,667
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h	18	3

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	4
Chi-quadrado	6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Cr-EDTA 0-24h c	6	1,5
P <sub>1</sub> Cr-EDTA 0-24h c	6	1,5
P <sub>2</sub> Cr-EDTA 0-24h c	12	3

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	9,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose c	10	1,667
P <sub>1</sub> Xilose c	18	3
P <sub>2</sub> Xilose c	8	1,333

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta IPSHE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	2,333

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose c	11	1,833
P <sub>1</sub> Xilose c	15	2,5
P <sub>2</sub> Xilose c	10	1,667

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta CSNA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi <sup>2</sup> -quadrado	1

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose c	11	1,833
P <sub>1</sub> Xilose c	11	1,833
P <sub>2</sub> Xilose c	14	2,333

Teste de Friedman 3 Variáveis X Dieta FSA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	3
Chi <sup>2</sup> -quadrado	0,667

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
P <sub>0</sub> Xilose c	7	2,333
P <sub>1</sub> Xilose c	6	2
P <sub>2</sub> Xilose c	5	1,667

Quadro 50. Relações entre o volume de urina e a taxa de marcadores excretados, após correção (c) para um volume urina "standard".

Quadro 50.1 Regressões lineares.

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Manitol c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,022	4,827E-4	-0,041	1,004

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,012	0,012	0,012
RESIDUAL	24	24,204	1,008	p = 0,9152
TOTAL	25	24,215		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	2,397				
DECLIVE	2,120E-5	1,969E-4	0,022	0,108	0,9152

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,024	0,001	-0,041	1,17

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,019	0,019	0,014
RESIDUAL	24	32,841	1,368	p = 0,9062
TOTAL	25	32,861		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	2,376				
DECLIVE	2,731E-5	2,294E-4	0,024	0,119	0,9062

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA 0-6h c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
27	0,003	9,551E-6	-0,04	0,782

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	1,461E-4	1,461E-4	2,388E-4
RESIDUAL	25	15,297	0,612	p = 0,9878
TOTAL	26	15,297		

Coeficiente de regressão

Variável	Coeficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,897				
DECLIVE	-2,239E-6	1,449E-4	-0,003	0,015	0,9878

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,099	0,01	-0,031	0,262

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,016	0,016	0,238
RESIDUAL	24	1,651	0,069	p = 0,6299
TOTAL	25	1,667		

Coeficiente de regressão

Variável	Coeficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,972				
DECLIVE	-2,510E-5	5,14E-5	-0,099	0,488	0,6299

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA/Manitol c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,125	0,016	-0,025	0,185

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,013	0,013	0,38
RESIDUAL	24	0,825	0,034	p = 0,5435
TOTAL	25	0,838		

Coeficiente de regressão

Variável	Coeficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,751				
DECLIVE	-2,241E-5	3,636E-5	-0,125	0,616	0,5435

Regressão simples  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : log Xilose c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
23	0,058	0,003	-0,044	0,181

Análise de variância

Fonte	GL.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,002	0,002	0,072
RESIDUAL	21	0,686	0,033	p = 0,7909
TOTAL	22	0,688		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	1,262				
DECLIVE	9,091E-6	3,386E-5	0,058	0,269	0,7909

Quadro 50.2. Correlações de Spearman.

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Manitol c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	2733,5
Rho	0,065
Z	0,327

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	2968,5
Rho	-0,015
Z	-0,074

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

N	27
$\Sigma D^2$	3337,5
Rho	-0,019
Z	-0,096

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	3700,5
Rho	-0,265
Z	-1,326

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA/Manitol c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	3835,5
Rho	-0,311
Z	-1,556

Correlação de Spearman  $X_1$ : Urina  $P_0$   $Y_1$ : log Xilose c  $P_0$

N	23
$\Sigma D^2$	1930
Rho	0,046
Z	0,218

Quadro 51. Relações entre as taxas de excreção de marcadores entre si, após correção (c) para um volume urina "standard".

Quadro 51.1. Regressões lineares.

Regressão simples  $X_1$ : Manitol c  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA c 0-6h  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,867	0,751	0,741	0,398

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	11,45	11,45	72,41
RESIDUAL	24	3,795	0,158	p = 0,0001
TOTAL	25	15,246		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,222				
DECLIVE	0,688	0,081	0,867	8,509	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : Sacarose c  $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,831	0,69	0,677	0,444

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	10,522	10,522	0,53454
RESIDUAL	24	4,724	0,197	p = 0,0001
TOTAL	25	15,246		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,525				
DECLIVE	0,566	0,077	0,831	7,311	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose c  $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
22	0,083	0,007	-0,043	0,75

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,079	0,079	0,14
RESIDUAL	20	11,238	0,562	p = 0,7118
TOTAL	21	11,317		



Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	2,235				
DECLIVE	-0,34	0,907	-0,083	0,375	0,7118

Regressão simples  $X_1$ : Manitol c  $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,788	0,621	0,605	0,721

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	20,393	20,393	39,254
RESIDUAL	24	12,468	0,52	p = 0,0001
TOTAL	25	32,861		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,192				
DECLIVE	0,918	0,146	0,788	6,265	0,0001

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose c  $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
21	0,167	0,028	-0,023	1,148

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,722	0,722	0,548
RESIDUAL	19	25,056	1,319	p = 0,4683
TOTAL	20	25,778		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	3,75				
DECLIVE	-1,044	1,411	-0,167	0,74	0,4683

Regressão simples  $X_1$ : log Xilose c  $Y_1$ : Manitol c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
21	0,076	0,006	-0,047	1,044

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,12	0,12	0,11
RESIDUAL	19	20,696	1,089	p = 0,7434
TOTAL	20	20,816		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	2,961				
DECLIVE	-0,426	1,282	-0,076	0,332	0,7434

Regressão simples  $X_1$ : Cr-EDTA/Manitol c  $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_0$

Frequência	R:	R-quadrado:	R-quadrado ajust.:	Ec.-tipo Residual:
26	0,57	0,325	0,297	0,217

Análise de variância

Fonte	G.L.:	S.Q.:	Q.M.:	Teste-F:
REGRESSÃO	1	0,542	0,542	11,549
RESIDUAL	24	1,125	0,047	p = 0,0024
TOTAL	25	1,667		

Coefficiente de regressão

Variável	Coefficiente:	Err. Std.:	Coef. Std.:	(Valor)-t:	Probabilidade:
CONSTANTE	0,354				
DECLIVE	0,804	0,237	0,57	3,398	0,0024

Quadro 51.2. Correlações de Spearman.

Correlação de Spearman  $X_1$ : Manitol c  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	292
Rho	0,9
Z	4,501

Correlação de Spearman  $X_1$ : Sacarose c  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	370
Rho	0,874
Z	4,368

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose c  $P_0$   $Y_1$ : Cr-EDTA c  $P_0$

N	22
$\Sigma D^2$	1976
Rho	-0,116
Z	-0,53

Correlação de Spearman  $X_1$ : Manitol c  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	514
Rho	0,824
Z	4,121

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose c  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose c  $P_0$

N	21
$\Sigma D^2$	1912
Rho	-0,242
Z	-1,08

Correlação de Spearman  $X_1$ : log Xilose c  $P_0$   $Y_1$ : Manitol c  $P_0$

N	21
$\Sigma D^2$	1680
Rho	-0,091
Z	-0,407

Correlação de Spearman  $X_1$ : Cr-EDTA/Manitol c  $P_0$   $Y_1$ : Sacarose/Manitol c  $P_0$

N	26
$\Sigma D^2$	1578
Rho	0,461
Z	2,303

## ANEXO 2 (experiência 2)

Quadro 52. Características dos animais do ensaio 1: Idade (d), PV (kg) e GPV (kg/d).

	Vitelos								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Idade (d)									
chegada	8	8	8	8	8	8	8	8	8
início ensaio	43	43	43	43	43	43	43	43	43
final ensaio	85	85	85	85	85	85	85	85	85
Peso vivo (kg)									
chegada	52	41	46	49	56	49	48	43	36
início ensaio	75	66	70	69	80	74	74	70	67
final ensaio	120	110	110	120	119	123	120	111	109
G.P.V. (kg/d)									
chegada-início	0,66	0,72	0,69	0,57	0,69	0,71	0,74	0,77	0,89
início-final	1,07	1,05	0,95	1,21	0,93	1,17	1,10	0,98	1,00

Quadro 53. Características dos animais do ensaio 2: Idade (d), PV (Kg) e GPV (Kg/d).

	Vitelos				
	A	B	C	D	E
Idade (d)					
chegada	8	8	8	8	8
operação	63	61	85	85	85
início ensaio	84	84	100	100	100
final ensaio	126	126	142	142	142
Peso vivo (Kg)					
chegada	42	41	47	47	49
operação	89	85	123	119	123
início ensaio	104	101	118	127	124
final ensaio	135	131	147	167	-
G.P.V. (kg/d)					
chegada-início	0,82	0,79	0,93	1,05	0,99
início-final	0,74	0,71	0,69	0,95	-

Quadro 54. Valores individuais do GPV (kg/d) dos animais do ensaio 1.

Testemunha	Dietas	
	Soja	Tremoço
1,286	1,143	1,000
1,286	1,143	0,714
1,143	0,857	0,714
1,000	1,000	0,714
0,714	1,286	0,714
1,429	0,571	0,714
1,429	1,429	1,143
0,857	0,857	1,000
1,143	1,286	0,714

Quadro 55. Análise do efeito das dietas no GPV (kg/d) dos animais.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GPV

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	0,542	0,068	0,973	0,4868
Dentro de grupos	18	1,254	0,07		
tratamento	2	0,492	0,246	5,169	0,0185
residual	16	0,762	0,048		
Total	26	1,796			

Quadro 56. Valores individuais de ingestão de MS/GPV dos animais do ensaio 1.

Testemunha	Dietas	
	Soja	Tremoço
1,254	1,342	1,576
1,158	1,350	2,105
1,675	1,318	1,789
1,533	2,193	2,100
1,695	1,794	2,400
2,373	1,429	2,400
1,410	3,377	1,525
1,384	1,379	1,820
1,991	2,205	1,987

Quadro 57. Análise do efeito das dietas na ingestão de MS/GPV dos animais.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ingestão de MS/GPV

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	1,895	0,237	0,962	0,494
Dentro de grupos	18	4,432	0,246		
tratamento	2	0,586	0,239	1,218	0,3218
residual	16	3,846	0,24		
Total	26	6,328			

Quadro 58. Valores individuais de excreção fecal (g) dos animais do ensaio 1.

	Diets	
	Testemunha	Tremoço
	Soja	
1514	5174	5939
1351	3546	6170
1922	4879	5595
1141	3347	5655
1367	3516	5783
1190	5340	6918
2069	6876	6952
2205	5855	3648
2384	4758	8220

Quadro 59. Análise do efeito das dietas na excreção de fezes dos animais.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 excreção de fezes.

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	10731019,852	1341377,481	0,225	0,9815
Dentro de grupos	18	107502474,667	5972359,704		
tratamento	2	92778820,519	46389410,259	50,411	0,0001
residual	16	14723654,148	920228,384		
Total	26	118233494,519			

Quadro 60. Valores individuais da concentração plasmática de triglicéridos (mg/l).

Dieta	Tempo após refeição					
	0h	1h	2h	3h	4h	6,5h
Testemunha	403,497	210,131	204,181	381,903	118,778	108,196
Testemunha	315,908	197,009	106,113	119,147	70,783	257,378
Testemunha	222,850	231,839	156,817	104,206	181,244	188,667
Testemunha	340,770	239,646	280,793	211,401	287,767	302,365
Testemunha	174,787	226,744	152,818	174,438	122,132	260,917
Testemunha	276,089	138,177	103,258	131,476	114,545	311,713
Testemunha	335,001	300,492	188,522	198,471	191,462	316,290
Testemunha	140,062	176,655	203,062	173,290	224,137	209,083
Testemunha	143,183	121,439	144,521	85,979	78,286	190,321
Soja	149,802	449,460	477,586	314,185	228,719	181,851
Soja	90,004	162,829	249,555	265,938	263,526	248,018
Soja	137,748	332,353	317,546	272,823	235,353	215,711
Soja	125,790	476,570	811,987	616,027	585,879	355,690
Soja	54,484	191,044	458,630	460,359	509,150	270,210
Soja	75,941	419,690	587,350	293,225	585,144	195,205
Soja	64,172	229,402	345,802	394,871	384,771	277,142
Soja	80,424	222,292	433,757	440,791	425,094	199,545
Soja	59,337	172,151	293,859	246,842	454,994	135,467
Tremoço	110,404	148,623	299,022	125,267	271,313	91,213
Tremoço	98,372	580,488	876,843	510,288	349,273	232,492
Tremoço	89,109	263,812	340,399	231,318	450,348	91,294
Tremoço	94,663	179,108	473,809	289,500	173,814	85,580
Tremoço	87,270	178,203	335,657	222,128	168,404	185,636
Tremoço	61,619	156,916	177,420	178,090	166,620	103,170
Tremoço	70,780	331,300	815,664	235,706	295,530	171,010
Tremoço	113,361	120,370	203,144	87,995	84,991	91,333
Tremoço	119,011	241,078	164,394	151,687	141,073	101,042

Quadro 61. Análise do efeito das dietas e do tempo na concentração plasmática de triglicéridos.

Quadro 61.1. Efeito das dietas.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 0h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	36828,694	4603,587	0,38	0,9177
Dentro de grupos	18	218231,151	12123,953		
tratamento	2	169123,045	84561,522	27,551	0,0001
residual	16	49108,106	3069,257		
Total	26	255059,845			

Teste de Friedman 3 Variáveis X 0h

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	13,556

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	13	1,444
Tremoço	14	1,556

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 1h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	67806,553	8475,819	0,542	0,8099
Dentro de grupos	18	281480,076	15637,782		
tratamento	2	36958,367	18479,183	1,209	0,3243
residual	16	244521,709	15282,607		
Total	26	349286,629			

Teste de Friedman 3 Variáveis X 1h

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	1,556

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	16	1,778
Soja	21	2,333
Tremoço	17	1,889



Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 2h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	243772,137	30471,517	0,557	0,7984
Dentro de grupos	18	984067,27	54670,404		
tratamento	2	393497,495	196748,748	5,33	0,0168
residual	16	590569,775	36910,611		
Total	26	1227839,407			

Teste de Friedman 3 Variáveis X 2h

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	14

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	9	1
Soja	24	2,667
Tremoço	21	2,333

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 3h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	96649,834	12081,229	0,566	0,7922
Dentro de grupos	18	384448,876	21358,271		
tratamento	2	177759,419	88879,71	6,88	0,007
residual	16	206689,457	12918,091		
Total	26	481098,71			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 4h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	47203,61	5900,451	0,188	0,9894
Dentro de grupos	18	565264,434	31403,58		
tratamento	2	303351,813	151675,907	9,266	0,0021
residual	16	261912,62	16369,539		
Total	26	612468,044			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 6.5h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	59695,554	7461,944	1,285	0,311
Dentro de grupos	18	104514,156	5806,342		
tratamento	2	68383,455	34191,727	15,141	0,0002
residual	16	36130,702	2258,169		
Total	26	164209,711			

Quadro 61.2. Efeito do tempo.

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi <sup>2</sup> -quadrado	16,238

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Triglicéridos 0h	43	4,778
Triglicéridos 1h	35	3,889
Triglicéridos 2h	23	2,556
Triglicéridos 3h	23	2,556
Triglicéridos 4h	22	2,444
Triglicéridos 6,5h	43	4,778

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Soja

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi <sup>2</sup> -quadrado	32,492

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Triglicéridos 0h	9	1
Triglicéridos 1h	30	3,333
Triglicéridos 2h	45	5
Triglicéridos 3h	43	4,778
Triglicéridos 4h	41	4,556
Triglicéridos 6,5h	21	2,333

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Tremoço

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi <sup>2</sup> -quadrado	28,683

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Triglicéridos 0h	15	1,667
Triglicéridos 1h	39	4,333
Triglicéridos 2h	51	5,667
Triglicéridos 3h	35	3,889
Triglicéridos 4h	31	3,444
Triglicéridos 6,5h	18	2

Quadro 62. Valores individuais da concentração plasmática de glicose (mg/l).

Dietas	Tempo após refeição					
	0h	1h	2h	3h	4h	6,5h
Testemunha	975,771	1344,701	1484,297	1489,837	1427,794	1148,145
Testemunha	1048,893	1761,272	1813,343	1411,176	1420,039	1092,100
Testemunha	946,522	1291,095	1390,306	1377,505	1111,874	988,126
Testemunha	925,765	1046,943	982,533	1167,031	987,992	1211,791
Testemunha	1022,264	1278,295	1428,711	1239,583	1257,369	1199,782
Testemunha	989,526	1554,508	1618,330	1275,156	1347,635	1096,245
Testemunha	1146,627	1388,193	1453,642	1444,123	1444,123	1339,404
Testemunha	1128,918	1264,628	1286,295	1165,411	1419,724	1338,755
Testemunha	1066,686	1618,158	1206,466	1321,228	1322,621	1160,841
Soja	1079,464	1359,208	1020,070	1266,180	1276,308	1127,553
Soja	1148,948	1185,516	1027,606	1195,675	1096,510	1465,794
Soja	915,560	1543,664	1550,117	1653,367	1963,352	752,293
Soja	896,287	1768,455	1765,153	1715,529	1726,086	662,972
Soja	1100,437	1123,363	1375,780	1338,428	1324,236	1509,787
Soja	910,428	1182,180	984,345	1111,537	1214,790	1182,282
Soja	1052,022	1688,727	1147,396	1132,873	1295,699	1233,937
Soja	929,621	1242,921	1185,651	1187,086	1291,805	1127,587
Soja	1061,554	1833,452	1828,931	1484,233	1354,265	1166,659
Tremoço	918,877	1101,625	1202,724	948,281	1074,737	1331,810
Tremoço	896,006	1117,087	828,484	874,225	965,707	1063,723
Tremoço	1022,264	1278,295	1428,711	1239,583	1257,369	1199,782
Tremoço	989,526	1554,508	1618,330	1275,156	1347,635	1096,245
Tremoço	1091,605	1321,317	1146,469	1209,727	1123,482	1393,060
Tremoço	942,009	1306,874	1078,693	1153,247	1356,577	1329,466
Tremoço	915,290	1401,979	1259,456	1266,846	1330,189	1102,153
Tremoço	712,336	1212,076	994,309	1182,138	1159,709	1271,470
Tremoço	878,469	1288,639	1290,865	1237,062	1193,347	1225,853

Quadro 63. Análise do efeito das dietas e do tempo na concentração plasmática de glicose.

Quadro 63.1. Efeito das dietas.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 0h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	61849,154	7731,144	0,696	0,691
Dentro de grupos	18	199989,267	11110,515		
tratamento	2	49516,081	24758,041	2,633	0,1027
residual	16	150473,186	9404,574		
Total	26	261838,421			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 1h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	333924,617	41740,577	0,821	0,5944
Dentro de grupos	18	914787,621	50821,534		
tratamento	2	106866,917	53433,459	1,058	0,3702
residual	16	807920,704	50495,044		
Total	26	1248712,238			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 2h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	313207,468	39150,933	0,437	0,883
Dentro de grupos	18	1610805,712	89489,206		
tratamento	2	184424,361	92212,18	1,034	0,378
residual	16	1426381,351	89148,834		
Total	26	1924013,179			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 3h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	218725,224	27340,653	0,75	0,6485
Dentro de grupos	18	655878,073	36437,671		
tratamento	2	192123,958	96061,979	3,314	0,0625
residual	16	463754,115	28984,632		
Total	26	874603,296			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 4h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	157146,578	19643,322	0,371	0,9226
Dentro de grupos	18	953377,146	52965,397		
tratamento	2	167396,133	83698,067	1,704	0,2134
residual	16	785981,013	49123,813		
Total	26	1110523,724			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 6,5h

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	357790,248	44723,781	1,535	0,2139
Dentro de grupos	18	524612,759	29145,153		
tratamento	2	34365,291	17182,645	0,561	0,5816
residual	16	490247,469	30640,467		
Total	26	882403,008			

Teste de Friedman 3 Variáveis X 6,5h

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	18	2
Soja	16	1,778
Tremoço	20	2,222

Quadro 63.2. Efeito do tempo.

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Testemunha

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi-quadrado	25,365

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Glucose 0h	9	1
Glucose 1h	38	4,222
Glucose 2h	44	4,889
Glucose 3h	35,5	3,944
Glucose 4h	37,5	4,167
Glucose 6,5h	25	2,778

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Soja

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi-quadrado	15,984

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Glucose 0h	14	1,556
Glucose 1h	42	4,667
Glucose 2h	29	3,222
Glucose 3h	34	3,778
Glucose 4h	40	4,444
Glucose 6,5h	30	3,333

Teste de Friedman 6 Variáveis X Dieta Tremoço

G.L.	5
# Grupos	6
# Casos	9
Chi <sup>2</sup> -quadrado	20,556

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Glucose 0h	11	1,222
Glucose 1h	45	5
Glucose 2h	34	3,778
Glucose 3h	29	3,222
Glucose 4h	33	3,667
Glucose 6,5h	37	4,111

Quadro 64. Concentração plasmática de triglicéridos e glucose (mg/100ml) (média erro padrão da média).

Tempo após refeição		Dietas		
		Testemunha	Soja	Tremoço
Triglicéridos	0 h	26.1 ± 3.2 <sup>a</sup>	9.3 ± 1.2 <sup>b</sup>	9.4 ± 0.6 <sup>b</sup>
	1 h	20.5 ± 1.8	29.5 ± 4.2	24.4 ± 4.7*
	2 h	17.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	44.2 ± 5.8 <sup>b*</sup>	41.0 ± 8.9 <sup>b*</sup>
	3 h	17.6 ± 2.9 <sup>a</sup>	36.7 ± 4.1 <sup>b*</sup>	22.6 ± 4.1
	4 h	15.4 ± 2.4 <sup>a</sup>	40.8 ± 4.7 <sup>b*</sup>	23.3 ± 3.9 <sup>a</sup>
	6,5 h	23.8 ± 2.3 <sup>a</sup>	23.1 ± 2.2 <sup>a</sup>	12.8 ± 1.8 <sup>b</sup>
Glucose	0 h	102.8 ± 2,6	101,0 ± 3,2	93,0 ± 3,5
	1 h	139,4 ± 7,2*	143,6 ± 9,2*	128,7 ± 4,6*
	2 h	140,7 ± 7,9*	132,1 ± 10,9	120,5 ± 7,8
	3 h	132,1 ± 3,9*	134,2 ± 7,5	115,4 ± 4,8
	4 h	130,4 ± 5,3*	139,4 ± 9,1*	120,1 ± 4,5
	6,5 h	117,5 ± 3,8	113,7 ± 9,4	122,4 ± 3,9

a,b médias acompanhadas por letras diferentes são diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

\* médias acompanhadas por asterisco são diferentes dos valores pré-prandiais ( $p \leq 0,05$ ).

Quadro 65. Valores individuais de digestibilidade aparente da MS, MO, N, MG, ENA e MM.

Quadro 65.1. Digestibilidade fecal.

Dietas	MS	MO	N	MG	ENA	MM
Testemunha	0,965	0,971	0,956	0,940	0,990	0,875
Testemunha	0,959	0,963	0,941	0,911	0,991	0,899
Testemunha	0,941	0,950	0,946	0,934	0,969	0,806
Testemunha	0,975	0,979	0,963	0,965	0,991	0,910
Testemunha	0,970	0,975	0,954	0,957	0,989	0,910
Testemunha	0,974	0,978	0,956	0,961	0,992	0,928
Testemunha	0,957	0,964	0,934	0,934	0,984	0,858
Testemunha	0,959	0,964	0,932	0,938	0,984	0,883
Testemunha	0,948	0,955	0,926	0,899	0,985	0,847
Soja	0,905	0,925	0,890	0,868	0,962	0,687
Soja	0,908	0,924	0,875	0,975	0,841	0,729
Soja	0,881	0,898	0,845	0,824	0,953	0,680
Soja	0,892	0,915	0,849	0,918	0,938	0,626
Soja	0,876	0,894	0,822	0,852	0,937	0,684
Soja	0,903	0,916	0,843	0,929	0,940	0,756
Soja	0,917	0,934	0,901	0,908	0,960	0,714
Soja	0,896	0,914	0,890	0,871	0,948	0,674
Soja	0,829	0,852	0,833	0,701	0,933	0,551
Tremoço	0,825	0,847	0,787	0,862	0,856	0,559
Tremoço	0,843	0,856	0,900	0,894	0,816	0,685
Tremoço	0,916	0,928	0,879	0,871	0,957	0,772
Tremoço	0,815	0,831	0,909	0,885	0,758	0,627
Tremoço	0,843	0,854	0,845	0,823	0,877	0,703
Tremoço	0,840	0,853	0,903	0,911	0,801	0,680
Tremoço	0,829	0,845	0,914	0,908	0,776	0,623
Tremoço	0,836	0,856	0,872	0,865	0,845	0,587
Tremoço	0,815	0,835	0,898	0,863	0,784	0,570

Quadro 65.2. Digestibilidade ileal.

Dietas	MS	MO	N	MG	ENA	MM
Testemunha	0,922	0,934	0,924	0,901	0,952	0,767
Testemunha	0,933	0,938	0,924	0,941	0,943	0,859
Testemunha	0,893	0,905	0,904	0,833	0,936	0,733
Testemunha	0,904	0,916	0,922	0,905	0,919	0,733
Testemunha	0,875	0,892	0,916	0,874	0,890	0,660
Soja	0,792	0,816	0,913	0,549	0,891	0,514
Soja	0,880	0,898	0,920	0,881	0,870	0,666
Soja	0,800	0,827	0,858	0,845	0,804	0,494
Soja	0,871	0,882	0,882	0,907	0,871	0,735
Soja	0,900	0,914	0,923	0,898	0,919	0,725
Tremoço	0,771	0,792	0,885	0,907	0,705	0,520
Tremoço	0,752	0,776	0,872	0,945	0,666	0,448
Tremoço	0,775	0,793	0,889	0,908	0,704	0,556
Tremoço	0,797	0,810	0,895	0,928	0,727	0,624
Tremoço	0,763	0,785	0,880	0,837	0,724	0,485

Quadro 66. Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos nutrientes.

Quadro 66.1. Nível fecal.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	44,453	5,557	0,132	0,9967
Dentro de grupos	18	757,879	42,104		
tratamento	2	662,981	331,491	55,89	0,0001
residual	16	94,898	5,931		
Total	26	802,332			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MS

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	16,222 p = 0,0003

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	17	1,889
Tremoço	10	1,111

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	35,646	4,456	0,126	0,9972
Dentro de grupos	18	635,781	35,321		
tratamento	2	550,12	275,06	51,377	0,0001
residual	16	85,66	5,354		
Total	26	671,426			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MO

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	16,222 p = 0,0003

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	17	1,889
Tremoço	10	1,111



Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 N

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	48,151	6,019	0,209	0,9852
Dentro de grupos	18	518,468	28,804		
tratamento	2	357,068	178,534	17,699	0,0001
residual	16	161,399	10,087		
Total	26	566,619			

Teste de Friedman 3 Variáveis X N

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	14,889 p = 0,0006

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	11	1,222
Tremoço	16	1,778

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	299,072	37,384	1,252	0,3268
Dentro de grupos	18	537,581	29,866		
tratamento	2	246,302	123,151	6,765	0,0074
residual	16	291,279	18,205		
Total	26	836,654			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MG

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	11,556 p = 0,0031

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	26	2,889
Soja	16	1,778
Tremoço	12	1,333

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ENA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	139,06	17,382	0,221	0,9825
Dentro de grupos	18	1418,955	78,831		
tratamento	2	1139,899	569,95	32,679	0,0001
residual	16	279,055	17,441		
Total	26	1558,014			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ENA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	16,222 p = 0,0003

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	17	1,889
Treçoço	10	1,111

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MM

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	8	389,098	48,637	0,264	0,9698
Dentro de grupos	18	3314,458	184,137		
tratamento	2	2904,638	1452,319	56,701	0,0001
residual	16	409,82	25,614		
Total	26	3703,555			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MM

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	9
Chi-quadrado	13,556 p = 0,0011

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	27	3
Soja	14	1,556
Treçoço	13	1,444

Quadro 66.2. Nível ileal.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	29,01	7,253	0,131	0,9673
Dentro de grupos	10	551,738	55,174		
tratamento	2	452,714	226,357	18,287	0,001
residual	8	99,024	12,378		
Total	14	580,748			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MS

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	8,4

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	11	2,2
Tremoço	5	1

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	22,024	5,506	0,115	0,9741
Dentro de grupos	10	477,54	47,754		
tratamento	2	401,71	200,855	21,19	0,0006
residual	8	75,83	9,479		
Total	14	499,563			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MO

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	8,4

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	11	2,2
Tremoço	5	1

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 N

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	11,301	2,825	0,525	0,7201
Dentro de grupos	10	53,812	5,381		
tratamento	2	28,079	14,04	4,365	0,0523
residual	8	25,733	3,217		
Total	14	65,114			

Teste de Friedman 3 Variáveis X N

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	9	1,8
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	353,729	88,432	0,961	0,4699
Dentro de grupos	10	920,647	92,065		
tratamento	2	228,628	114,314	1,322	0,3192
residual	8	692,019	86,502		
Total	14	1274,376			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MG

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	8	1,6
Soja	9	1,8
Tremoço	13	2,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ENA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	23,903	5,976	0,042	0,9961
Dentro de grupos	10	1435,247	143,525		
tratamento	2	1339,641	669,821	56,049	0,0001
residual	8	95,605	11,951		
Total	14	1459,149			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MM

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	224,113	56,028	0,286	0,8804
Dentro de grupos	10	1958,604	195,86		
tratamento	2	1255,832	627,916	7,148	0,0166
residual	8	702,772	87,847		
Total	14	2182,718			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MM

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	3,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	13	2,6
Soja	10	2
Tremoço	7	1,4

Quadro 67. Efeito do nível (fecal ou ileal) na digestibilidade dos nutrientes.

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	82	9,111
ileal	5	23	4,6

U	8
U-prime	37
Z	-1,933

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	83	9,22
ileal	5	22	4,4

U	7
U-prime	38
Z	-2,067

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	52	5,778
ileal	5	53	10,6

U	7
U-prime	38
Z	-2,067

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	71	7,889
ileal	5	34	6,8

U	19
U-prime	26
Z	-0,467

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	82	9,111
ileal	5	23	4,6

U	8
U-prime	37
Z	-1,933

Teste de  $U$  Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	73	8,111
ileal	5	32	6,4

U	17
U-prime	28
Z	-0,733

Teste de  $U$  Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	57	6,333
ileal	5	48	9,6

U	12
U-prime	33
Z	-1,4

Teste de  $U$  Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de  $U$  Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	86	9,556
ileal	5	19	3,8

U	4
U-prime	41
Z	-2,467

Teste de  $U$  Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	90	10
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	45
Z	-3

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nivel  $Y_1$ : MM Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	87	9,667
ileal	5	18	3,6

U	3
U-prime	42
Z	-2,6

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nivel  $Y_1$ : MM Soja

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	73	8,111
ileal	5	32	6,4

U	17
U-prime	28
Z	-0,733

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nivel  $Y_1$ : MM Tremoço

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	9	86	9,556
ileal	5	19	3,8

U	4
U-prime	41
Z	-2,467



Quadro 68. Valores individuais de digestibilidade aparente dos ácidos aminados.

Diets	ASP	TRU	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TRP	PEN	HIS	LIS	ARG	NAA
Testemunha	0,929	0,880	0,923	0,939	0,960	0,845	0,889	0,775	0,948	0,958	0,957	0,956	0,956	0,944	0,948	0,927	0,934	0,933
Testemunha	0,931	0,883	0,930	0,958	0,961	0,871	0,903	0,815	0,953	0,970	0,962	0,960	0,959	0,952	0,952	0,932	0,936	0,941
Testemunha	0,916	0,868	0,915	0,908	0,942	0,790	0,871	0,747	0,932	0,955	0,950	0,950	0,946	0,947	0,932	0,918	0,941	0,919
Testemunha	0,926	0,880	0,922	0,948	0,961	0,858	0,903	0,821	0,949	0,970	0,955	0,961	0,955	0,955	0,948	0,936	0,930	0,938
Testemunha	0,932	0,880	0,922	0,951	0,956	0,848	0,901	0,786	0,948	0,963	0,951	0,961	0,948	0,953	0,943	0,932	0,931	0,936
Soja	0,935	0,872	0,912	0,935	0,907	0,890	0,915	0,859	0,917	0,913	0,948	0,944	0,918	0,937	0,927	0,917	0,967	0,927
Soja	0,942	0,889	0,927	0,952	0,934	0,911	0,921	0,889	0,926	0,930	0,954	0,954	0,945	0,951	0,943	0,922	0,974	0,940
Soja	0,856	0,811	0,855	0,850	0,843	0,800	0,862	0,791	0,867	0,874	0,902	0,910	0,881	0,912	0,873	0,886	0,927	0,871
Soja	0,885	0,848	0,890	0,881	0,867	0,827	0,874	0,828	0,884	0,891	0,922	0,921	0,893	0,916	0,894	0,888	0,951	0,893
Soja	0,946	0,918	0,947	0,955	0,928	0,921	0,906	0,901	0,934	0,919	0,955	0,957	0,947	0,959	0,945	0,946	0,975	0,946
Trenoyo	0,920	0,877	0,894	0,880	0,878	0,883	0,899	0,734	0,901	0,802	0,932	0,942	0,944	0,935	0,872	0,855	0,972	0,910
Trenoyo	0,901	0,835	0,871	0,853	0,881	0,855	0,867	0,795	0,882	0,829	0,927	0,924	0,915	0,906	0,858	0,849	0,959	0,892
Trenoyo	0,909	0,861	0,887	0,892	0,881	0,865	0,870	0,817	0,900	0,893	0,932	0,929	0,934	0,920	0,878	0,859	0,962	0,906
Trenoyo	0,920	0,875	0,898	0,890	0,892	0,881	0,886	0,832	0,910	0,883	0,948	0,942	0,948	0,946	0,896	0,874	0,969	0,916
Trenoyo	0,917	0,875	0,909	0,911	0,889	0,866	0,865	0,807	0,891	0,865	0,916	0,918	0,941	0,920	0,881	0,847	0,968	0,911

Quadro 69. Análise do efeito das dietas na digestibilidade aparente dos ácidos aminados.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,003	0,001	1,609	0,2466
Dentro de grupos	10	0,005	4,568E-4		
tratamento	2	0,001	3,114E-4	0,631	0,5565
residual	8	0,004	4,932E-4		
Total	14	0,008			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ASP

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	12	2,4
Soja	11	2,2
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,003	0,001	1,433	0,2929
Dentro de grupos	10	0,005	0,001		
tratamento	2	0,001	2,634E-4	0,43	0,6645
residual	8	0,005	0,001		
Total	14	0,001			

Teste de Friedman 3 Variáveis X TRI

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	13	2,6
Soja	9	1,8
Tremoço	8	1,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,003	0,001	1,1	0,4083
Dentro de grupos	10	0,006	0,001		
tratamento	2	0,002	0,001	2,76	0,1226
residual	8	0,003	4,246E-4		
Total	14	0,008			

Teste de Friedman 3 Variáveis X SER

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	9	1,8
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,005	0,001	0,858	0,5208
Dentro de grupos	10	0,015	0,001		
tratamento	2	0,008	0,004	4,412	0,0511
residual	8	0,007	0,001		
Total	14	0,02			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,003	0,001	0,359	0,8325
Dentro de grupos	10	0,019	0,002		
tratamento	2	0,015	0,007	14,992	0,002
residual	8	0,004	4,936E-4		
Total	14	0,021			

Teste de Friedman 3 Variáveis X PRO

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	7,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	15	3
Soja	8	1,6
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,008	0,002	1,864	0,1935
Dentro de grupos	10	0,011	0,001		
tratamento	2	0,003	0,001	1,261	0,3341
residual	8	0,008	0,001		
Total	14	0,018			

Teste de Friedman 3 Variáveis X GLI

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	7	1,4
Soja	12	2,4
Tremoço	11	2,2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,002	0,001	1,503	0,2733
Dentro de grupos	10	0,003	3,330E-4		
tratamento	2	0,001	4,934E-4	1,685	0,2452
residual	8	0,002	2,929E-4		
Total	14	0,005			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,007	0,002	0,739	0,5863
Dentro de grupos	10	0,023	0,002		
tratamento	2	0,012	0,006	4,68	0,0451
residual	8	0,011	0,001		
Total	14	0,03			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	2,953E-4	0,304	0,8691
Dentro de grupos	10	0,01	0,001		
tratamento	2	0,007	0,003	9,679	0,0073
residual	8	0,003	3,556E-4		
Total	14	0,011			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	2,962E-4	0,081	0,9864
Dentro de grupos	10	0,036	0,004		
tratamento	2	0,03	0,015	17,292	0,0012
residual	8	0,007	0,001		
Total	14	0,038			

Teste de Friedman 3 Variáveis X MET

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	8,4

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	15	3
Soja	9	1,8
Tremoço	6	1,2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	1,766E-4	0,478	0,7516
Dentro de grupos	10	0,004	3,695E-4		
tratamento	2	0,002	0,001	3,036	0,1045
residual	8	0,002	2,626E-4		
Total	14	0,004			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ILE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	9	1,8
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	1,561E-4	0,435	0,7808
Dentro de grupos	10	0,004	3,589E-4		
tratamento	2	0,002	0,001	4,691	0,0449
residual	8	0,002	2,065E-4		
Total	14	0,004			

Teste de Friedman 3 Variáveis X LEU

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	7,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	15	3
Soja	8	1,6
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	2,782	0,428	0,7851
Dentro de grupos	10	0,006	0,001		
tratamento	2	0,003	0,002	4,005	0,0623
residual	8	0,003	4,055E-4		
Total	14	0,008			

Teste de Friedman 3 Variáveis X TIR

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sub>r</sub> -quadrado	7,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	15	3
Soja	7	1,4
Tremoço	8	1,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 FEN

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	1,274E-4	0,334	0,8489
Dentro de grupos	10	0,004	3,814E-4		
tratamento	2	0,002	0,001	2,78	0,1212
residual	8	0,002	2,813E-4		
Total	14	0,004			

Teste de Friedman 3 Variáveis X FEN

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sub>r</sub> -quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	9	1,8
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	3,577E-4	0,236	0,9114
Dentro de grupos	10	0,015	0,002		
tratamento	2	0,012	0,006	12,825	0,0032
residual	8	0,004	4,495E-4		
Total	14	0,017			

Teste de Friedman 3 Variáveis X HIS

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	14	2,8
Soja	9	1,8
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,001	1,649E-4	0,098	0,9805
Dentro de grupos	10	0,017	0,002		
tratamento	2	0,014	0,007	22,523	0,0005
residual	8	0,003	3,157E-4		
Total	14	0,017			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	4,809E-4	1,202E-4	0,294	0,8751
Dentro de grupos	10	0,004	4,086E-4		
tratamento	2	0,003	0,001	8,169	0,0117
residual	8	0,001	1,679E-4		
Total	14	0,005			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ARG

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	6	1,2
Soja	11	2,2
Tremoço	13	2,6

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,002	4,612E-4	0,971	0,4648
Dentro de grupos	10	0,005	4,749E-4		
tratamento	2	0,002	0,001	2,484	0,1448
residual	8	0,003	3,662E-4		
Total	14	0,007			

Quadro 70. Proporções teóricas de proteína alimentar, endógena e bacteriana que constituem a proteína dos digesta .

Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Dieta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,188	0,084	2,246	0,040
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,796	0,088	9,053	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	7,657	2	3,828	33,026	0,000
Erro	1,623	14	0,116		

Total 9,279 16

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,825

Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Soja}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Soja}}$	0,799	0,071	11,256	0,000
Cs / $\sqrt{\text{digesta Soja}}$	0,178	0,063	2,816	0,013

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	7,450	2	3,725	49,647	0,000
Erro	1,050	14	0,075		

Total 8,500 16

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,876

Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Soja}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Dieta Soja / $\sqrt{\text{digesta Soja}}$	0,066	0,119	0,556	0,587
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Soja}}$	0,919	0,123	7,493	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	6,946	2	3,473	31,290	0,000
Erro	1,554	14	0,111		

Total 8,500 16

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,817



## Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$ 

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Cl / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,141	0,130	1,078	0,298
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,798	0,141	5,660	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	6,493	2	3,246	7,443	0,006
Erro	6,106	14	0,436		

Total 12,598 16

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,515

## Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$ 

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,836	0,133	6,299	0,000
Conglutina- $\alpha$ / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,102	0,121	0,848	0,410

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	6,309	2	3,154	7,021	0,008
Erro	6,290	14	0,449		

Total 12,598 16

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,501

## Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$ 

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,865	0,112	0,756	0,000
Conglutina- $\beta$ / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,073	0,095	0,764	0,457

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	6,250	2	3,125	6,892	0,008
Erro	6,348	14	0,453		

Total 12,598 16

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,496

## Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$ 

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Cl / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,126	0,097	1,303	0,212
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,837	0,106	7,896	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Raazão - F	Probab. > F
Modelo	8,917	2	4,458	16,954	0,000
Erro	3,682	14	0,263		
Total	12,598	16			

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,708

Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$

Variável	Coeficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,864	0,100	8,648	0,000
Conglutina- $\alpha$ / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,098	0,090	1,095	0,291

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Raazão - F	Probab. > F
Modelo	8,796	2	4,398	16,194	0,000
Erro	3,802	14	0,272		
Total	12,598	16			

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,698

Regressão múltipla

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$

Variável	Coeficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,891	0,086	10,383	0,000
Conglutina- $\beta$ / $\sqrt{\text{digesta Tremoço}}$	0,071	0,072	0,977	0,344

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Raazão - F	Probab. > F
Modelo	8,734	2	4,367	15,820	0,000
Erro	3,865	14	0,276		
Total	12,598	16			

Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,693

Quadro 71. Valores individuais da composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.

Dicas	ASP	TRU	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TRR	PEN	HIS	LIS	ARG
Testemunha	8,72	7,87	6,58	21,19	5,93	4,52	5,36	2,98	5,26	1,35	3,61	6,11	3,09	4,13	1,98	8,09	3,24
Testemunha	9,70	8,94	6,88	16,77	6,66	4,32	5,37	2,80	5,47	1,13	3,65	6,34	3,38	4,07	2,10	8,76	3,66
Testemunha	8,31	7,01	5,85	25,42	6,99	4,95	5,02	2,69	5,56	1,17	3,38	5,59	3,07	3,18	2,10	7,35	2,37
Testemunha	9,71	8,54	7,20	19,21	6,23	4,48	5,01	2,54	5,58	1,10	3,98	5,78	3,45	3,59	2,15	7,74	3,71
Testemunha	8,87	8,36	7,07	17,80	6,87	4,71	5,03	2,99	5,63	1,26	4,31	5,67	3,91	3,65	2,31	8,01	3,55
Soja	10,41	8,45	6,52	16,87	6,73	5,32	5,13	3,59	5,91	1,56	3,64	6,17	3,55	4,07	2,29	7,16	2,63
Soja	11,22	8,93	6,55	15,16	5,84	5,27	5,76	3,43	6,44	1,53	3,98	6,18	2,92	3,90	2,17	8,16	2,55
Soja	12,85	6,95	6,01	21,85	6,39	5,39	4,63	2,96	5,31	1,25	3,86	5,52	2,87	3,18	2,22	5,49	3,26
Soja	12,38	6,74	5,46	20,83	6,49	5,60	5,08	2,94	5,56	1,30	3,69	5,84	3,12	3,66	2,22	6,46	2,64
Soja	11,54	7,33	5,23	15,97	7,01	5,14	7,61	3,39	6,31	1,95	4,27	6,28	3,06	3,58	2,29	6,29	2,72
Trengoço	9,64	5,61	6,07	28,94	6,43	4,17	3,81	4,80	5,06	1,02	3,56	5,02	2,61	2,91	2,65	5,18	2,51
Trengoço	9,77	6,20	6,07	29,28	5,21	4,28	4,14	3,06	5,00	1,19	3,16	5,37	3,24	3,47	2,43	5,14	2,99
Trengoço	10,57	6,14	6,25	25,24	6,08	4,68	4,77	3,21	4,97	0,88	3,48	5,94	2,96	3,48	2,44	5,65	3,24
Trengoço	10,26	6,10	6,30	28,42	6,15	4,57	4,64	3,26	4,95	1,07	2,94	5,38	2,61	2,61	2,31	5,59	2,98
Trengoço	10,24	5,84	5,35	21,95	6,00	4,92	5,19	3,57	5,71	1,16	4,52	7,23	2,81	3,68	2,51	6,46	2,86

Quadro 72. Análise do efeito das dietas na composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,472	0,618	0,298	0,8728
Dentro de grupos	10	20,751	2,075		
tratamento	2	17,387	8,693	20,675	0,0007
residual	8	3,364	0,42		
Total	14	23,223			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,77	0,692	0,423	0,7889
Dentro de grupos	10	16,374	1,637		
tratamento	2	13,006	6,503	15,448	0,0018
residual	8	3,368	0,421		
Total	14	19,143			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,792	0,198	0,471	0,7561
Dentro de grupos	10	4,202	0,42		
tratamento	2	1,808	0,904	3,021	0,1054
residual	8	2,394	0,299		
Total	14	4,994			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	57,617	14,404	0,534	0,7138
Dentro de grupos	10	269,511	26,951		
tratamento	2	204,963	102,481	12,701	0,0033
residual	8	64,549	8,069		
Total	14	327,129			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,892	0,223	0,901	0,4989
Dentro de grupos	10	2,474	0,247		
tratamento	2	0,977	0,488	2,61	0,1341
residual	8	1,497	0,187		
Total	14	3,366			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,332	0,083	0,339	0,8454
Dentro de grupos	10	2,447	0,245		
tratamento	2	2,062	1,031	21,418	0,0006
residual	8	0,385	0,048		
Total	14	2,779			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,834	0,708	0,984	0,4589
Dentro de grupos	10	7,198	0,72		
tratamento	2	3,226	1,613	3,248	0,0927
residual	8	3,972	0,497		
Total	14	10,032			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ALA

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	11	2,2
Soja	12	2,4
Tremoço	7	1,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,543	0,386	1,55	0,261
Dentro de grupos	10	2,488	0,249		
tratamento	2	1,538	0,769	6,476	0,0213
residual	8	0,95	0,119		
Total	14	4,032			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,719	0,18	0,824	0,5389
Dentro de grupos	10	2,182	0,218		
tratamento	2	1,476	0,738	8,37	0,0109
residual	8	0,705	0,088		
Total	14	2,901			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,234	0,058	0,814	0,5442
Dentro de grupos	10	0,718	0,072		
tratamento	2	0,542	0,271	12,262	0,0037
residual	8	0,177	0,022		
Total	14	0,952			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,503	0,376	3,466	0,0505
Dentro de grupos	10	1,084	0,108		
tratamento	2	0,336	0,168	1,797	0,2267
residual	8	0,748	0,094		
Total	14	2,587			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,099	0,275	0,967	0,4667
Dentro de grupos	10	2,841	0,284		
tratamento	2	0,11	0,055	0,162	0,8535
residual	8	2,731	0,341		
Total	14	3,941			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,153	0,038	0,24	0,9091
Dentro de grupos	10	1,596	0,16		
tratamento	2	0,713	0,357	3,23	0,0937
residual	8	0,883	0,11		
Total	14	1,75			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 FEN

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,727	0,182	0,961	0,4696
Dentro de grupos	10	1,892	0,189		
tratamento	2	0,745	0,372	2,597	0,1351
residual	8	1,147	0,143		
Total	14	2,619			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,044	0,011	0,281	0,8835
Dentro de grupos	10	0,387	0,039		
tratamento	2	0,301	0,151	13,957	0,0025
residual	8	0,086	0,011		
Total	14	0,431			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,287	0,572	0,314	0,8622
Dentro de grupos	10	18,207	1,821		
tratamento	2	14,257	7,128	14,435	0,0022
residual	8	3,95	0,494		
Total	14	20,494			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,188	0,047	0,193	0,9365
Dentro de grupos	10	2,44	0,244		
tratamento	2	0,791	0,395	1,918	0,2087
residual	8	1,65	0,206		
Total	14	2,629			

Quadro 73. Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais (médias e erros padrão da média).

	Dietas		
	Testemunha	Soja	Tremoço
ASP	9,06 ±0,28 <sup>a</sup>	11,68 ±0,43 <sup>b</sup>	10,1 ±0,17 <sup>a</sup>
TRI	8,14 ±0,33 <sup>a</sup>	7,68 ±0,43 <sup>a</sup>	5,98 ±0,11 <sup>b</sup>
SER	6,72 ±0,24	5,95 ±0,27	6,01 ±0,17
GLU	20,08 ±1,53	18,14 ±1,35 <sup>a</sup>	26,77 ±1,40 <sup>b</sup>
PRO	6,54 ±0,20	6,49 ±0,19	5,97 ±0,20
GLI	4,60 ±0,11 <sup>a</sup>	5,34 ±0,08 <sup>b</sup>	4,52 ±0,14 <sup>a</sup>
ALA	5,16 ±0,09	5,64 ±0,52	4,51 ±0,24
CIS	2,80 ±0,09 <sup>a</sup>	3,26 ±0,13	3,58 ±0,32 <sup>b</sup>
VAL	5,50 ±0,07	5,91 ±0,22 <sup>a</sup>	5,14 ±0,14 <sup>b</sup>
MET	1,20 ±0,05 <sup>a</sup>	1,52 ±0,12 <sup>b</sup>	1,06 ±0,06 <sup>a</sup>
ILE	3,79 ±0,16	3,89 ±0,11	3,53 ±0,27
LEU	5,90 ±0,14	6,00 ±0,14	5,79 ±0,39
TIR	3,38 ±0,15	3,10 ±0,12	2,85 ±0,12
FEN	3,72 ±0,17	3,68 ±0,15	3,23 ±0,20
HIS	2,13 ±0,05 <sup>a</sup>	2,24 ±0,02 <sup>a</sup>	2,47 ±0,06 <sup>b</sup>
LIS	7,99 ±0,23 <sup>a</sup>	6,71 ±0,45	5,60 ±0,24 <sup>b</sup>
ARG	3,31 ±0,25	2,76 ±0,13	2,92 ±0,12

<sup>a,b</sup> médias acompanhadas por letras diferentes são diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Quadro 74. Valores individuais da quantidade (mg/kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.

Dieta	ASP	TRU	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TIR	FEN	HIS	LIS	ARG	NAA
Testemunha	1243,8	1123,2	939,3	3023,0	846,6	645,2	765,1	424,7	750,6	192,5	514,7	871,1	441,4	589,1	282,8	1153,8	462,1	11854,3
Testemunha	1201,6	1107,4	852,2	2077,9	823,6	535,5	664,9	347,7	678,2	139,9	452,5	785,7	418,5	504,9	260,6	1085,5	453,3	1640,7
Testemunha	1473,1	1242,5	1037,3	4506,0	1239,4	877,3	889,7	476,6	984,8	207,2	598,7	991,6	545,1	564,1	372,1	1302,8	419,5	2259,4
Testemunha	1289,3	1133,1	955,4	2550,2	827,2	594,2	665,4	337,3	741,0	145,8	527,9	767,0	457,7	475,9	285,2	1027,1	493,0	1742,5
Testemunha	1196,1	1126,9	952,2	2399,0	926,3	634,7	677,4	402,5	758,6	169,5	581,3	764,2	526,5	491,6	311,5	1079,5	478,5	1775,1
Soja	1656,6	1329,4	1024,8	2653,8	1059,0	837,1	806,2	563,8	930,0	245,0	571,9	970,7	558,9	639,8	361,0	1126,4	413,1	2037,1
Soja	1438,6	1144,7	839,6	1943,0	748,6	675,4	737,6	440,0	825,2	195,7	510,0	792,3	374,7	499,7	278,8	1046,3	326,3	1674,7
Soja	3597,5	1946,4	1681,9	6115,5	1788,5	1508,6	1297,0	828,8	1485,9	349,9	1081,6	1543,6	804,5	888,7	620,5	1536,3	911,4	3595,6
Soja	2893,1	1575,4	1276,9	4869,9	1516,1	1308,7	1186,7	687,0	1300,3	302,9	863,2	1365,5	730,2	854,5	519,0	1509,4	616,6	2996,2
Soja	1341,3	851,9	607,9	1856,0	815,0	597,3	884,7	394,0	732,7	226,0	496,4	729,8	356,0	415,8	266,0	731,4	316,2	1510,4
Tremoço	1908,3	1110,3	1202,2	5731,6	1272,9	826,5	755,5	951,2	1002,1	202,8	705,4	993,9	517,4	576,3	523,9	1026,4	498,1	2482,8
Tremoço	2349,0	1491,3	1459,8	7043,3	1252,6	1030,5	995,7	735,1	1202,8	286,8	760,3	1291,1	779,9	834,7	583,3	1235,2	719,9	3020,3
Tremoço	2163,6	1257,0	1279,2	5166,4	1244,7	958,8	975,2	657,5	1017,9	180,4	712,2	1215,1	606,5	713,2	499,3	1156,6	663,6	2619,0
Tremoço	1891,3	1124,6	1160,4	5237,2	1133,0	842,9	855,1	600,4	911,6	197,8	542,1	991,5	480,4	481,3	425,1	1030,2	549,6	2341,8
Tremoço	1980,6	1130,4	1035,5	4246,9	1161,0	951,7	1005,1	690,7	1104,5	225,5	875,6	1399,7	543,0	712,7	484,9	1250,3	554,2	2487,5



Quadro 75. Análise do efeito das dietas na quantidade (mg/kg MS ingerida) de ácidos aminados aparentemente não digeridos.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1688750,977	422187,744	0,85	0,5251
Dentro de grupos	10	4967401,06	496740,106		
tratamento	2	2385985,945	1192992,973	3,679	0,0729
residual	8	2581615,115	322676,889		
Total	14	6656152,037			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ASP

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	7,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	5	1
Soja	12	2,4
Tremoço	13	2,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	312080,327	78020,082	1,243	0,3536
Dentro de grupos	10	627557,073	62755,707		
tratamento	2	128425,732	64212,866	1,029	0,4002
residual	8	499131,341	62391,418		
Total	14	939637,4			

Teste de Friedman 3 Variáveis X TRI

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	1,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	8	1,6
Soja	12	2,4
Tremoço	10	2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	341599,076	85399,769	1,304	0,3329
Dentro de grupos	10	655118,893	65511,889		
tratamento	2	196200,305	98100,153	1,71	0,2408
residual	8	458918,588	57364,823		
Total	14	996717,969			

Teste de Friedman 3 Variáveis X SER

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	3,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	7	1,4
Soja	10	2
Tremoço	13	2,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	9391765,297	2347941,324	0,752	0,5792
Dentro de grupos	10	31240470,84	3124047,084		
tratamento	2	18244636,449	9122318,225	5,616	0,0299
residual	8	12995834,391	1624479,299		
Total	14	40632236,137			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	456326,593	114081,648	1,546	0,2622
Dentro de grupos	10	738060,08	73806,008		
tratamento	2	237943,081	118971,541	1,903	0,2108
residual	8	500116,999	62514,625		
Total	14	1194386,673			

Teste de Friedman 3 Variáveis X PRO

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	3,6

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	7	1,4
Soja	10	2
Tremoço	13	2,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	318788,583	79697,146	1,094	0,4106
Dentro de grupos	10	728260,453	72826,045		
tratamento	2	302813,812	151406,906	2,847	0,1165
residual	8	425446,641	53180,83		
Total	14	1047049,036			

Teste de Friedman 3 Variáveis X GLI

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	4,8

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	6	1,2
Soja	12	2,4
Tremoço	12	2,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	146152,411	36538,103	1,049	0,4298
Dentro de grupos	10	348331,753	34833,175		
tratamento	2	168115,084	84057,542	3,731	0,0716
residual	8	180216,669	22527,084		
Total	14	494484,164			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	69549,337	17387,334	0,418	0,7924
Dentro de grupos	10	416199,62	41619,962		
tratamento	2	272344,929	136172,465	7,573	0,0143
residual	8	143854,691	17981,836		
Total	14	485748,957			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	175158,151	43789,538	0,745	0,5828
Dentro de grupos	10	587604,387	58760,439		
tratamento	2	240717,889	120358,945	2,776	0,1215
residual	8	346886,497	43360,812		
Total	14	762762,537			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	3085,843	771,461	0,175	0,9462
Dentro de grupos	10	44095,707	4409,571		
tratamento	2	21654,817	10827,409	3,86	0,0671
residual	8	22440,889	2805,111		
Total	14	47181,549			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	90766,511	22691,628	0,646	0,6423
Dentro de grupos	10	351344,953	35134,495		
tratamento	2	104778,7	52389,35	1,7	0,2425
residual	8	246566,253	30820,782		
Total	14	442111,464			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ILE

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	5,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	6	1,2
Soja	11	2,2
Tremoço	13	2,6

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	196349,037	49087,259	0,615	0,6617
Dentro de grupos	10	798223,007	79822,301		
tratamento	2	310896,436	155448,218	2,552	0,1389
residual	8	487326,571	60915,821		
Total	14	994572,044			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	55153,317	13788,329	0,657	0,6355
Dentro de grupos	10	209921,78	20992,178		
tratamento	2	32622,961	16311,481	0,736	0,5089
residual	8	177298,819	22162,352		
Total	14	265075,097			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 FEN

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	52095,524	13023,881	0,481	0,7493
Dentro de grupos	10	270536,233	27053,623		
tratamento	2	62191,817	31095,909	1,194	0,3517
residual	8	208344,416	26043,052		
Total	14	322631,757			

Teste de Friedman 3 Variáveis X FEN

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	1,2

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	8	1,6
Soja	11	2,2
Tremoço	11	2,2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	36973,747	9243,437	0,51	0,73
Dentro de grupos	10	181215,387	18121,539		
tratamento	2	100989,569	50494,785	5,035	0,0384
residual	8	80225,817	10028,227		
Total	14	218189,133			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	163193,271	40798,318	1,03	0,4382
Dentro de grupos	10	396179,747	39617,975		
tratamento	2	10414,161	5207,081	0,108	0,8989
residual	8	385765,585	48220,698		
Total	14	559373,017			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	93524,736	23381,184	0,964	0,4683
Dentro de grupos	10	242562,693	24256,269		
tratamento	2	46621,605	23310,803	0,952	0,4258
residual	8	195941,088	24492,636		
Total	14	336087,429			

Teste de Friedman 3 Variáveis X ARG

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	2,8

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	8	1,6
Soja	9	1,8
Tremoço	13	2,6

### ANEXO 3 (experiência 3)

Quadro 76. Características dos animais do ensaio 1: Idade (d), peso vivo (Kg) e GPV (g/d).

	Vitelos					
	A	B	C	D	E	F
<b>Idade (d)</b>						
chegada	8	8	8	8	8	8
início ensaio	57	57	57	57	57	57
final ensaio	99	99	99	99	99	99
<b>Peso vivo (Kg)</b>						
chegada	47	45	47	46	49	43
início ensaio	90	87	90	88	94	87
final ensaio	125	136	138	129	142	139
<b>G.P.V. (kg/d)</b>						
chegada-início	877	857	877	857	918	898
início-final	833	1166	1143	976	1143	1238

Quadro 77. Características dos animais do ensaio 2: Idade (d), peso vivo (Kg) e GPV (g/d).

	Vitelos				
	A	B	C	D	E
<b>Idade (d)</b>					
chegada	8	8	8	8	8
operação	63	61	85	85	85
início ensaio	84	84	100	100	100
final ensaio	126	126	142	142	142
<b>Peso vivo (kg)</b>					
chegada	42	41	47	47	49
operação	89	85	123	119	123
início ensaio	104	101	118	127	124
final ensaio	135	131	147	167	-
<b>G.P.V. (kg/d)</b>					
chegada-início	0,82	0,79	0,93	1,05	0,99
início-final	0,74	0,71	0,69	0,95	-

Quadro 78. Valores individuais do GPV (kg / d) dos animais do ensaio 1.

Testemunha	Dietas	
	Glúten	Batata
1.571	1.571	0.714
1.286	1.286	1.428
1.286	1.143	1.143
1.571	1.857	0.571
1.000	0.140	1.428
1.286	1.000	1.286

Quadro 79. Análise do efeito das dietas no GPV (kg / d).

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GPV

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	0,484	0,097	0,495	0,774
Dentro de grupos	12	2,344	0,195		
tratamento	2	0,179	0,09	0,414	0,6717
residual	10	2,165	0,216		
Total	17	2,828			

Quadro 80. Valores individuais de ingestão de MS / GPV dos animais do ensaio 1.

Testemunha	Dietas	
	Glúten	Batata
1.159	1.408	2.854
1.477	1.653	1.477
1.588	1.232	1.592
1.336	0.980	4.011
2.122	10.223	0.947
1.680	1.896	1.560

Quadro 81. Análise do efeito das dietas na ingestão de MS/GPV.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ingestão de MS/GPV

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	19,044	3,809	0,783	0,5808
Dentro de grupos	12	58,348	4,862		
tratamento	2	5,471	2,735	0,517	0,6112
residual	10	52,877	5,288		
Total	17	77,391			

Teste de Friedman 3 Variáveis X: ingestão de MS / GPV

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	6
Chi-quadrado	1 p = 0,6065

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	10	1,667
Glúten	13	2,167
Batata	13	2,167

Quadro 82. Valores individuais de excreção de fecal (g) dos animais do ensaio 1.

	Dietas		
	Testemunha	Glúten	Batata
	2408	2981	7016
	1584	3229	2697
	3375	3485	3206
	2010	2222	3518
	2436	2465	2420
	1506	4111	3847

Quadro 83. Análise do efeito das dietas na excreção de fezes.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 excreção de fezes

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	6500980,667	1300196,133	0,8	0,5707
Dentro de grupos	12	19509095,333	1625757,944		
tratamento	2	7365612,333	3682806,167	3,033	0,0934
residual	10	12143483	1214348,3		
Total	17	26010076			



Quadro 84. Valores individuais de digestibilidade aparente da MS, MO, N, MG, ENA e MM.

Quadro 84.1. Digestibilidade fecal.

Dietas	MS	MO	N	MG	ENA	MM
Testemunha	0,963	0,965	0,948	0,967	0,973	0,929
Testemunha	0,963	0,970	0,948	0,959	0,986	0,862
Testemunha	0,943	0,948	0,924	0,892	0,984	0,875
Testemunha	0,971	0,974	0,957	0,961	0,988	0,931
Testemunha	0,944	0,952	0,958	0,850	0,993	0,844
Testemunha	0,974	0,978	0,968	0,960	0,991	0,919
Glúten	0,942	0,951	0,936	0,892	0,984	0,826
Glúten	0,928	0,938	0,932	0,839	0,986	0,792
Glúten	0,910	0,921	0,909	0,794	0,983	0,761
Glúten	0,952	0,956	0,938	0,907	0,988	0,888
Glúten	0,934	0,942	0,934	0,847	0,989	0,824
Glúten	0,946	0,951	0,933	0,920	0,973	0,884
Batata	0,915	0,922	0,858	0,885	0,966	0,817
Batata	0,928	0,938	0,926	0,843	0,985	0,788
Batata	0,933	0,940	0,903	0,893	0,977	0,849
Batata	0,939	0,946	0,928	0,878	0,984	0,845
Batata	0,925	0,932	0,896	0,857	0,981	0,831
Batata	0,927	0,934	0,893	0,867	0,981	0,830

Quadro 84.2. Digestibilidade ileal.

Dietas	MS	MO	N	MG	ENA	MM
Testemunha	0,900	0,905	0,931	0,939	0,879	0,830
Testemunha	0,843	0,860	0,898	0,829	0,855	0,604
Testemunha	0,909	0,921	0,920	0,912	0,926	0,742
Testemunha	0,885	0,902	0,904	0,842	0,927	0,654
Testemunha	0,903	0,915	0,907	0,852	0,946	0,729
Glúten	0,896	0,903	0,903	0,876	0,917	0,818
Glúten	0,835	0,850	0,872	0,780	0,873	0,652
Glúten	0,837	0,854	0,859	0,849	0,854	0,636
Glúten	0,894	0,905	0,898	0,864	0,931	0,771
Glúten	0,818	0,834	0,839	0,705	0,900	0,617
Batata	0,752	0,774	0,780	0,628	0,847	0,476
Batata	0,813	0,835	0,823	0,832	0,843	0,537
Batata	0,787	0,810	0,812	0,830	0,799	0,505
Batata	0,867	0,889	0,875	0,847	0,919	0,593
Batata	0,851	0,872	0,874	0,803	0,908	0,605

Quadro 85. Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos nutrientes.

Quadro 85.1. Nível fecal.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	12,964	2,593	0,701	0,6335
Dentro de grupos	12	44,405	3,7		
tratamento	2	34,182	17,091	16,718	0,0006
residual	10	10,223	1,022		
Total	17	57,37			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	9,998	2	0,661	0,6595
Dentro de grupos	12	36,276	3,023		
tratamento	2	27,631	13,815	15,981	0,0008
residual	10	8,645	0,864		
Total	17	46,274			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 N

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	21,051	4,21	0,48	0,7846
Dentro de grupos	12	105,231	8,769		
tratamento	2	75,86	37,93	12,914	0,0017
residual	10	29,371	2,937		
Total	17	126,282			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	131,371	26,274	1,145	0,3894
Dentro de grupos	12	275,334	22,944		
tratamento	2	156,276	78,138	6,563	0,0151
residual	10	119,057	11,906		
Total	17	406,705			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ENA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	3,622	0,724	2,006	0,15
Dentro de grupos	12	4,333	0,361		
tratamento	2	1,471	0,735	2,569	0,1258
residual	10	2,863	0,284		
Total	17	7,955			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MM

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	5	129,092	25,818	1,178	0,3753
Dentro de grupos	12	263,046	21,921		
tratamento	2	171,272	85,636	9,331	0,0052
residual	10	91,774	9,177		
Total	17	392,138			

Quadro 85.2. Nível ideal.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	83,665	20,916	0,933	0,4831
Dentro de grupos	10	224,201	22,42		
tratamento	2	137,588	68,794	6,354	0,0223
residual	8	86,614	10,827		
Total	14	307,867			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	77,428	19,357	1,091	0,4121
Dentro de grupos	10	177,463	17,746		
tratamento	2	103,909	51,955	5,651	0,0295
residual	8	73,553	9,194		
Total	14	254,89			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 N

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	30,479	7,62	0,332	0,8505
Dentro de grupos	10	229,747	22,975		
tratamento	2	156,994	78,497	8,632	0,0101
residual	8	72,753	9,094		
Total	14	260,226			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	393,647	98,412	2,289	0,1314
Dentro de grupos	10	429,847	42,985		
tratamento	2	196,981	98,49	3,384	0,0861
residual	8	232,866	29,108		
Total	14	823,494			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ENA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	117,671	29,418	2,286	0,1318
Dentro de grupos	10	128,691	12,869		
tratamento	2	49,592	24,796	2,508	0,1427
residual	8	79,099	9,887		
Total	14	246,363			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MM

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	315,819	78,955	0,601	0,6704
Dentro de grupos	10	1313,114	131,311		
tratamento	2	880,677	440,338	8,146	0,0118
residual	8	432,438	54,055		
Total	14	1628,933			

Quadro 86.Efeito do nível (fecal ou ileal) na digestibilidade dos nutrientes.

Teste de U Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de U Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Gluten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de U Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MS Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Glúten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MO Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	50	8,333
ileal	5	16	3,2

U	1
U-prime	29
Z	-2,556

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Glúten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : N Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	49	8,167
ileal	5	17	3,4

U	2
U-prime	28
Z	-2,373

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	46	7,667
ileal	5	20	4

U	5
U-prime	25
Z	-1,826

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Glúten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	42	7
ileal	5	24	4,8

U	9
U-prime	21
Z	-1,095

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MG Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	50	8,333
ileal	5	16	3,2

U	1
U-prime	29
Z	-2,556

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Glúten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : ENA Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	5	51	8,5
ileal	6	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MM Testemunha

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MM Glúten

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	48	8
ileal	5	18	3,6

U	3
U-prime	27
Z	-2,191

Teste de *U* Mann-Whitney  $X_1$ : Nível  $Y_1$ : MM Batata

	# Casos	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
fecal	6	51	8,5
ileal	5	15	3

U	0
U-prime	30
Z	-2,739

Quadro 87. Valores individuais de digestibilidade aparente dos ácidos aminados.

Dieta	ASP	TR	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TR	HIS	LIS	ARG	N AA
Testemunha	0,939	0,886	0,931	0,951	0,964	0,871	0,903	0,880	0,951	0,975	0,961	0,969	0,973	0,961	0,949	0,949	0,946
Testemunha	0,915	0,865	0,912	0,912	0,944	0,801	0,881	0,703	0,913	0,978	0,918	0,951	0,953	0,938	0,941	0,934	0,919
Testemunha	0,931	0,867	0,906	0,956	0,949	0,852	0,905	0,878	0,944	0,982	0,949	0,959	0,956	0,957	0,956	0,926	0,939
Testemunha	0,889	0,829	0,892	0,903	0,936	0,731	0,844	0,833	0,907	0,978	0,927	0,939	0,938	0,907	0,929	0,890	0,903
Testemunha	0,926	0,886	0,921	0,885	0,937	0,798	0,890	0,816	0,937	0,975	0,951	0,958	0,962	0,947	0,947	0,934	0,922
Glúten	0,889	0,845	0,916	0,933	0,910	0,838	0,882	0,876	0,924	0,959	0,941	0,944	0,942	0,796	0,814	0,933	0,910
Glúten	0,873	0,817	0,902	0,911	0,921	0,803	0,861	0,788	0,897	0,954	0,925	0,927	0,934	0,902	0,769	0,917	0,899
Glúten	0,831	0,805	0,886	0,881	0,864	0,725	0,831	0,775	0,888	0,953	0,915	0,924	0,919	0,896	0,785	0,906	0,875
Glúten	0,902	0,867	0,930	0,959	0,950	0,867	0,892	0,914	0,933	0,974	0,948	0,953	0,950	0,942	0,854	0,935	0,936
Glúten	0,811	0,790	0,871	0,858	0,843	0,702	0,809	0,782	0,867	0,940	0,903	0,902	0,912	0,874	0,757	0,894	0,857
Batata	0,850	0,838	0,884	0,762	0,841	0,689	0,833	0,631	0,884	0,953	0,899	0,912	0,929	0,869	0,912	0,933	0,859
Batata	0,779	0,800	0,833	0,721	0,824	0,669	0,796	0,594	0,852	0,926	0,875	0,890	0,915	0,854	0,885	0,917	0,828
Batata	0,857	0,828	0,855	0,837	0,839	0,802	0,861	0,644	0,881	0,909	0,894	0,903	0,905	0,884	0,919	0,923	0,871
Batata	0,887	0,883	0,896	0,857	0,902	0,811	0,855	0,775	0,902	0,947	0,917	0,927	0,943	0,912	0,930	0,953	0,900
Batata	0,889	0,865	0,892	0,857	0,920	0,811	0,883	0,767	0,912	0,955	0,922	0,927	0,928	0,907	0,925	0,929	0,898



Quadro 88. Análise do efeito das dietas na digestibilidade dos ácidos aminados.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0029	0,0007	0,2721	0,8894
Dentro de grupos	10	0,0262	0,0026		
tratamento	2	0,0135	0,0068	4,2623	0,0549
residual	8	0,0127	0,0016		
Total	14	0,0291			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0024	0,0006	0,4854	0,7466
Dentro de grupos	10	0,0123	0,0012		
tratamento	2	0,0044	0,0022	2,2466	0,1681
residual	8	0,0079	0,001		
Total	14	0,0147			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,002	0,0005	0,605	0,668
Dentro de grupos	10	0,0082	0,0008		
tratamento	2	0,0043	0,0022	4,3651	0,0523
residual	8	0,0039	0,0005		
Total	14	0,0102			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0061	0,0015	0,2583	0,898
Dentro de grupos	10	0,0588	0,0059		
tratamento	2	0,0394	0,0197	8,1277	0,0118
residual	8	0,0194	0,0024		
Total	14	0,0648			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,003	0,0008	0,287	0,8798
Dentro de grupos	10	0,0288	0,0029		
tratamento	2	0,0166	0,0083	5,4859	0,0316
residual	8	0,0121	0,0015		
Total	14	0,0321			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0047	0,0012	0,211	0,9264
Dentro de grupos	10	0,0555	0,0055		
tratamento	2	0,0074	0,0037	0,6145	0,5646
residual	8	0,0481	0,006		
Total	14	0,0601			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0011	0,0003	0,1939	0,936
Dentro de grupos	10	0,0148	0,0015		
tratamento	2	0,0042	0,0021	1,5944	0,2614
residual	8	0,0106	0,0013		
Total	14	0,0159			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0341	0,0085	0,8708	0,5143
Dentro de grupos	10	0,0979	0,0098		
tratamento	2	0,0674	0,0337	8,8561	0,0094
residual	8	0,0305	0,0038		
Total	14	0,132			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0018	0,0005	0,4666	0,7592
Dentro de grupos	10	0,0098	0,001		
tratamento	2	0,0051	0,0025	4,2889	0,0542
residual	8	0,0047	0,0006		
Total	14	0,0116			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0006	0,0002	0,2918	0,8767
Dentro de grupos	10	0,0055	0,0006		
tratamento	2	0,0039	0,002	9,825	0,007
residual	8	0,0016	0,0002		
Total	14	0,0062			

Teste de Friedman 3 Variáveis X: MET

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	8,4 p = 0,015

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	15	3
Glúten	9	1,8
Batata	6	1,2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0014	0,0004	0,5318	0,7156
Dentro de grupos	10	0,0067	0,0007		
tratamento	2	0,004	0,002	6,0125	0,0255
residual	8	0,0027	0,0003		
Total	14	0,0081			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0007	0,0002	0,2685	0,8916
Dentro de grupos	10	0,007	0,0007		
tratamento	2	0,0047	0,0024	8,3076	0,0112
residual	8	0,0023	0,0003		
Total	14	0,0077			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0009	0,0002	0,4906	0,7431
Dentro de grupos	10	0,0045	0,0005		
tratamento	2	0,0029	0,0014	7,0873	0,0169
residual	8	0,0016	0,0002		
Total	14	0,0054			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0037	0,0009	0,3913	0,8104
Dentro de grupos	10	0,0236	0,0024		
tratamento	2	0,0114	0,0057	3,7231	0,072
residual	8	0,0122	0,0015		
Total	14	0,0273			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0027	0,0007	0,1019	0,9793
Dentro de grupos	10	0,067	0,0067		
tratamento	2	0,0619	0,031	48,9218	0,0001
residual	8	0,0051	0,0006		
Total	14	0,0697			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0008	0,0002	0,5586	0,698
Dentro de grupos	10	0,0036	0,0004		
tratamento	2	0,0005	0,0003	0,6973	0,5258
residual	8	0,0031	0,0004		
Total	14	0,0045			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 NAA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0017	0,0004	0,2958	0,8741
Dentro de grupos	10	0,0144	0,0014		
tratamento	2	0,0075	0,0038	4,3646	0,0523
residual	8	0,0069	0,0009		
Total	14	0,0161			

Quadro 89. Proporções teóricas de proteínas alimentar, endógena e bacteriana que constituem os digesta ileais.

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Dieta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,321	0,139	2,308	0,037
E / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,611	0,145	4,225	0,001

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	4,856	2	2,428	4,626	0,030
Erro	6,823	13	0,525		

Total 11,678 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,416

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Dieta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,121	0,129	0,943	0,362
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Testemunha}}$	0,837	0,137	6,087	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	7,473	2	3,737	11,551	0,001
Erro	4,205	13	0,323		

Total 11,678 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,640

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,655	0,076	8,590	0,000
Cg / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,325	0,073	4,455	0,001

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	11,741	2	5,871	39,898	0,000
Erro	1,913	13	0,147		

Total 13,654 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,860

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,499	0,066	7,583	0,000
Cg / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,477	0,065	7,293	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	11,300	2	5,650	31,196	0,000
Erro	2,354	13	0,181		

Total 13,654 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,828

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,435	0,075	5,787	0,000
Pgt / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,540	0,076	7,073	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	11,182	2	5,591	29,395	0,000
Erro	2,473	13	0,190		

Total 13,654 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,819

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,474	0,093	5,081	0,000
Glu p / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,487	0,094	5,201	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	9,763	2	4,882	16,311	0,000
Erro	3,891	13	0,299		

Total 13,654 15

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0,715

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab > t
MPEB / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,582	0,063	9,176	0,000
Gli / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,389	0,060	6,486	0,000

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	10,825	2	5,412	24,867	0,000
Erro	2,829	13	0,218		
Total	13,654	15			

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0.793

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab. > t
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,658	0,098	6,731	0,000
Glu p / $\sqrt{\text{digesta Gluten}}$	0,316	0,094	3,356	0,005

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	11,064	2	5,532	27,768	0,000
Erro	2,590	13	0,199		
Total	13,654	15			

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0.810

Regressão múltipla.

Variável dependente:  $\sqrt{\text{digesta Batata}}$

Variável	Coefficiente	Erro Standard	t	Probab. > t
Digesta Testemunha / $\sqrt{\text{digesta Batata}}$	0,958	0,106	9,027	0,000
Pb / $\sqrt{\text{digesta Batata}}$	0,015	0,096	0,151	0,882

Fonte	S.Q.	G.L.	Q.M.	Razão - F	Probab. > F
Modelo	8,873	2	4,436	21,209	0,000
Erro	2,719	13	0,209		
Total	11,592	15			

Coefficiente de determinação (R<sup>2</sup>) 0.765

Quadro 90. Valores individuais da composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.

	ASP	TRJ	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TRR	HIS	LIS	ARG
Teseemunha	9.189	9.730	7.077	21.730	6.486	4.649	5.838	3.027	5.730	1.297	3.892	6.054	2.486	2.054	7.568	3.243
Teseemunha	8.245	7.505	5.814	25.581	6.448	4.651	4.651	4.863	6.660	0.740	5.285	6.131	2.854	2.114	5.708	2.748
Teseemunha	9.215	10.128	8.485	17.610	8.029	4.745	5.110	2.737	5.931	0.821	4.471	7.026	3.650	2.007	5.839	4.197
Teseemunha	9.226	8.162	6.104	23.989	6.388	5.394	5.252	2.342	6.104	0.639	4.045	6.671	3.194	2.697	5.891	3.903
Teseemunha	7.330	6.504	5.390	34.208	7.438	4.851	4.420	3.090	4.923	0.862	3.234	5.426	2.372	1.833	5.318	2.803
Gluten	7.088	6.701	5.026	25.387	12.242	5.412	4.124	3.286	4.639	1.031	3.351	5.799	2.771	5.735	4.575	2.835
Gluten	6.883	6.721	4.939	28.745	9.069	5.587	4.130	4.777	5.344	0.972	3.644	6.397	2.672	2.348	4.777	2.996
Gluten	7.383	5.735	4.614	30.521	12.459	6.196	4.021	4.021	4.680	0.791	3.296	5.274	2.637	1.978	3.691	2.703
Gluten	8.803	8.012	5.836	21.563	9.298	6.133	5.242	3.165	5.737	0.890	4.154	6.726	3.363	2.275	4.946	3.858
Gluten	7.147	5.353	4.534	31.581	12.531	5.856	3.936	3.400	4.817	0.822	3.275	5.919	2.487	2.078	3.558	2.645
Batata	10.385	6.077	4.231	27.308	7.692	7.538	4.692	4.615	5.308	0.769	4.000	6.000	2.538	2.231	4.538	2.077
Batata	12.405	6.107	4.962	26.272	6.997	6.489	4.644	4.135	5.534	0.891	4.008	6.107	2.481	2.036	4.835	2.099
Batata	10.809	7.076	5.832	20.840	8.631	5.210	4.277	4.899	5.988	1.477	4.588	7.232	3.732	2.177	4.588	2.644
Batata	10.948	6.172	5.364	23.439	6.760	6.392	5.731	3.968	6.319	1.102	4.629	7.054	2.866	2.131	5.070	2.057
Batata	10.789	7.169	5.576	23.316	5.503	6.445	4.634	4.127	5.720	0.941	4.345	7.024	3.621	2.245	5.431	3.114

Quadro 91. Análise do efeito das dietas na composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais.

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,4455	0,6114	0,1567	0,9555
Dentro de grupos	10	39,0034	3,9003		
tratamento	2	33,8091	16,9045	26,0356	0,0003
residual	8	5,1943	0,6493		
Total	14	41,4488			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	3,7536	0,9384	0,4098	0,7978
Dentro de grupos	10	22,8997	2,29		
tratamento	2	11,9518	5,9759	4,3668	0,0522
residual	8	10,948	1,3685		
Total	14	26,6533			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,6382	0,6595	0,4928	0,7416
Dentro de grupos	10	13,3825	1,3383		
tratamento	2	7,3317	3,6659	4,8468	0,0418
residual	8	6,0508	0,7563		
Total	14	16,0207			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	97,6742	24,4185	1,3586	0,3152
Dentro de grupos	10	179,7283	17,9728		
tratamento	2	33,0359	16,518	0,9008	0,4438
residual	8	146,6924	18,3365		
Total	14	277,4025			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	10,5733	2,6433	0,4056	0,8007
Dentro de grupos	10	65,1724	6,5172		
tratamento	2	55,6218	27,8109	23,2956	0,0005
residual	8	9,5506	1,1938		
Total	14	75,7457			



Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,6539	0,1635	0,1795	0,9438
Dentro de grupos	10	9,1057	0,9106		
tratamento	2	6,1929	3,0965	8,5045	0,0105
residual	8	2,9128	0,3641		
Total	14	9,7596			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2,327	0,5817	2,1051	0,1549
Dentro de grupos	10	2,7636	0,2764		
tratamento	2	1,5083	0,7542	4,8064	0,0426
residual	8	1,2553	0,1569		
Total	14	5,0906			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	3,396	0,849	1,41	0,2995
Dentro de grupos	10	6,0215	0,6021		
tratamento	2	3,2404	1,6202	4,6607	0,0455
residual	8	2,781	0,3476		
Total	14	9,4175			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,8091	0,4523	1,3417	0,3205
Dentro de grupos	10	3,3708	0,3371		
tratamento	2	2,0421	1,0211	6,1478	0,0241
residual	8	1,3287	0,1661		
Total	14	5,1799			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,0834	0,0208	0,3603	0,8314
Dentro de grupos	10	0,5785	0,0579		
tratamento	2	0,0729	0,0365	0,5769	0,5834
residual	8	0,5056	0,0632		
Total	14	0,6619			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,1888	0,2972	0,7958	0,5543
Dentro de grupos	10	3,7349	0,3735		
tratamento	2	1,7014	0,8507	3,3467	0,0879
residual	8	2,0335	0,2542		
Total	14	4,9237			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,4101	0,3525	0,9209	0,489
Dentro de grupos	10	3,8282	0,3828		
tratamento	2	1,1183	0,5591	1,6507	0,2511
residual	8	2,7099	0,3387		
Total	14	5,2383			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,2	0,3	1,5461	0,2621
Dentro de grupos	10	1,9404	0,194		
tratamento	2	0,1712	0,0856	0,387	0,6911
residual	8	1,7692	0,2212		
Total	14	3,1404			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	3,5404	0,8851	0,9884	0,4568
Dentro de grupos	10	8,9545	0,8954		
tratamento	2	1,7791	0,8896	0,9918	0,4123
residual	8	7,1754	0,8969		
Total	14	12,4949			

Teste de Friedman 3 Variáveis X; HIS

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi <sup>2</sup> -quadrado	0,4 p = 0,8187

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	9	1,8
Glúten	11	2,2
Batata	10	2

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1,5512	0,3878	0,3328	0,8498
Dentro de grupos	10	11,6523	1,1652		
tratamento	2	7,9931	3,9965	8,7373	0,0097
residual	8	3,6593	0,4574		
Total	14	13,2035			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	0,9924	0,2481	0,4952	0,74
Dentro de grupos	10	5,0101	0,501		
tratamento	2	2,4511	1,2255	3,8313	0,0681
residual	8	2,559	0,3199		
Total	14	6,0025			

Quadro 92. Composição em ácidos aminados (AA) (% dos AA analisados) dos digesta ileais (média e erro padrão da média).

	Digesta		
	Testemunha	Glúten	Batata
ASP	8,641 ± 0,38	7,461 ± 0,34	11,067 ± 0,35
TRI	8,406 ± 0,68	6,504 ± 0,46	6,520 ± 0,25
SER	6,564 ± 0,55	4,990 ± 0,23	5,193 ± 0,28
GLU	24,624 ± 2,75	27,559 ± 1,83	24,235 ± 1,15
PRO	6,958 ± 0,33	11,120 ± 0,79	7,117 ± 0,52
GLI	4,858 ± 0,14	5,837 ± 0,15	6,415 ± 0,37
ALA	5,054 ± 0,25	4,291 ± 0,24	4,796 ± 0,25
CIS	3,212 ± 0,43	3,730 ± 0,30	4,349 ± 0,18
VAL	5,870 ± 0,28	5,043 ± 0,21	5,774 ± 0,18
MET	0,872 ± 0,11	0,913 ± 0,04	1,036 ± 0,12
ILE	4,185 ± 0,34	3,544 ± 0,17	4,314 ± 0,14
LEU	6,262 ± 0,61	6,023 ± 0,25	6,683 ± 0,26
TIR	2,911 ± 0,23	2,786 ± 0,15	3,048 ± 0,27
HIS	2,141 ± 0,15	2,883 ± 0,72	2,164 ± 0,04
LIS	6,065 ± 0,39	4,309 ± 0,29	4,892 ± 0,16
ARG	3,379 ± 0,29	3,007 ± 0,22	2,398 ± 0,21

Quadro 93. Valores individuais da quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente não digeridos.

Dietas	ASP	TRI	SER	GLU	PRO	GLI	ALA	CIS	VAL	MET	ILE	LEU	TIR	HIS	LIS	ARG
Testemunha	1065,2	1127,9	814,5	2518,8	752,0	538,9	676,7	350,7	664,2	150,5	451,2	701,9	288,3	238,2	877,3	376
Testemunha	1469,0	1337,3	1035,8	4537,7	1148,9	828,7	828,7	866,2	1186,5	131,7	941,6	1092,4	508,6	376,6	1017,0	489,6
Testemunha	1201,2	1320,2	1106,0	2295,5	1046,6	618,5	666,1	356,8	773,1	107,0	582,8	915,9	475,8	261,6	761,1	547,1
Testemunha	1944,9	1720,4	1286,6	5056,7	1346,4	1137,1	1107,2	493,5	1286,6	134,6	852,9	1386,0	673,2	568,4	1241,8	822,8
Testemunha	1372,2	1217,3	1008,9	6403,3	1392,2	908,0	827,2	578,3	921,5	161,4	605,3	1015,6	443,9	343,0	995,4	524,7
Glúten	1470,3	1390,2	1042,6	5266,4	2539,6	1122,8	855,4	681,4	962,5	213,9	695,1	1203,0	574,8	1189,8	949,0	588
Glúten	1680,8	1641,1	1206,1	7019,6	2214,7	1364,3	1008,6	1166,4	1305,1	237,3	889,9	1562,2	652,5	573,3	1166,7	731,8
Glúten	2260,0	1755,5	1412,6	9343,1	3813,9	1896,8	1231,0	1230,6	1432,6	242,3	1009,1	1614,2	807,1	605,5	1130	827,4
Glúten	1295,3	1178,9	858,7	3173,1	1368,1	902,5	771,3	465,6	844,2	130,9	611,3	989,9	494,9	334,7	727,8	567,5
Glúten	2555,2	1898,7	1608,3	11201,8	4445,2	2077,2	1396,2	1205,6	1708,6	312,8	1161,5	2099,7	882,4	737,2	1262,2	938,1
Batata	3650,0	2135,6	1487,0	9597,8	2703,5	2649,6	1649,1	1621,7	1865,7	270,4	1405,6	2108,7	892,2	783,9	1595,2	730,0
Batata	5334,9	2626,2	2134,1	11299,1	3009,5	2790,5	1997,5	1777,9	2380,2	383,2	1723,7	2626,2	1066,8	875,4	2079,3	903,1
Batata	3481,5	2279,1	1878,3	6712,3	2780,1	1677,9	1377,7	1577,2	1928,6	475,9	1477,9	2329,4	1202,0	701,4	1477,9	851,5
Batata	2729,2	1538,6	1337,1	5843,0	1685,1	1593,6	1428,6	988,8	1575,1	274,8	1153,8	1758,4	714,3	531,3	1263,9	512,8
Batata	2712,6	1802,3	1402,0	5862,3	1383,7	1620,4	1165,3	1037,3	1438,2	236,7	1092,5	1766,0	910,3	564,5	1365,4	782,9

Quadro 94. Análise do efeito das dietas na quantidade (mg / kg MS ingerida) de ácidos aminados (AA) aparentemente não digeridos

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ASP

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	1316766,3107	329191,5777	0,1828	0,9421
Dentro de grupos	10	18008551,1867	1800855,1187		
tratamento	2	13183222,4573	6591611,2287	10,9284	0,0052
residual	8	4825328,7293	603166,0912		
Total	14	19325317,4973			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TRI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	311263,564	77815,891	0,3326	0,8499
Dentro de grupos	10	2339491,72	233949,172		
tratamento	2	1401730,276	700865,138	5,979	0,0258
residual	8	937761,444	117220,1805		
Total	14	2650755,284			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 SER

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	322765,2093	80691,3023	0,5176	0,725
Dentro de grupos	10	1558812,14	155881,214		
tratamento	2	942771,5453	471385,7727	6,1215	0,0244
residual	8	616040,5947	77005,0743		
Total	14	1881577,3493			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	20677576,44	5169394,11	0,5433	0,708
Dentro de grupos	10	95155047,1133	9515504,7133		
tratamento	2	38850120,0333	1,9425E7	2,76	0,1226
residual	8	56304927,08	7038115,885		
Total	14	1,1583E8			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 PRO

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	2117369,1	529342,275	0,3702	0,8247
Dentro de grupos	10	14300417,7733	1430041,7773		
tratamento	2	7872343,3973	3936171,6987	4,8987	0,0408
residual	8	6428074,376	803509,297		
Total	14	16417786,8733			

Teste de Friedman 3 Variáveis X: PRO

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	4,8 p = 0,0907

Grupo:	$\Sigma$ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	6	1,2
Glúten	12	2,4
Batata	12	2,4

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 GLI

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	335477,3773	83869,3443	0,1329	0,9666
Dentro de grupos	10	6308412,9	630841,29		
tratamento	2	3974424,5973	1987212,2987	6,8114	0,0187
residual	8	2333988,3027	291748,5378		
Total	14	6643890,2773			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ALA

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	87107,236	21776,809	0,1094	0,9764
Dentro de grupos	10	1990133,58	199013,358		
tratamento	2	1281553,156	640776,578	7,2345	0,0161
residual	8	708580,424	88572,553		
Total	14	2077240,816			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 CIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	623420,3	155855,075	0,6293	0,6526
Dentro de grupos	10	2476533,6133	247653,3613		
tratamento	2	1899435,4973	949717,7487	13,1654	0,0029
residual	8	577098,116	72137,2645		
Total	14	3099953,9133			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 VAL

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	370672,044	92668,011	0,3184	0,8594
Dentro de grupos	10	2910701,2733	291070,1273		
tratamento	2	1973762,7373	986881,3687	8,4264	0,0107
residual	8	936938,536	117117,317		
Total	14	3281373,3173			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 MET

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	16001,9693	4000,4923	0,2993	0,8719
Dentro de grupos	10	133666,9	13366,69		
tratamento	2	91444,8053	45722,4027	8,6632	0,01
residual	8	42222,0947	5277,7618		
Total	14	149668,8693			

Teste de Friedman 3 Variáveis X; MET

G.L.	2
# Grupos	3
# Casos	5
Chi-quadrado	6,4 p = 0,0408

Grupo:	Σ Rank:	Mean Rank:
Testemunha	6	1,2
Glúten	10	2
Batata	14	2,8

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ILE

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	218572,5507	54643,1377	0,329	0,8523
Dentro de grupos	10	1660720,8667	166072,0867		
tratamento	2	1249880,2173	624940,1087	12,169	0,0037
residual	8	410840,6493	51355,0812		
Total	14	1879293,4173			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LEU

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	388317,9933	97079,4983	0,2332	0,9134
Dentro de grupos	10	4162948,16	416294,816		
tratamento	2	3019023,5693	1509511,7847	10,5567	0,0057
residual	8	1143924,5907	142990,5738		
Total	14	4551266,1533			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 TIR

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	115938,8493	28984,7123	0,3721	0,8234
Dentro de grupos	10	778912,46	77891,246		
tratamento	2	578115,8973	289057,9487	11,5165	0,0044
residual	8	200796,5627	25099,5703		
Total	14	894851,3093			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 HIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	120601,7307	30150,4327	0,3774	0,8198
Dentro de grupos	10	798885,1667	79888,5167		
tratamento	2	367748,8653	183874,4327	3,4119	0,0848
residual	8	431136,3013	53892,0377		
Total	14	919486,8973			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 LIS

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	219341,1667	54835,2917	0,3686	0,8258
Dentro de grupos	10	1487856,6133	148785,6613		
tratamento	2	996448,828	498224,414	8,111	0,0119
residual	8	491407,7853	61425,9732		
Total	14	1707197,78			

Análise de variância a um factor com medidas repetidas X1...X3 ARG

Fonte	G.L.	S.Q.	Q.M.	Teste-F	Valor de P
Entre grupos	4	74165,7907	18541,4477	0,5312	0,716
Dentro de grupos	10	349047,6867	34904,7687		
tratamento	2	123573,0013	61786,5007	2,1922	0,1741
residual	8	225474,6853	28184,3357		
Total	14	423213,4773			





