



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**USO DE LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E QUITOSANA EM
SUPLEMENTO PARA BOVINOS A PASTO**

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

Dourados - MS
Fevereiro de 2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**USO DE LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E QUITOSANA EM
SUPLEMENTO PARA BOVINOS A PASTO**

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

Co-orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados, MS
Fevereiro de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586u Silva, Nayara Goncalves Da
Uso de Líquido da Castanha de Caju e Quitosana em Suplemento para Bovinos a Pasto [recurso eletrônico] / Nayara Goncalves Da Silva. -- 2019.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes .
Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra .
Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. aditivos alternativos. 2. biopolímero. 3. suplementação. 4. pastagem. I. Goes, Rafael Henrique De Tonissi E Buschinelli De. II. Gandra, Jefferson Rodrigues. III. Título.

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

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

**USO DE LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E QUITOSANA EM
SUPLEMENTO PARA BOVINOS A PASTO**

por

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

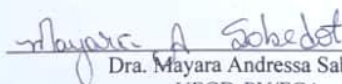
Aprovado em: 26/02/2019



Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Orientador – UFGD/FCA



Dr. Antônio Ferriani Branco
UEM/DZOO



Dra. Mayara Andressa Sabedot
UFGD-PV/FCA

BIOGRAFIA DO AUTOR

Nayara Gonçalves da Silva, filha de Fausto Humberto Silva e Maria Elena Gonçalves Silva, nasceu em 1 de abril de 1990, na cidade de Uberaba-MG. Em fevereiro de 2010 ingressou no curso de Zootecnia pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), graduando-se em fevereiro de 2015. Em abril de 2017 iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 26 de fevereiro de 2019, onde foi bolsista da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (Fundect) desde de 02/01/2018.

*Dedico aos meus amados pais:
Maria Elena e Fausto Humberto*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me concedeu a vida, e que me deu forças para seguir o caminho do aprendizado e do conhecimento.

Aos meus pais (Elena e Fausto) e minha irmã (Fernanda) pelo apoio financeiro e amor incondicional, pela confiança depositada e por sempre estarem ao meu lado.

A todas as minhas amigas de Uberaba que mesmo a quilômetros de distância permaneceram ao meu lado e entenderam meus dias corridos e de ausência, em especial Joyce, Bruna, Camila, Ludmila, Natália, Letícia, Giovana.

A minha amiga Luciana de Maria da Fé, por todo aprendizado, que mesmo tão distante sempre confiou em mim e tanto me motivou.

A minha família de Naviraí, Laura, Edvaldo, Samia, Alessandro, Tio João e Gabriel por todo apoio, força e carinho.

Ao meu professor e orientador Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes pela competência, transmissão de conhecimento e profissionalismo, ao qual admiro muito, obrigada por toda caminhada e paciência.

A professora Kelly Brabes e Mayara Sabedot pela atenção, carinho e pelos conselhos que me guiaram no final da jornada de mestrado.

A todos os professores do programa de pós-graduação em Zootecnia, pelo aprendizado em especial ao Dr Jefferson Rodrigues Gandra pela co-orientação, auxílios e conselhos.

Aos amigos e colegas que me ajudaram de alguma forma e incentivaram durante a minha experiência na pós-graduação, obrigada por me ouvirem, obrigada pelos estudos e obrigada por toda ajuda prática durante minha fase experimental em especial a Renata, Hayne, Flávia, Douglas, Rebeca, Thais, Jamille e Andrei.

Aos integrantes do grupo de estudos em nutrição e produção de ruminantes (Neru), pois sem ajuda de vocês não conseguiria realizar todas as minhas obrigações, vocês foram essenciais, em especial a Raquel que me auxiliou do começo ao fim no meu experimento, e que me ensinou toda prática a campo e laboratorial, serei eternamente grata.

A Prof. Claudia Andréa Lima Cardoso da UEMS pela ajuda na identificação dos compostos do líquido da castanha de caju.

A BioMart Nutrição Animal pela doação da ureia utilizada no experimento.

Aos funcionários do setor de bovinocultura e laboratório por toda ajuda e atenção depositada.

Aos animais que participaram do meu experimento, contribuindo para a minha pesquisa e para o bem da ciência.

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul - Fundect (número do processo 71/700.194/2017) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a todos que torceram para que tudo desse certo na realização do meu projeto e na minha vida profissional.

A todos, muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
CAPÍTULO 1	15
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Suplementação de bovinos a pasto	16
2.2 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos.....	17
2.3 Quitosana.....	18
2.4 Líquido da Castanha de Caju (LCC).....	23
3. OBJETIVO GERAL E HIPÓTESE	25
3.1 Objetivos específicos	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO 2	32
USO DE LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E QUITOSANA EM SUPLEMENTO PARA BOVINOS A PASTO	32
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS	35
2.1 Local, animais e tratamentos	35
2.2 Disponibilidade de forragem.....	36
2.3 Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total	37
2.4 Fermentação ruminal	37
2.5 Síntese de proteína microbiana	38
2.6 Metabolismo da ureia e creatinina	39
2.7 Forragem consumida pelos animais	40
2.8 Cálculos e análise estatística	40
3. RESULTADOS	41
4. DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÃO	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e valor nutricional dos ingredientes da suplementação experimental.....	53
Tabela 2. Disponibilidade e características morfológicas da forragem (<i>Urochloa brizantha</i> , syn. <i>Brachiaria brizantha</i>).....	53
Tabela 3. Composição química da forragem (<i>Urochloa brizantha</i> , syn. <i>Brachiaria brizantha</i>) ingerida pelos animais (extrusa).....	54
Tabela 4. Médias de ingestão e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.	55
Tabela 5. Parâmetros de fermentação ruminal em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.....	56
Tabela 6. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais...	57
Tabela 7. Valores médios do balanço de nitrogênio em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.	58
Tabela 8. Valores médios para concentração de uréia e creatinina na urina, concentração de ureia e creatinina sanguínea, excreção de uréia e creatinina na urina, excreção de creatinina, ureia e creatinina plasmática, excreção fracional de ureia.	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas de celulose, quitina e quitosana (Adaptado de Ravi Kumar, 2000)	19
Figura 2. Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina.....	20
Figura 3. Esquema da desacetilação da quitina, que origina a quitosana.....	20
Figura 4. Principais constituintes do líquido da casca da castanha de caju.....	24
Figura 5. Valores médios de pH ruminal de novilhos suplementados com quitosana e líquido de castanha de caju em função dos tempos de coleta	42
Figura 6. Valores médios de NH ₃ (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana em função do tempo de coleta.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC - Association Of Analytical Chemists
BN - Balanço de Compostos Nitrogenados
CHODR - Carboidratos degradados no rúmen
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento
CON - Controle
CZ - Cinza
DP - Derivados de Purina
FDN - Fibra em detergente neutro
FDA - Fibra em detergente ácido
HCl - Ácido Clorídrico
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LCC - Líquido de Castanha de Caju
LCCt - Líquido de Castanha de Caju técnico
MM - Matéria Mineral
MO - Matéria Orgânica
MS - Matéria Seca
NaOH - Hidróxido de Sódio
NAR - Nitrogênio amoniacal do líquido ruminal
NBE - Nitrogênio endógeno basal
NDT - Nutrientes digestíveis totais
NRC - National Research Council
Nret - Nitrogênio retido
PB - Proteína Bruta
PC - Peso Corporal
QUI - Quitosana
SM - Suplemento mineral
SUP - Suplemento proteico
TiO₂ - Dióxido de titânio

RESUMO

SILVA, Nayara Gonçalves, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados MS, outubro de 2018. **Uso do líquido da castanha de caju e quitosana em suplemento para bovinos a pasto.** Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

A pesquisa propôs avaliar a adição do Líquido da Castanha de Caju (LCC) e Quitosana como aditivos naturais para bovinos suplementados a pasto. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 300 kg, distribuídos aleatoriamente em delineamento em quadrado latino 5x5 e mantidos em piquetes individuais de *Urochloa brizantha*, suplementados na proporção de 0,4% do peso corporal com um suplemento contendo proteína bruta. As dietas experimentais fornecidas foram: 1) Suplementação mineral (Controle); 2) Suplementação proteica; 3) Suplementação proteica com adição de quitosana na dosagem de 900mg/Kg de MS; 4) Suplementação proteica com adição de LCC, na dosagem de 600mg/kg de MS; e 5) Suplementação proteica, com adição de quitosana mais LCC (900mg + 600mg/ kg de MS). Os animais suplementados com LCCt apresentaram menor consumo de pasto, MS e PB em relação aos animais que receberam apenas suplementação. Os novilhos suplementados com LCCt*QUIT apresentaram maior consumo de suplemento ($P = 0,004$) e proporcionou maior consumo de PB (1,015 kg/dia). A inclusão de quitosana na dieta levou a uma redução ($P < 0,05$) na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato ($P < 0,03$). Os animais que receberam LCCt em sua dieta apresentaram maiores valores sobre síntese de nitrogênio e proteína microbiana ($P = 0,004$). A associação dos aditivos nas dosagens de 900mg + 600mg/kg promoveu maior consumo de nitrogênio ($P = 0,126$) e balanço de nitrogênio ($P = 0,201$). O líquido da castanha de caju mostrou-se eficiente sobre a digestibilidade e síntese de proteína microbiana dos animais. A associação dos aditivos promoveu maior consumo de suplemento e balanço de nitrogênio. A inclusão de quitosana na dieta levou a uma redução na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato.

Palavras-Chave: aditivos alternativos, biopolímero, suplementação

ABSTRACT

SILVA, Nayara Gonçalves, Federal University, Dourados MS, October 2018. **Cashew liquid and chitosan as additives for cattle supplemented to pasture.** Advisor: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co- Advisor: Jefferson Rodrigues Gandra

The research proposed to evaluate the addition of Cashew Nut Liquid (LCC) and Chitosan as natural additives for pasture supplemented cattle. Five (5) rumen cannulated crossbred steers with an average weight of 300 kg were randomly distributed in a 5x5 Latin square design and kept in individual paddocks of *Urochloa brizantha*, supplemented with 0.4% of body weight with a supplement containing crude protein. The experimental diets provided were: 1) Mineral supplementation (Control); 2) protein supplementation; 3) Protein supplementation with addition of chitosan in the dosage of 900mg / kg DM; 4) Protein supplementation with the addition of LCC, at a dosage of 600mg / kg DM; and 5) Protein supplementation with the addition of chitosan plus LCC (900mg + 600mg / kg DM). The animals supplemented with CCT presented lower consumption of pasture, DM and CP compared to animals that received only supplementation. The steers supplemented with CCT * QUIT presented higher supplement intake ($P = 0.004$) and higher CP intake (1.015 kg / day). Inclusion of chitosan in the diet led to a reduction ($P < 0.05$) in the acetate molar concentration and a higher propionate production ($P < 0.03$). The animals that received CCT in their diet had higher values on nitrogen synthesis and microbial protein ($P = 0.004$). The association of additives at dosages of 900mg + 600mg / kg promoted higher nitrogen consumption ($P = 0.126$) and nitrogen balance ($P = 0.201$). The cashew nut liquid was efficient on the digestibility and synthesis of microbial protein of the animals. The association of additives promoted higher supplement intake and nitrogen balance. Inclusion of chitosan in the diet led to a reduction in molar acetate concentration and a higher production of propionate.

Keywords: alternative additives, biopolymer, supplementation

CAPÍTULO 1

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O cenário da pecuária brasileira nos últimos anos, tanto interno quanto externo, vem demonstrando grande importância na produção de alimentos de alta qualidade. Diante desta questão, o maior percentual nos custos de produção e mercados consumidores exigentes, estão recebendo cada vez mais atenção. Com isto, melhorias na genética animal, manejo e especialmente a nutrição entram como alternativas para atender as barreiras sociais e os desafios econômicos.

Uma das estratégias utilizadas dentro da nutrição animal é a inclusão de aditivos na dieta de animais ruminantes com o objetivo de melhorar o aproveitamento de nutrientes ingeridos através da modulação da fermentação ruminal e otimização dos processos digestivos. A utilização destes produtos tem como objetivo prevenir doenças e atuar na microbiota ruminal através da seleção de bactérias, maximizando a eficiência da produção animal. Os aditivos mais utilizados atualmente, são em sua maioria substâncias com atividades antimicrobianas, tendo destaque os ionóforos (CALSAMIGLIA et al., 2007). Entretanto, em 1999 a Regulamentação 1831/2003/EC da União Européia (UE) banuiu o uso destes:

“O Comité Científico Diretor declarou no seu parecer: «relativamente à utilização de agentes antimicrobianos como agentes promotores de crescimento, a utilização de agentes de classes que sejam ou possam ser utilizados em medicina humana ou veterinária (ou seja, onde exista o risco de seleção de resistência cruzada a medicamentos usados para tratar infecções bacterianas) deve ser descontinuada o quanto antes e finalmente abolida. O segundo parecer do Comité Científico Diretor sobre a resistência antimicrobiana, adoptado em 10 e 11 de maio de 2001, confirmou a necessidade de dispor de tempo suficiente para substituir os antimicrobianos por produtos alternativos: «Assim, o processo de eliminação deve ser planeado e coordenado desde as acções precipitadas poderia ter repercussões na saúde animal”.

Em 2006, a fim de proteger a saúde humana, a saúde animal e o ambiente, o uso dos aditivos ionóforos foram devidamente proibidos. Diante destas barreiras, a inclusão de aditivos alternativos com efeitos similares aos ionóforos tem-se intensificado.

Nos últimos anos a Quitosana é estudada como um aditivo natural favorecendo a flora ruminal, e a digestão dos alimentos ingeridos. Segundo Goiri et al, (2009) a quitosana pode ser incluída na dieta animal, com o intuito de manipular o ambiente ruminal e consequentemente fornecer rotas energéticas mais eficientes devido a sua ação

semelhante aos aditivos já utilizados, obtendo resultados promissores. Outro aditivo que vem sendo citado na literatura são os óleos funcionais, considerado um produto natural extraído principalmente de plantas oleaginosas, constituídos por triglicerídeos, com uma alta quantidade de ácidos graxos insaturados. O líquido da castanha de caju (LCC) está dentro da classe de óleos funcionais, podendo atuar como um aditivo natural na dieta de ruminantes (DIAZ et al., 2015).

Contudo, apesar de apontarem vários benefícios, as recomendações e doses diárias para a máxima ação da quitosana e LCC se apresentam insuficientes na literatura, havendo a necessidade de maiores pesquisas relacionando níveis ideais e os benefícios que podem trazer na nutrição de ruminantes.

Portanto, objetivou-se avaliar a associação destes aditivos naturais para bovinos a pasto com a intenção de atuar na eficiência e conversão alimentar, melhorando a produção animal e atendendo as exigências dos mercados consumidores.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Suplementação de bovinos a pasto

No Brasil, a bovinocultura tem a maior parte de sua produção alcançados em sistemas de pastejo. A criação de bovino é fortemente reconhecida devido ao baixo custo de produção em comparação a outros sistemas implantados. Pastagens bem manejadas fornecem diariamente aos animais um alimento de boa qualidade, atendendo os seus requisitos nutricionais de forma econômica.

Contudo, as mudanças climáticas que ocorrem ao longo do ano afetam a forragem em termos qualitativos e quantitativos (COUTINHO et al., 2005). Sendo assim, em determinadas épocas, devido a insuficiência produtiva das pastagens torna-se necessário o fornecimento de suplementação a fim de adequar os níveis deficientes de nutrientes na forragem, para atender às exigências dos animais.

O fornecimento da suplementação dentro de um sistema de produção a pasto abastece fontes adicionais de nutrientes influenciando no consumo de forragem, na disponibilidade de energia dietética, e também no desempenho animal. (PAULINO et al., 2010). Sendo que para os nutricionistas alcançarem resultados positivos é preciso decidir todos os parâmetros adequados de uma dieta, como a utilização do aditivo e níveis adequados de nutrientes.

De acordo com as variações do ano a qualidade da forrageira é afetada, sendo

necessário ajustes nutricionais proteicos e energéticos. De acordo com Figueiras et al (2015), a suplementação proteica no período de transição seca-águas, para bovinos mantidos a pasto pode ser uma opção favorável, ampliando o consumo voluntário total, sendo que a ampliação no balanço de compostos nitrogenados e a eficiência de uso do nitrogênio são influenciados pela inclusão da suplementação.

No período de transição seca-águas as folhas jovens em meio a forragem seca possuem um maior degradabilidade ruminal, afetando a taxa de passagem do alimento. Assim, embora as deficiências nutricionais nestes períodos sejam relacionadas principalmente à proteína, a mudança de estação seca para chuvosa altera o enfoque dado a esta deficiência, transformando-a de dietética em metabólica (DETMANN et al., 2005a).

O fornecimento correto das exigências proteicas metabolizáveis é considerado primordial em sistemas de produção a pasto, e assim a necessidade de entender o fluxo de compostos nitrogenados no metabolismo animal, beneficiando as interações com alimentos e nutrientes suplementares (DETMANN et al., 2005b).

Nesse contexto, estratégias de suplementação proteica devem promover um ajuste nutricional entre a pastagem e a demanda dos bovinos em pastejo, apontando melhorias na utilização das forragens e melhorando o desempenho do animal.

2.2 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos

A nutrição sempre foi um grande desafio na produção animal, sendo que os custos com a alimentação têm uma grande representatividade dentro do sistema de produção. Os pesquisadores buscam cada vez mais inovações relacionadas a eficiência nos processos fisiológicos dos ruminantes sobre utilização dos nutrientes da dieta.

A otimização da produção, visa melhorar a manipulação e fermentação ruminal realizada pelos microrganismos do rúmen, inserindo alternativas viáveis na alimentação destes animais, obtendo uma maior lucratividade. Neste contexto, a utilização de aditivos entra como uma forma de melhorar a eficácia na utilização de nutrientes da dieta, através do aumento da eficiência energética e uma melhor utilização da proteína por parte do animal, evitando também distúrbios no ambiente ruminal.

De acordo com a Instrução Normativa nº 13/04 (alterada pela Instrução Normativa nº 44/15) o termo aditivo refere-se a:

“Produtos destinados à alimentação animal, sendo substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos

destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais”.

Os aditivos ionofóros melhoradores de desempenho e anticoccidianos autorizados pelo Ministério do Abastecimento da Agricultura e Pecuária (MAPA) são: monensina, lasalocida e salinomicina. Estes aditivos conseguem transportar íons através das membranas lipídicas e possuem capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions, inibindo a ação de microrganismos gram-positivos, reduzindo a produção de ácido láctico e controlando a acidose ruminal (NAGAJARA e TAYLOR, 1987).

De acordo com McGuffey et al (2001), os ionóforos são produzidos especialmente por bactérias do gênero *Streptomyces*, utilizados especialmente na indústria de aves, com a intenção de controlar a coccidiose sendo aprovada sua utilização em 1971. A Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos confirmou a sua utilização em 1975 como promotor de crescimento de bovinos confinados (MCGUFFEY et al., 2001).

No entanto a utilização destes aditivos sofreu algumas restrições frente as barreiras sociais ligadas a segurança alimentar, buscando-se nos últimos anos o emprego de compostos naturais.

2.3 Quitosana

A quitosana é considerada um biopolímero natural do tipo polissacarídeo, derivado da quitina e essencial para obtenção de pesquisas em vários campos de estudos. Há muitos anos este produto vem sendo explorado ganhando cada vez mais atenção, por se tratar de um produto natural biodegradável, abundante e não tóxico.

Em 1811 o professor francês Henri Braconnot identificou a quitina pela primeira vez (ROBERTS, 1992). Em seus estudos pode observar que nas paredes celulares de plantas haviam substâncias análogas a encontradas em determinados fungos, com isto surgiu uma nova descoberta. Em 1823 uma substância de caráter insolúvel foi encontrada em carapaças de insetos, ganhando o nome de quitina, de origem grega da palavra “*chiton*”, que significa túnica, envelope ou cobertura. Com isto foram surgindo estudos relacionados as substâncias presentes no exoesqueleto de crustáceos e fungos.

A quitosana foi originada por Rouget em 1859, através de um método de desacetilação da quitina usando uma solução concentrada de hidróxido de sódio. O potencial de aplicação da quitina começou a se ampliar por volta de 1970. O Japão foi um dos primeiros países a industrializar a quitosana em 1971, com o passar dos anos o país já possuía quinze indústrias produzindo quitina e quitosana (HIRANO, 1989).

A quitina (N-acetil-2-dioxi-D-glicopiranoose, interligadas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4)), é sintetizado por um enorme número de organismos vivos, seguido da celulose é o polímero mais abundante na natureza (Figura 1). A formação da quitina se dá por microfibrilas cristalinas ordenadas que compõem as estruturas nas paredes celulares de fungos e leveduras ou no exoesqueleto de artrópodes (RINAUDO, 2006). Estruturalmente a quitina e quitosana possuem uma estrutura molecular quimicamente similar à celulose, diferenciando-se apenas, os grupos acetilados (NHC₂H₅) e amino (NH₂) da quitina e quitosana respectivamente (Figura 1).

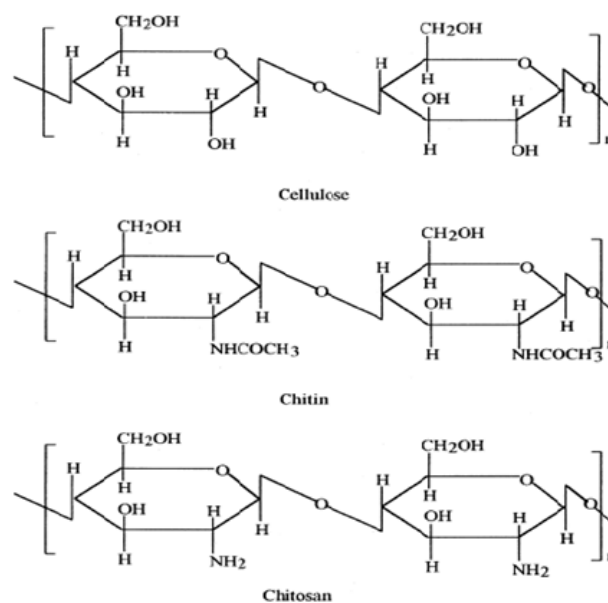


Figura 1. Estruturas de celulose, quitina e quitosana (Adaptado de Ravi Kumar, 2000)

A obtenção da quitina se dá por diversas formas, e isso dependerá da fonte do material que for extraída. Os diversos tipos estão relacionados com a orientação das cadeias poliméricas, de acordo com a posição de cada arranjo podemos definir as características do composto (Figura 2). O arranjo antiparalelo (α -quitina), é a forma mais abundosa e estável, presente na cutícula dos artrópodes. Já os arranjos paralelos ou misto (duas cadeias acima para cada cadeia abaixo) como o β -quitina e γ -quitina respectivamente, podem ser achadas em lulas e algas microscópicas, facilmente modificadas em quitina (JAWORSKA et al., 2003).

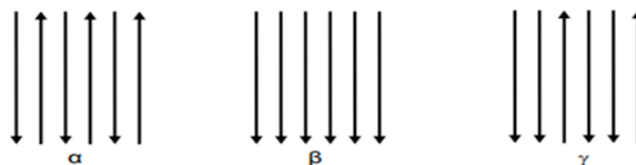


Figura 2. Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina.

As principais fontes para a obtenção de quitina em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos, como caranguejos e camarões. A remoção das proteínas e desacetilação da quitina, pode ocorrer através de uma solução alcalina (por exemplo, solução de hidróxido de sódio - NaOH), nesta reação os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) são convertidos em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem a quitosana (YOUNES e RINAUDO, 2015). No processamento de cascas de crustáceos, é realizado a retirada de proteínas e a dissolução do carbonato de cálcio (RAVI KUMAR, 2000) (Figura 3).

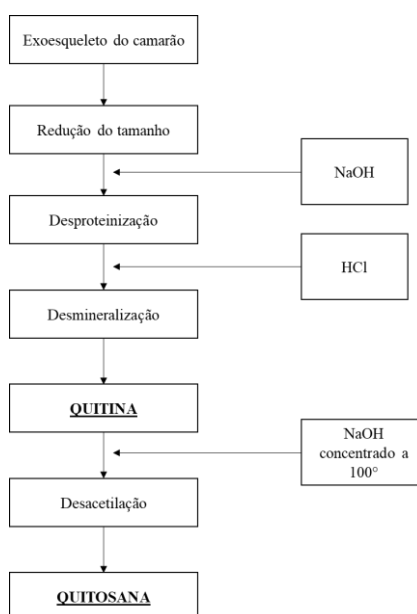


Figura 3. Esquema da desacetilação da quitina, que origina a quitosana (Adaptado de Streit, 2004).

De acordo com Muzzarelli (1997), a quitosana é considerada um composto biodegradável, decorrente da metabolização de enzimas, sobretudo a lisozima. Apesar da quitosana ser um composto insolúvel em meios neutros e básicos, pode-se tornar solúvel através da presença de grupos amino livres protonados ($-\text{NH}_3^+$) na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6,5, desenvolvendo um polímero catiônico (KRAJEWSKA, 2004).

Os grupos amino livres são protonados e a molécula se torna solúvel, ou seja, quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água (SHI et al., 2006; SANTOS et al., 2003).

A quitosana é um produto que oferece propriedades promissoras no seu emprego, podendo alcançar uma extensa variedade de produtos e aplicações. A utilização destes materiais pode também diminuir o seu impacto ao meio ambiente, devido ao excesso de carapaças de crustáceos descartadas serem consideradas poluentes. Além disso, sua molécula possui flexibilidade química, permitindo um perfil biológico ótimo. (KEAN e THANOU, 2010). Sendo assim este biopolímero pode ser aplicado em setores como: agricultura, farmacêutico, cosmética, biomédica, tratamento de poluentes industriais, setor alimentício, entre outros (RINAUDO, 2006).

O potencial antibacteriano da quitosana, considerado uma de suas funções, foi descoberto pela primeira vez por Allan e Hardwiger (1979). Através dos estudos pertinentes que foram surgindo com a utilização da quitosana, pesquisas relacionadas com os benefícios que este produto poderia trazer a saúde animal começaram a aparecer. Fadel El-Seed et al (2003), relataram um dos primeiros estudos que avaliou a digestão e degradação da quitosana em animais ruminantes, chegando à conclusão que a quitosana não sofre degradação no rúmen, tornando provável sua digestão no intestino delgado.

Contudo, Goiri et al (2009a), trabalhando com quitosana observou que a sua inclusão na dieta de ruminantes obteve efeitos sobre alguns parâmetros fermentativos no rúmen, indicando-a como um possível modulador ruminal por apresentar atividade antibacteriana. A sua ação contra microrganismos ruminais, está relacionado com a seleção de bactérias, de acordo com Helander et al (1998), o seu modo de ação está ligado à interação e a ruptura da estrutura da parede/membrana celular da bactéria com a quitosana.

Os estudos conexos com a utilização da quitosana na dieta de ruminantes relacionam sua similaridade à ação de aditivos já fornecidos na alimentação animal. De acordo com Austic e Smith (1908), os antimicrobianos ionóforos possuem um radical carboxílico, que permitem a difusão de íons através de barreiras lipídicas, como as membranas celulares.

O mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana está caracterizado em algumas suposições, sendo que a mudança na permeabilidade da membrana celular causado pelo transporte de íons através da mesma é considerado o mais característico. A interação da quitosana com as bactérias gram negativas se dá através da superfície da membrana celular (lipopolissacarídea), e com a mesma ação na fração peptidoglicana das bactérias gram positivas, sendo as duas aniônicas. De acordo com alguns estudos as bactérias gram positivas apresentam maior susceptibilidade do que as bactérias gram negativas (WANG, 1992; NO et al., 2002; SENEL et al., 2004).

Em estudos mais recentes Goiri et al (2009a), empregando a silagem de milho como volumoso avaliaram a utilização de diferentes especificações da quitosana sobre a digestão ruminal *in vitro*, observou-se que a quitosana alterou a digestão ruminal, reduzindo a digestibilidade da matéria orgânica e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta. Observou um aumento na concentração de propionato e redução na concentração de acetato. Goiri et al (2009b), também avaliaram os efeitos da quitosana na digestibilidade aparente, fermentação ruminal e cecal em ovinos fistulados no rúmen e não observaram efeito da quitosana na proporção molar de acetato, porém houve aumento da proporção molar de propionato e redução da relação acetato/propionato e na concentração de N-NH₃.

Utilizando diferentes doses de quitosana (50, 100 e 150 mg / kg de PC), Mingoti et al (2016) investigou seus efeitos sobre a ingestão de matéria seca, digestibilidade dos nutrientes, de vacas em lactação, apontando que a adição de quitosana não afetou o consumo de matéria seca, mas aumentou a digestibilidade de PB sem afetar o desempenho produtivo dos animais.

Em estudo realizado por Vendramine et al (2016), para determinar os efeitos de óleos essenciais, monensina e quitosana sobre a ingestão e digestibilidade de nutrientes, utilização de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, fermentação ruminal e perfil sanguíneo de vacas Holandesas, conclui-se que os aditivos alimentares avaliados não influenciaram ($P < 0,05$) a ingestão dos nutrientes, sendo que vacas alimentadas com quitosana apresentaram maiores valores de digestibilidade da MS.

Araújo et al (2015) utilizaram novilhos de corte, e relataram que a quitosana pode ser utilizada como um modulador da fermentação ruminal, por sua capacidade de melhorar a digestibilidade dos nutrientes e as concentrações de propionato

Dias et al (2017), trabalhando com novilhos em pastejo teve como objetivo determinar a influência de doses crescentes de quitosana sobre a ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total, parâmetros de fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, utilização de nitrogênio e metabolismo da ureia e creatinina. As diferentes doses do aditivo afetaram positivamente o consumo e a digestibilidade aparente da MS, assim como a concentração de propionato e a síntese de proteína microbiana em novilhos.

Segundo a maior parte dos autores, a quitosana traz características e ações promissoras a nutrição animal, podendo ser utilizada como uma fonte de aditivo alternativo, otimizando a eficiência alimentar em ruminantes e trazendo vantagens no ponto de vista

econômico devido a sua abundante matéria prima, com isto a necessidade de pesquisas se tornam cada vez mais necessárias com objetivo de melhorias na produção animal.

2.4 Líquido da Castanha de Caju (LCC)

No bioma brasileiro há várias espécies nativas que produzem frutos, com características importantes e ricas propriedades nutricionais e funcionais, servindo como renda familiar e utilização em vários ramos industriais (ALMEIDA, 1998). Dentre estes frutos estão o caju, que possui um amplo aproveitamento, como a castanha e a casca. O Brasil é considerado um dos grandes produtores de castanha de caju, sendo disseminado por todo seu território com maior concentração no Nordeste. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento, o Ceará é o principal produtor do país, devendo participar em 2018 no ranking produtivo com 61,5% do total nacional (IBGE, 2018; CONAB, 2017). O caju é um pedúnculo superdesenvolvido (pseudofruto) e a castanha de caju proveniente do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é considerada um fruto, e tem em sua estrutura a presença do líquido da castanha de caju (LCC), de cor preta, cáustico e inflamável, sendo obtido como coproduto (MAZZETTO et al., 2009). O líquido extraído da casca da castanha de caju é considerado um óleo funcional devido suas funções, além de aporte energético e características seletivas no organismo, representando 25% do peso da castanha. (MURAMAKI et al., 2009; ROBERFROID, 2000).

Óleos funcionais são metabólitos secundários dos organismos vegetais, obtidos através da destilação a vapor ou extração com solventes (PATRA e SAXENA, 2010). Os extrativos das plantas possuem propriedade aromáticas, antissépticas e conservantes, estimulando o seu emprego em diversas pesquisas. Neste contexto vários autores descrevem a sua possível utilização como aditivos alternativos na nutrição animal, desencadeado pela sua ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antifúngica, devido aos compostos secundários existentes nos óleos funcionais (BENCHAAR et al., 2008; CALSAMIGLIA et al., 2007; RASOOLI & ABYANEH, 2004).

No processo de obtenção da amêndoa, é isolado o LCC técnico, resultado da extração térmico-mecânica ou por solvente, que pode ser utilizado como matéria-prima na fabricação de inseticidas, germicidas, tinta entre outros. (LUBI e THACHIL, 2000; MITCHELL e MORI, 1987). Já o LCC natural obtido da extração a frio com prensa é considerado uma fonte rica de lipídios fenólicos não-isoprenóides e formado por uma combinação de quatro constituintes: ácidos anacárdicos (60-65%), cardóis (15-20%), cardanóis (10%) e metilcardóis (figura 4), (KUMAR et al., 2002). O LCC técnico possui

especialmente cardanol e cardol, sendo considerados menos potentes que o ácido anacárdico, e assim uma menor ação contra microrganismos (MAZZETTO et al., 2009).

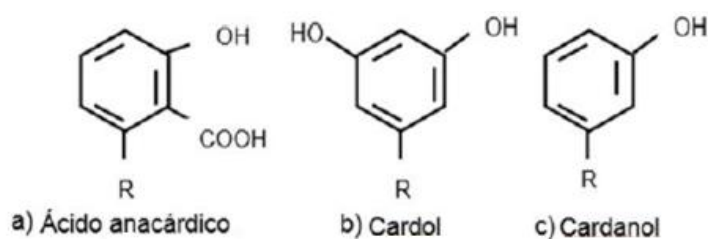


Figura 4. Principais constituintes do líquido da casca da castanha de caju (Adaptado de Oliveira et al., 2011)

Os componentes do LCC conseguem atravessar as membranas das células microbianas, isto devido aos grupos aromáticos e alifáticos que possuem em sua estrutura, possuindo características hidrofílicas e lipofílicas (CORREIA et al., 2006). A atividade antibacteriana do LCC, contra bactérias ruminais principalmente gram positivas está relacionada ao rompimento dos lipídios da membrana celular bacteriana, tornando-a mais permeável e levando ao extravasamento de íons e conteúdos citoplasmáticos, havendo maior perda de energia para manter o gradiente iônico, resultando uma menor multiplicação de microrganismos ou até a morte (MAZZETTO et al., 2009; BENCHAAAR et al., 2008). As bactérias gram negativas são mais resistentes as ações destes compostos, pois a sua camada externa é composta por lipopolissacarídeos (dupla camada celular), o que a torna mais eficaz contra a ação de várias substâncias hidrofóbicas (RUSSELL e STROBEL, 1989).

A redução de bactérias gram positivas como por exemplo as *Streptococcus bovis* podem levar a redução de acidose láctica e timpanismo, beneficiando assim as bactérias gram negativas (*Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*) produtoras de propionato, podendo melhorar a eficiência nos processos fermentativos (WATANABE et al., 2010; NAGAJARA e TITGEMEYER, 2007).

Os extratos de óleos são compostos por uma grande quantidade de substâncias químicas, sendo assim a sua ação contra microrganismos pode ocorrer de diversas formas, não podendo ser levada em consideração um mecanismo de ação único e específico, ocorrendo sinergia entre os mecanismos encontrados em diversos metabólitos (BAKKALI et al., 2008; CARSON et al., 2002). Os extratos vegetais possuem princípios ativos similares aos aditivos ionóforos, conexos a membrana celular como no transporte

de elétrons e gradiente de íons, translocação de proteínas, fosforilação (DORMAN e DEANS, 2000; ULTEE et al., 1999).

De acordo com Jesus et al (2016), que tiveram como hipótese a substituição do óleo funcional pela monensina, descreveram que o LCC em mistura com o óleo de mamona não influenciou no consumo e na digestibilidade dos nutrientes, porém deslocou a fermentação ruminal para rotas energeticamente mais eficientes, aumentando a produção de propionato e redução na concentração de ureia no sangue.

Martins et al (2015), utilizando vacas no terço médio de lactação, recebendo 58% de silagem de milho e 42% de concentrado, com dietas compostas por: controle sem aditivos; 0,5 g/kg da MS de óleo funcional e 30 mg/kg da MS de monensina, puderam observar que os animais alimentados com dieta contendo o óleo funcional tiveram aumento no consumo de matéria seca e proteína em relação as demais dietas.

Osmari et al (2017), trabalhando com novilhos da raça Holandesa alimentados com dietas ricas em grão e diferentes dosagens de LCC observaram que o aditivo não afetou ingestão e digestibilidade total dos nutrientes, porém o LCC aumentou o pH ruminal.

Neste sentido os estudos relacionados a utilização de aditivos alternativos na alimentação de ruminantes têm ganhado maior atenção nos últimos anos, buscando princípios ativos que possam substituir os ionóforos. Os óleos funcionais vêm se mostrando uma opção na alimentação animal, havendo a necessidade de estudos com bovinocultura de corte, sendo que até o momento o número de trabalhos se apresenta escassos.

3. OBJETIVO GERAL E HIPÓTESE

Avaliar a adição do Líquido da Castanha de Caju (LCC) e da quitosana como aditivos naturais para bovinos suplementado a pasto.

A hipótese avaliada neste estudo é que a inclusão de aditivos nas dietas experimentais mostre efeito positivo nas variáveis de consumo, digestibilidade, parâmetros de fermentação ruminal, balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana entre os tratamentos.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar o consumo de matéria seca e a digestibilidade de nutrientes de bovinos mantidos a pasto recebendo Líquido da Castanha de Caju (LCC) e quitosana (QUI), como aditivos.

- Avaliar os parâmetros de fermentação ruminal de bovinos mantidos a pasto recebendo Líquido da Castanha de Caju e quitosana, como aditivos.
- Avaliar o balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana.
- Avaliar e determinar a viabilidade do uso do Líquido da Castanha de Caju e da quitosana em associação, como aditivos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, C. R.; HADWIGER, L. A. 1979. The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying in cell wall composition. **Experimental Micology**, v. 3, p. 285-287, 1979.
- ALMEIDA, S. P. 1998. Frutas nativas do Cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes **Cerrado, Ambiente e Flora**. Embrapa, p. 244-285, 1998.
- ARAÚJO, A.P.; VENTURELLI, B.C.; SANTOS, M.C.B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N.R.B.; CALOMENI, G.D.; FREITAS, J.E.; BARLETTA, R.V.; GANDRA, J.R.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F.P.; 2015. Chitosan affects total nutriente digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Anim. Feed Sci. Technol.** v. 206, p. 114-118.
- AUSTIC, R.E.; SMITH, J.B. 1908. Interaction of ionophores with nutrientes. In: **Georgia Nutrition Conference**. Athens. Proceedings... Athens: The University of Georgia. G.A. 2-10.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. 2008. Biological effects of essential oils - a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; FRASER, G.R.; COLOMBATTO, D.; McALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p. 209-228.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; CASTILLE, L.; FERRET, A. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2580-2595.
- CARSON, C.F.; MEE, B.J.; RILEY, T.V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance and assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 1914-1920.
- CONAB. **Castanha de caju**. 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: agosto de 2018.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. 2006. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300.
- COUTINHO FILHO, J. L. V.; JUSTO, C. L.; PERES, R. M. 2005. Desenvolvimento ponderal de bezerras desmamadas em pastejo de *Brachiaria decumbens* com suplementação protéica e energética. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 817-823.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; FILHO, S.C.V.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.C.; LEÃO, M.I.; LANA, R.P.; PONCIANO, N. J. 2005a. Níveis de Proteína em Suplementos para Terminação de Bovinos em Pastejo Durante o Período de Transição Seca / Águas: Consumo Voluntário e Trânsito de Partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1371-1379.

DETMANN E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, R.C.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.C.; GONÇALVES, L.C.; VALADARES, R. F. 2005b. Níveis de Proteína em Suplementos para Terminação de Bovinos em Pastejo Durante o Período de Transição Seca/Águas: Digestibilidade Aparente e Parâmetros do Metabolismo Ruminal e dos Compostos Nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1380-1391.

DIAS, A. O. C; GOES, R. H.T.B; GANDRA, J. R; TAKIYA, C. S; BRANCO, A. F; JACAÚNA, A. G; OLIVEIRA, R.T; SOUZA, C. J.S; VAZ, M. S.M. 2017. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 73-80.

DIAZ, T.G.D.; TEODORO, A.L.; OSMARI, M.P.; SALAB, B.L.; MATOS, L.F.; GIOTTO, F. M. 2015. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 1-10.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. 2000. Antimicrobial agentes from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 308-316.

FADEL EL-SEED, A. N. M. A; KAMEL, H. E. M; SEKINE, J; HISHINUMA, M; HAMANA, K. 2003. Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 1, p. 161-163.

FIGUEIRAS, J. F; DETMANN, E; VALADARES FILHO, S. C; PAULINO, M. F; BATISTA, E. D; RUFINO, L. M.A; VALENTE, T. N.P; REIS, W. L.S; FRANCO, M. O. 2015. Desempenho nutricional de bovinos em pastejo durante o período de transição seca-águas recebendo suplementação proteica. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 269-276.

GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2-4, p. 276–287, 2009a.

GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 2, p. 749-755, 2010b.

HELANDER, I. M.; LATIVA-KALA K.; LOUNATMAA, K. Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. **Great Britain**, v. 144, n. 1 998, p. 385-390, 1998.

HIRANO, S. 1989. Chitin and Chitosan, **Elsevier**, New York, p. 37-43.

IBGE. 2018. **Agência IBGE notícias**. Disponível em: <<http://agenciadenoticias.ibge.gov.br>>. Acesso em: 06 de agosto de 2018.

INSTRUÇÃO NORMATIVA 13/04. 2018. In: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>> Acesso em: agosto de 2018.

JAWORSKA, M.; SAKURAI, K.; GAUDON, P.; GUIBAL, E. 2003. Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties. **Polymer International**, v. 52, n. 2, p. 198-205.

JESUS, E.F.; DEL VALLE, T.A.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; SILVA, G.G.; NETTO, A.S.; RENNO, F.P. 2016. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219 p. 1-32.

KEAN, T.; THANOU, M. 2010. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 3-11.

KRAJEWSKA, B. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, n. 2-3, p. 126-139, 2004.

KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J.; SURBBA RAO, P.V.; SRINIVASA RAO, A. 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut shell liquid. **Journal of agriculture and food chemistry**, v. 50, p. 4705-4708.

LUBI, M. C.; THACHIL, E. T. 2000. Cashew nut shell liquid a versatile monomer for polymer synthesis. **Monomers and polymers**, v. 3, n. 2, p. 123-153.

MARTINS, M.F.; SARAN NETTO, A.; LEME, P.R.; PINHEIRO, M.G.; TORRENT, J.; WELTER, K. C.; ARRUDA, I. 2015. Effects of functional oils and monensin supplementation on ruminal fermentation and milk production and composition in Holstein cows under heat stress. **Journal of Animal Science**, v. 98, Suppl.2.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741.

MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. 2001. Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E194-E203.

MINGOTI, R. D; FREITAS, J. E; GANDRA, J. R; GARDINAL, R; CALOMENI, G. D; BARLETTA, R. V; VENDRAMINI, T. H.A; PAIVA, P. G; RENNÓ, F. P. 2016. Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 187, p. 35-39.

MITCHELL, J. D.; MORI, S. A. 1987. The Cashew and its Relatives (*Anacardium*: *Anacardiaceae*). **The New York Botanical Garden**, v. 42, p. 1-76.

MURAKAMI, A. E.; SILVA, L. M. G. S.; FAVERI, J.C.; TORRENT, J. 2009. Effects of functional oils on chickens challenged with coccidiosis. **Poultry Science**, (Suppl.1), 81- 39.

MUZZARELI, R. A. A. 1997. Amphoteric derivatives of chitosan and their biological significance. In: Skjak - BRAEK, G. et al. Chitin and Chitosan, **Elsevier Applied Science**, p. 87-99.

- NAGARAJA, T. G.; TAYLOR, M. B. 1987. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 1620-1625.
- NAGAJARA, T.G. & TITGEMEYER, E.C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 17-18.
- NO, H. K; NA Y.P; SHIN, H.L; SAMUEL, P.M. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 65-72.
- OLIVEIRA, M. S. C.; MORAIS, S. M.; MAGALHÃES, D. V. 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **ActaTropical**, v. 117, p. 165-170.
- OSMARI, M.P.; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; DIAZ, T.G.; MATOS, L.F. 2017. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. *Archivos de Zootecnia*, v. 66(255) p. 373-379.
- PATRA A.K.; SAXENA J. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1198-1222.
- PAULINO, M.F; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, A.G.; CABRAL, C.H.A.; VALENTE, E.E.L.; BARROS, L.V.; DE PAULA, N.F.; LOPES, S.A.; COUTO, V.R.M. 2010. Bovinocultura programada. In: VII SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, Viçosa. **Anais...Viçosa: DZO-UFV**, 2010. p. 267-297.
- RASOOLI, I., ABYANEH, M.R. 2004. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, v. 15 p. 479-483.
- RAVI KUMAR, M. N. V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27.
- RINAUDO, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, n. 7, p. 603-632.
- ROBERFROID, M.B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1660-1664.
- ROBERTS, G. A. F. 1992. Chitin chemistry. London: **Mc Millan Press**, p. 350-103.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. 1989. Minireview: effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1-6.
- SANTOS, J.E., SOARES, J.P., DOCKAL, E.R. et al., 2003. Caracterização de quitosana comerciais de diferentes origens. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.13, n4, p. 242-249.
- SENEL, S.; MCCLURE, S. J. 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1467-1480.

SHI, G., ZHU, Y., RAN, X. et al., 2006. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. *Journal of Surgical Research*, v. 133, p. 185-192.

STREIT, F. 2004. Estudo do aproveitamento do bagaço da maçã para produção de quitosana fúngica. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 101.

ULTEE, A.; KETS, E.P.W.; SMID, E.J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 10, p. 4606-4610.

VENDRAMINI, T. H. A; TAKIYA, C. S; SILVA, T. H; ZANFERARI, F; RENTAS, M. F; BERTONI, J. C; CONSENTINI, C. E.C; GARDINAL, R; ACEDO, T. S; RENNÓ, F. P. 2016. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 12-21.

WANG, G.-H. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 11, p. 916-919.

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FORESTER, R. J.; KOBAYASHI, Y. 2010. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methaneenhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5258-5267.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. 2015. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Marine Drugs**, v. 13, p. 1133-1174.

CAPÍTULO 2

USO DE LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E QUITOSANA EM SUPLEMENTO PARA BOVINOS A PASTO

Nayara Gonçalves Silva^{1*}, Raquel Tenório Oliveira², Jefferson Rodrigues Gandra³,
Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes⁴

¹Doutoranda em Zootecnia, Faculdade de Ciência Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, Brasil.

²Mestranda em Zootecnia, Faculdade de Ciência Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, Brasil.

^{3,4}Docentes da Universidade Federal da grande Dourados. Dourados – MS, Brasil.

*Autor correspondente: nayagsm@hotmail.com

Resumo: A pesquisa propôs avaliar a adição do Líquido da Castanha de Caju (LCC) e Quitosana como aditivos naturais para bovinos suplementados a pasto. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 300 kg, distribuídos aleatoriamente em delineamento em quadrado latino 5x5 e mantidos em piquetes individuais de *Urochloa brizantha*, suplementados na proporção de 0,4% do peso corporal com um suplemento contendo proteína bruta. As dietas experimentais fornecidas foram: 1) Suplementação mineral (Controle); 2) Suplementação proteica; 3) Suplementação proteica com adição de quitosana na dosagem de 900mg/Kg de MS; 4) Suplementação proteica com adição de LCC, na dosagem de 600mg/kg de MS; e 5) Suplementação proteica, com adição de quitosana mais LCC (900mg + 600mg/ kg de MS). Os animais suplementados com LCCt apresentaram menor consumo de pasto, MS e PB em relação aos animais que receberam apenas suplementação. Os novilhos suplementados com LCCt*QUIT apresentaram maior consumo de suplemento (P = 0,004) e proporcionou maior consumo de PB (1,015 kg/dia). A inclusão de quitosana na dieta levou a uma redução (P<0,05) na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato (P<0,03). Os animais que receberam LCCt em sua dieta apresentaram maiores valores sobre síntese de nitrogênio e proteína microbiana (P = 0,004). A associação dos aditivos nas dosagens de 900mg + 600mg/kg promoveu maior consumo de nitrogênio (P = 0,126) e balanço de nitrogênio (P = 0,201). O líquido da castanha de caju mostrou-se eficiente sobre a digestibilidade e síntese de proteína microbiana dos animais. A associação dos aditivos promoveu maior consumo de

suplemento e balanço de nitrogênio. A inclusão de quitosana na dieta levou a uma redução na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato.

Palavras-Chave: aditivos alternativos, biopolímero, suplementação

USE OF CASHEW NUT LIQUID AND CHITOSAN IN SUPPLEMENT TO GRAZING CATTLE

Abstract: The research proposed to evaluate the addition of Cashew Nut Liquid (LCC) and Chitosan as natural additives for pasture supplemented cattle. Five (5) rumen cannulated crossbred steers with an average weight of 300 kg were randomly distributed in a 5x5 Latin square design and kept in individual paddocks of *Urochloa brizantha*, supplemented with 0.4% of body weight with a supplement containing crude protein. The experimental diets provided were: 1) Mineral supplementation (Control); 2) protein supplementation; 3) Protein supplementation with addition of chitosan in the dosage of 900mg / kg DM; 4) Protein supplementation with the addition of LCC, at a dosage of 600mg / kg DM; and 5) Protein supplementation with the addition of chitosan plus LCC (900mg + 600mg / kg DM). The animals supplemented with CCT presented lower consumption of pasture, DM and CP compared to animals that received only supplementation. The steers supplemented with CCT * QUIT presented higher supplement intake ($P = 0.004$) and higher CP intake (1.015 kg / day). Inclusion of chitosan in the diet led to a reduction ($P < 0.05$) in the acetate molar concentration and a higher propionate production ($P < 0.03$). The animals that received CCT in their diet had higher values on nitrogen synthesis and microbial protein ($P = 0.004$). The association of additives at dosages of 900mg + 600mg / kg promoted higher nitrogen consumption ($P = 0.126$) and nitrogen balance ($P = 0.201$). The cashew nut liquid was efficient on the digestibility and synthesis of microbial protein of the animals. The association of additives promoted higher supplement intake and nitrogen balance. Inclusion of chitosan in the diet led to a reduction in molar acetate concentration and a higher production of propionate.

Keywords: alternative additives, biopolymer, supplementation

Destaques

- O LCCt fornecido para animais a pasto apresenta melhor eficiência na digestibilidade.

- A quitosana reduz concentração molar de acetato e aumento de propionato.
- LCCt apresenta maior estabilidade no pH ruminal de animais mantidos a pasto.
- O LCCt proporciona maior eficiência de síntese de proteína microbiana.
- O LCCt *QUI proporciona maior consumo de nitrogênio e balanço de nitrogênio.

Financiamento

Este estudo foi financiado pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul. Os autores também agradecem à Universidade Federal da Grande Dourados pelo apoio.

1. INTRODUÇÃO

As maiores exigências do consumidor em relação à segurança alimentar restringiram a utilização de antibióticos ionóforos na alimentação animal. No entanto a busca por produtos alternativos e naturais como a quitosana e líquido da castanha de caju se tornaram uma alternativa para atender os mercados nacionais e internacionais.

A quitosana é um polímero natural originada através da desacetilação da quitina que ocorre em solução alcalina, transformando os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) em grupos amino ($-\text{NH}_2$), dando origem a quitosana (Younes e Rinaudo, 2015). Goiri et al. (2009), observou que a sua inclusão na dieta de ruminantes influenciou alguns parâmetros fermentativos no rúmen, apresentando atividade antimicrobiana. A ação com bactérias ruminais está relacionado a sua interação com proteínas da membrana externa provocando extravasamento intracelular (Jeon et al. 2014; Kong et al. 2010).

Os óleos funcionais como o líquido da castanha de caju além de seu valor nutricional apresentam características biológicas (Murakami et al. 2014). O líquido da castanha de caju natural é considerado uma fonte rica de lipídios fenólicos não-isoprenóides e formado por uma combinação de quatro constituintes: ácidos anacárdicos (60-65%), cardóis (15-20%), cardanóis (10%) e metilcardóis, obtido da extração a frio com prensa (Voirin et al. 2014; Kumar et al. 2002). Já o LCC técnico possui especialmente cardanol e cardol, sendo adquirido através do processo de obtenção da amêndoa, resultado da extração térmico-mecânica ou por solvente (Mazzetto et al. 2009). Os componentes do LCC conseguem atravessar as membranas das células microbianas, isto devido aos grupos aromáticos e alifáticos que possuem em sua estrutura, possuindo características hidrofílicas e lipofílicas (Correia et al. 2006).

Alguns estudos avaliaram as aplicações e efeitos da quitosana sobre a fermentação ruminal de bovinos (Zanferari et al. 2018; Del Valle et al. 2017; Paiva et al. 2016), assim como o líquido de castanha de caju (Ghizzi et al. 2018; Zotti et al. 2017; Osmari et al. 2017). Araújo et al. (2015) e Dias et al. (2017), utilizando novilhos de corte demonstraram o potencial da quitosana sobre a ingestão de matéria seca e digestibilidade dos nutrientes, apontando o aditivo como possível modulador da fermentação ruminal. Jesus et al. (2016) e Martins et al. (2015), observaram que a utilização de óleos funcionais, aumentou a produção de propionato e o consumo de matéria seca e proteína bruta respectivamente.

Embora alguns estudos tenham relatado os benefícios destes aditivos naturais, poucos trabalhos avaliaram a quitosana e óleos essenciais na alimentação animal em ensaios in vivo (Vendramini et al. 2016; Wencelová et al. 2014). Entretanto, objetivou-se avaliar o consumo de matéria seca e a digestibilidade de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal e determinar a viabilidade do uso do líquido da Castanha de Caju técnico e da quitosana em associação, como aditivos naturais para bovinos suplementados a pasto.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local, animais e tratamentos

A presente pesquisa foi desenvolvida conforme os princípios estabelecidos pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados (protocolo de aprovação: 023/2015 CEUA / UFGD). O ensaio experimental de campo foi realizado no setor de Nutrição de Ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no período de transição seca-águas entre os meses de setembro a novembro de 2017. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal. A localização geográfica se encontra nas *coordenadas 22°11'43.49" de latitude sul e 54°55'77" de latitude oeste*.

Cinco (5) novilhos mestiços com 18 meses de idade, com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais permanentes, foram distribuídos aleatoriamente em delineamento de quadrado latino (5x5). Cada período experimental foi compreendido de 16 dias, sendo sete dias de adaptação e nove dias de coleta de dados. Os animais foram mantidos em piquetes individuais de aproximadamente 0,2 hectares providos de cocho e bebedouro, em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*).

Os suplementos experimentais utilizados foram: Suplemento mineral (Controle); Suplemento proteico (36% PB); Suplemento proteico com adição de quitosana na

dosagem de 900mg/Kg de MS; Suplemento proteico com adição de LCCT, na dosagem de 600mg/kg de MS; Suplemento proteico, com adição de quitosana mais LCCT (900mg + 600mg/kg de MS), sendo os dois aditivos utilizados fornecidos diretamente no rúmen.

A quitosana foi adquirida pela empresa Polymar®, Fortaleza, Brasil (≥ 850 g / kg de grau de desacetilação, 0,32g / mL de densidade, pH 7,90, viscosidade < 200 cPs, cinza total 1,35g / 100g e perda na secagem 9,3g / 100g). O LCCT apresentou a seguinte composição: cardanol (73,3%), cardol (16,4%) e 2-metilcardol (3,0%). A suplementação foi balanceada de acordo com recomendações do NRC (2016), composta por milho, farelo de soja, suplemento mineral, fosfato bicálcico, sal comum e ureia para um teor de 36% PB (Tabela 1). O suplemento foi fornecido diariamente à vontade no período da manhã (08:00 horas) até 0,4% do peso corporal (PC) dos animais. No primeiro dia de cada período experimental os novilhos eram pesados para ajustar o fornecimento de suplemento.

2.2 Disponibilidade de forragem

A disponibilidade de forragem foi realizada no primeiro dia de cada período experimental, por meio do corte rente ao solo de áreas delimitadas aleatoriamente (10 áreas por piquete) com um quadrado metálico de 0,5 x 0,5 m. As amostras coletadas foram levadas ao laboratório e sub-amostradas duas vezes, uma das sub-amostras foi seca e pesada para posterior determinação da composição bromatológica, e a outra sub-amostra separada para a quantificação da composição morfológica (folha, caule e material morto). Foram confeccionadas amostras compostas para cada piquete, as quais foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 mm), para posteriores análises.

As amostras de fezes, suplementos e forragem obtidas por esvaziamento ruminal e corte rente ao solo foram avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS; # 934.01), proteína bruta (PB) obtida pela determinação de N total usando a técnica micro Kjeldahl (#920.87, $N \times 6,25$), matéria mineral ou cinzas (MM/CZ; #924.05; AOAC, 1990), matéria orgânica (100-MM). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA), foram determinados conforme descrito por Van Soest and Robertson (1999); os teores de lignina foram obtidos pela oxidação com permanganato de potássio (Van Soest e Wine, 1968). As análises de fibra em detergente neutro (FDN), foram realizadas de acordo com Mertens (2002). O teor de NDT da forragem foi calculado baseado no teor de FDA, conforme equação proposta por Capelle et al. (2001): $\% \text{NDT} = 83,79 - 0,4171 * \text{FDN}$.

2.3 Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total

O consumo de matéria seca foi estimado com base na excreção fecal total de MS e no teor de FDNi nas fezes, pasto e concentrado. Para determinação diária da excreção fecal de MS, o dióxido de titânio (TiO_2) foi fornecido no rúmen via cânula, por dez dias consecutivos, com adaptação ao indicador externo de cinco dias e cinco dias para a coleta (Ferreira et al. 2009). O indicador dióxido de titânio foi acondicionado em cartuchos de papel, seu fornecimento iniciava no segundo dia de cada período experimental, sendo fornecidos 10g/dia as 08h00min.

As amostras fecais (200g) foram coletadas, a partir do 7º dia, diretamente no reto dos animais uma vez por dia em diferentes horários (08h00min, 10h00min, 12h00min, 14h00min e 16h00min); sendo acondicionadas em sacos plásticos, identificados por tratamento, período e congeladas a -18°C . Ao fim de cada período foi realizado uma amostra composta por animal, retirando-se uma amostra de cada piquete por período, para análise química.

As concentrações de TiO_2 , foram analisados por espectrofotometria UV/Vis, conforme metodologia descrita por Myers et al. (2004). Para a determinação da produção fecal foi utilizada a fórmula: $(\text{EF} = \text{OF}/\text{COF})$. Em que: EF = Excreção Fecal diária (g/dia); OF = dióxido de titânio fornecido (g/dia) e COF = Concentração de dióxido de titânio nas fezes (g/g MS).

O indicador interno (FDNi) foi empregado para determinar o consumo de matéria seca da pastagem. As amostras de extrusa, suplemento e fezes, foram moídas (2mm) acondicionadas em sacos de TNT ($100\text{g}/\text{cm}^2$) de 5x5 cm e 0,5g de amostra incubadas no rúmen (*in situ*) por 288 horas (Detmann et al. 2012). O consumo de matéria seca foi estimado de acordo com Dias et al. (2017) com a equação: $\text{CMS (kg/dia)} = \{[(\text{EF} \times \text{CIFZ}) - \text{IS}] / \text{CIFO}\} + \text{CMSS}$. Em que: CMS = consumo de matéria seca (kg/dia); EF = excreção fecal (kg/dia); CIFZ = concentração do indicador presente nas fezes (kg/kg); IS = indicador presente no suplemento (kg/dia); CIFO = concentração do indicador presente na forragem (kg/kg), CMSS = consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia).

Para avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN), foram calculados o consumo total de nutrientes e a excreção fecal dos mesmos.

2.4 Fermentação ruminal

No 12º dia, de cada período experimental foram coletadas manualmente amostras para determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (NAR) e ácidos graxos de cadeia curta, imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento do suplemento, na interface líquido/sólido do ambiente ruminal. Amostras de líquido foram coletadas utilizando uma camada tripla de gaze para filtrar o líquido.

O pH foi determinado imediatamente após a coleta, utilizando um pHmetro digital portátil. Alíquotas (10-20 mL) dessas amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos e coletado 1800uL de sobrenadante, sendo misturadas com 100 uL de uma solução de ácido orto-fosfórico a 20%, todas as amostras foram congeladas para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta. Para determinação do nitrogênio amoniacal, foi separada uma alíquota de 40 mL fixada a 1 ml de HCl 1:1, congelada a -18°C para posterior análise. A determinação dos teores de N-NH₃ foi realizada conforme o método INCT-CA N-007/1, descrito por Detmann et al. (2012).

A concentração de amônia no líquido ruminal foi estimada pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida e utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N), após centrifugação prévia da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos.

2.5 Síntese de proteína microbiana

A coleta de urina foi realizada no 13º dia de cada período experimental na forma “spot”, quatro horas após o fornecimento do suplemento, em micção espontânea dos animais (Chizzotti et al. 2006). Para a determinação da concentração de creatinina, ureia, ácido úrico e alantoína, foi separada uma alíquota com 10 mL de urina diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), para evitar a degradação de derivados de purinas e a precipitação do ácido úrico; A segunda alíquota de 100 ml foi armazenada em 1 mL de ácido sulfúrico (36N) e analisada para a determinação da concentração de N total urinário. Todas as amostras foram identificadas e congeladas imediatamente a -18°C para posterior análise.

A determinação da alantoína foi realizada pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para a determinação da concentração de creatinina e ácido úrico foram utilizados kits comerciais (Labtest, Lagoa Santa, Brasil; Gold Analisa Diagnostica Ltda, Belo Horizonte, Brasil).

A soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressas em mmol/dia, foi utilizada para calcular a excreção total de derivados de purina (DP). As

purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: $DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PC^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 PC^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al. 1990).

O volume total urinário foi determinado por intermédio da relação entre concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se como padrão o valor de 27,36 mg/kg PC (Rennó et al. 2000). As excreções diárias de N-ureia e N-creatinina foram obtidas por meio do produto das concentrações de ureia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715, correspondente aos teores de N na ureia e creatinina, respectivamente. A partir da excreção média diária de creatinina, obtida no experimento em mg/kg PC/dia, e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra *spot* de urina, será estimado o volume diário de urina: $VU (l/dia) = (27,36 \times PC) / [creatinina]$, onde 27,36 representa o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PC, obtido por Rennó et al. (2000) em novilhos cruzados e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina *spot* dos animais.

A quantificação da biomassa microbiana nas amostras de rúmen foi realizada por intermédio do emprego de bases purinas como indicadores. Foi utilizado como referencial básico para medição da eficiência de síntese de proteína microbiana a unidade g MS microbiana/kg carboidratos degradados no rúmen (CHODR).

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido e o total excretado na urina e fezes. As concentrações de N nas amostras de fezes e urina foram determinadas segundo o sistema micro Kjeldahl. A partir destes valores, proceder-se o cálculo para quantificação do nitrogênio retido (NRet), descontando-se do BN o valor estimado da exigência para nitrogênio endógeno basal (NEB), que considera o N endógeno tecidual e as perdas dérmicas de N como 0,35 e 0,018 do peso metabólico, respectivamente.

2.6 Metabolismo da ureia e creatinina

No 14º dia experimental, quatro horas após o fornecimento do suplemento, ocorreu a coleta de sangue via punção da veia caudal, utilizando-se heparina como anticoagulante. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos para separação do sobrenadante sérico, identificadas e armazenadas a -18º C. A determinação

da ureia e creatinina plasmática foi realizada através de kit comercial (Gold Analisa® Diagnostica Ltda).

2.7 Forragem consumida pelos animais

A coleta da forragem consumida pelos animais (extrusa) foi realizada no 15º dia experimental, através do esvaziamento ruminal, onde retirou-se manualmente o conteúdo ruminal. Após esvaziamento do rúmen os animais foram levados para seus respectivos piquetes no qual pastejaram por tempo determinado de aproximadamente 40 minutos e as amostras de extrusa foram coletadas no interior do rúmen, após este período. Posterior a coleta de forragem consumida foi realizado a troca do conteúdo ruminal entre os animais (Kim et al. 2013; Kim et al. 2014). Este procedimento foi feito para reduzir o período de adaptação às dietas. Todas as amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacolas plásticas devidamente identificadas e congeladas à -18º C, e transportadas para o Laboratório de Nutrição Animal/UFGD, para posterior análises.

2.8 Cálculos e análise estatística

Os dados obtidos foram analisados através do uso do SAS (Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC 2009), onde foi verificado a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo comando PROC UNIVARIATE. Os efeitos para QUI, LCCt e LCCt*QUI foram avaliados seguindo o modelo estatístico: $Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + Q_k + L_l + Q_kL_l + e_{ijkl}$, sendo μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 5), Q_k = efeito da inclusão de quitosana ($k = 1$ a 5), L_l = efeito da inclusão LCCt ($l = 1$ a 5), Q_{kL_l} ($k_l = 1$ a 5) efeito da associação entre LCCt*QUIT e e_{ijkl} = erro experimental.

Para os efeitos da avaliação da dieta adotou o seguinte modelo: $Y_{ijl} = \mu + A_i + P_j + D_l + e_{ijl}$; onde Y_{ijl} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 5), D_l = efeito da dieta e e_{ijl} = erro experimental.

Os dados de fermentação ruminal foram analisados pelo comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_y + T_y (D_k) e_{ijk}$; onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = media geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 5), D_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 5), T_k = efeito do tempo ($k = 1$ a 5), $T_y (D_k)$ = interação entre dieta e tempo e e_{ijk} = erro experimental.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED, utilizando o LSMEANS, aplicando-se o teste de média de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

A disponibilidade total de matéria seca (MS) e matéria seca verde (MSverde) durante todo período experimental foram de 2,9 ton/ha e 1,1 ton/ha respectivamente (Tabela 2).

A forragem ingerida pelos animais apresentou teores médios de proteína bruta de 9,56% e a relação energia: proteína das forragens (NDT: PB), apresentou média de 6,01 (Tabela 3).

Os animais suplementados com LCCT apresentaram menor consumo de pasto, MS e PB em relação aos animais que receberam apenas suplementação, sendo que o LCCT reduziu 23% o consumo de pasto em relação ao tratamento que utilizou apenas suplementação (Tabela 4). Os novilhos suplementados com LCCT*QUI apresentaram um maior consumo de suplemento ($P = 0,004$) em relação ao tratamento com suplemento mineral e proporcionou os maiores consumos de PB (1,015 kg/dia) semelhante ao obtido pelos animais suplementados sem aditivos.

A digestibilidade da PB dos animais que receberam apenas suplemento mineral em sua dieta (Tabela 4), diferiu dos demais tratamentos ($P = 0,002$), apresentando valores inferiores.

O pH ruminal e o nitrogênio amoniacal dos animais que receberam a interação (LCCT*QUI) em sua dieta apresentaram menores valores ($P = 0,005$ e $P = 0,002$) em relação aos demais aditivos fornecidos. A inclusão de quitosana na dieta reduziu ($P < 0,05$) a concentração molar de acetato em relação as demais dietas, entretanto o mesmo tratamento obteve uma maior ($P < 0,003$) concentração de propionato ruminal, apenas para quitosana (Tabela 5). Animais que receberam a interação (LCCT*QUI) em sua dieta apresentaram maior concentração total de ácidos graxos (Tabela 5).

A inclusão de suplemento e aditivos na dieta dos animais em função do tempo de coletas não apresentaram efeito ($P > 0,005$) sobre pH ruminal (Figura 5) e concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) ruminal (Figura 6), entretanto o tratamento com LCCT apresentou um maior pico de N-NH₃ duas horas após a ingestão do suplemento.

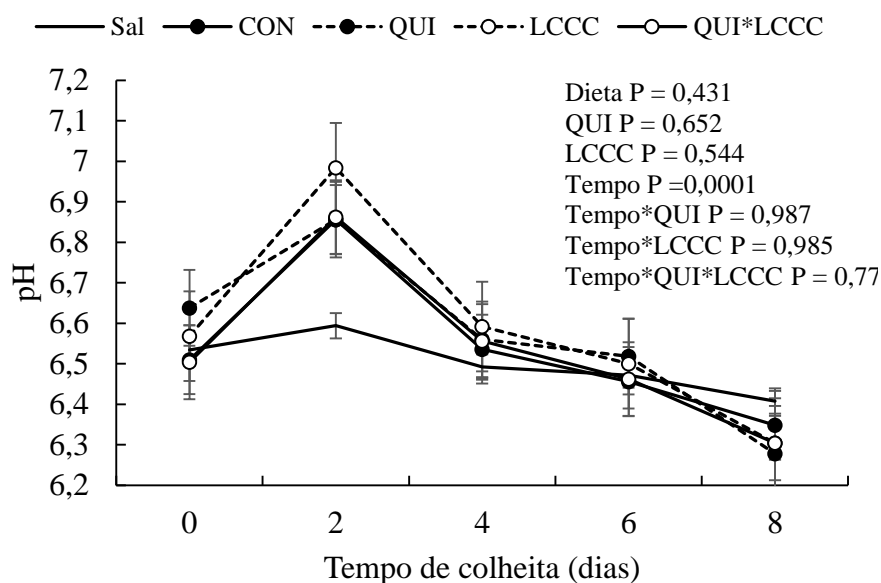


Figura 5. Valores médios de pH ruminal de novilhos suplementados com quitosana e líquido de castanha de caju em função dos tempos de coleta

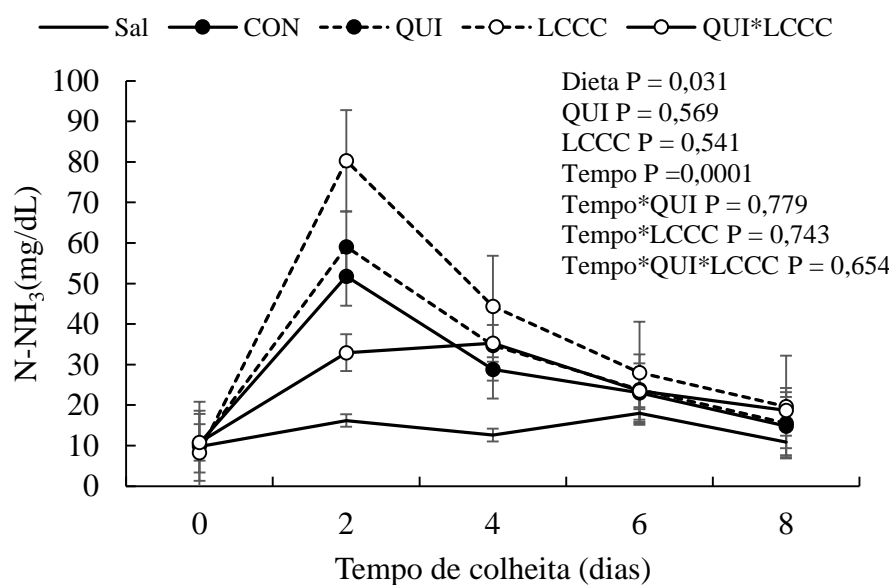


Figura 6. Valores médios de NH₃ (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana em função do tempo de coleta

Os animais que receberam LCCt em sua dieta apresentaram maiores valores para a excreção de purinas totais ($P = 0,032$), purinas absorvidas ($P = 0,021$), síntese de nitrogênio e proteína bruta microbiana ($P = 0,004$) comparando aos demais tratamentos suplementados com proteína. A interação LCCt*QUI obteve valores inferiores tanto para purinas totais e absorvidas ($P = 0,216$ e $P = 0,119$), apresentando uma redução de 65% para síntese de proteína bruta microbiana em relação aos demais tratamentos (Tabela 6).

Os novilhos suplementados com LCCT*QUI, apresentaram maior consumo de nitrogênio ($P = 0,126$) e balanço de nitrogênio ($P = 0,201$) em relação aos demais tratamentos, e uma maior excreção urinária ($P = 0,008$), diferindo-se dos demais tratamentos (Tabela 7).

A inclusão de suplemento e aditivos na dieta dos animais não afetaram ($P > 0,05$) as concentrações de ureia e creatinina na urina e sangue (mg/dL), como também não alteraram as excreções de ureia, creatinina (mg/kg PC) e excreção fracional (%) de ureia (Tabela 8).

4. DISCUSSÃO

O consumo do bovino a pasto depende exclusivamente da qualidade da forragem, com isto Silva et al. (2009) propôs que valores de pelo menos 4.500 kg de MS total/ha e 1.200 kg/ha de MS verde garantem a seletividade do animal. Embora a disponibilidade de MS tenha apresentado dados abaixo do limite proposto, os valores de MS verde apontam que os animais tiveram uma oferta de folhas suficiente para garantir a seleção de forragem.

O valor de PB da forragem ingerida pelos animais é considerado um valor necessário para atender as exigências proteicas do animal. Os teores de PB abaixo de 7%, acarretam redução na digestão da mesma e menor consumo voluntário (Van Soest, 1994).

Os teores médios de proteína e um maior teor de FDN, limitam o consumo do animal pela qualidade da forragem, influenciando na falta de proteína em relação a energia. Os valores da relação energia: proteína bruta das forragens (NDT: PB), apresentou média de 6,01, teores próximos aos relatados por Moore et al. (1999), apontando um maior valor de energia em relação a proteína.

No presente estudo, os animais que receberam o LCCT em sua dieta apresentaram menor consumo de pasto, MS, MO, PB e FDN, entretanto, mostrou-se eficiência na digestibilidade dos novilhos, pois não diferiu dos demais tratamentos contendo suplementação. A possível mudança nos parâmetros fermentativos e alterações nas proporções de produtos finais da fermentação pela ação dos aditivos, podem resultar em menor consumo de alimentos (Allen, 2000). Vendramini et al. (2016), não observaram influência da quitosana e óleo funcional no consumo de nutrientes, porém os animais alimentados com quitosana apresentaram uma maior digestibilidade da MS e PB em comparação ao óleo. A inclusão de óleos funcionais (líquido de castanha de caju e óleo de mamona) em alguns trabalhos não demonstrou influência na ingestão de matéria seca

e proteína bruta (Coutinho et al. 2014; Branco et al. 2015; Jesus et al. 2016; Ghizzi et al. 2018).

A redução na ingestão da matéria seca pode estar relacionada com alterações na passagem ruminal de nutrientes, aumentando o período de disponibilidade do alimento no rúmen e influenciando na digestão dos nutrientes no ambiente ruminal (Gandra et al. 2016), podendo também estar relacionado a um menor consumo de pasto pelos animais. Osmari et al. (2017), demonstraram que o LCCt (contendo cardanol e cardol como principais ingredientes ativos, mas sem ácidos anacárdicos) na dieta de bovinos não afetou ingestão e digestibilidade total dos nutrientes. Existem também preposições que a presença de compostos fenólicos no líquido da castanha de caju (ácido anacárdico, cardanol e cardol), podem causar alterações na fermentação de ácidos graxos como o propionato, devido à influência na microbiota ruminal, havendo uma maior ação pelo ácido anacárdico (Watanabe et al. 2010).

Estudos anteriores também descreveram que o consumo de matéria seca não foi afetado com a inclusão de quitosana na dieta de bovinos, no entanto houve aumento na digestibilidade de proteína bruta e matéria seca (Dell Vale et al. 2017; Paiva et al. 2016; Araújo et al. 2015). Dias et al. (2017), analisando diferentes níveis de quitosana na alimentação de novilhos a pasto observaram que houve efeito sobre a ingestão de MS, PB, FDN, e um aumento linear na digestibilidade aparente total da MS e PB. A digestibilidade e o consumo de nutrientes podem ser influenciados pelo tipo de dieta, variação da concentração e a dose fornecida para o animal, podendo trazer condições e resultados adversos que ainda precisam ser esclarecidos.

A inclusão de quitosana na dieta levou a redução na concentração molar de acetato em relação aos demais tratamentos, sendo que houve maior produção de propionato com efeito apenas para quitosana. Uma das características mais relevantes da quitosana está relacionado a sua solubilidade em água, podendo estar associado a pequenos efeitos na fermentação ruminal (Kong et al. 2010).

As mudanças que ocorrem na digestão de carboidratos sem alterar a ingestão de matéria seca do animal, pode estar relacionado ao aumento do propionato e uma menor proporção do acetato (Araujo et al. 2015). Zanferari et al. (2018), demonstraram que a quitosana reduziu a população bacteriana relativa do grupo *Butirivibrio*, que são consideradas espécies celulolíticas e fermentadoras de carboidratos estruturais. Além disso, Belanche et al. (2016) relataram que a quitosana deslocou a comunidade bacteriana para um aumento de *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*, sendo a maior parte bactérias com

atividade de alfa-amilase, levando a um aumento de propionato. As mudanças nos produtos de fermentação final, causado pelo efeito de aditivos alteram a população bacteriana ruminal, devido a inibição de bactérias gram positivas (McGuffey et al. 2001), afetando diferentes bactérias de diferentes maneiras. A maior concentração total de ácidos graxos no tratamento com a interação dos aditivos pode ter ocorrido devido a interferências do aditivo na fermentação ruminal, sendo que o efeito do aditivo em aumentar a proporção do propionato, em detrimento da proporção do acetato e butirato, não foram encontrados.

Os valores de pH ruminal encontrados neste estudo, estão de acordo com a variação de 6,2 a 7,1, proposta por Orskov (1988) e Russell & Wilson (1996), valores considerados ideais para sustentar a digestão da fibra e motilidade do rúmen, através da máxima atividade dos microrganismos. Outra forma de controlar o pH é a presença de agentes tamponantes e a retirada de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen influenciam na manutenção do pH ruminal (Van Soest, 1982).

Estudos recentes com quitosana e líquido de castanha de caju também não encontraram diferenças no pH ruminal (Dias et al. 2017; Jesus et al. 2016). Os valores de pH podem estar relacionados a ação antimicrobiana dos aditivos naturais, promovendo o crescimento de microrganismos Gram-negativos, consideradas principais bactérias utilizadoras do lactato como substrato energético (Watanabe et al. 2010).

A concentração de N-NH₃ apresentou maiores valores duas horas após o fornecimento da suplementação, sendo que o LCCt apresentou um maior pico de amônia seguido da quitosana. Dias et al. (2017) e Belanche et al. (2016) relatam que a quitosana e óleos funcionais aumentam a concentração de amônia duas horas após a alimentação dos animais, podendo estar relacionado com a atividade bacteriana. Os valores de N-amoniaco encontrados neste trabalho foram acima de 10 mg/dL, estando de acordo com o limite máximo reportado por alguns autores. As concentrações mínimas de N-NH₃ relatados na literatura são de 8 mg/dL a 15 mg/dL no líquido ruminal, sendo que abaixo desses valores pode haver limitação da síntese microbiana e redução da degradação de FDN no rúmen (Satter e Roffler, 1975). No entanto, concentrações de até 23 mg de N-NH₃/dL são necessárias para se obter máximo anabolismo microbiano (Detmann et al. 2009; Mehrez e Orskov, 1978).

A suplementação de LCCt aumentou as purinas absorvidas e a síntese de nitrogênio e, conseqüentemente, a produção de nitrogênio microbiano. Os valores das purinas absorvidas podem afetar a produção de nitrogênio microbiano por meio das ações

antimicrobianas dos aditivos naturais, através de alterações na fermentação ruminal. A disponibilidade de nitrogênio amoniacal ruminal após o fornecimento de proteína pode trazer melhorias na produção de nitrogênio. Os microrganismos fermentadores necessitam de energia para a síntese microbiana proveniente sobretudo de carboidratos dietéticos. Se a dieta inclui uma proporção adequada de carboidratos não estruturais e o pH ruminal estiver em nível ótimo, os microrganismos vão crescer rapidamente, aumentando a produção microbiana (Sniffen e Robinson, 1987).

O maior pico de N-NH₃ e síntese de proteína microbiana podem ter influenciado positivamente no tratamento com inclusão de LCCt, sendo que obteve menor consumo e digestibilidade similar as demais dietas. No entanto, a associação dos aditivos apresentou menor síntese microbiana sem alterar a digestibilidade, podendo ter um efeito associativo onde a inclusão de LCCt*QUI na dieta tenha causado um comportamento negativo no processo digestivo em relação a síntese de nitrogênio. Provavelmente o poder seletivo das suas estruturas tenha causado maior seleção no rúmen, não influenciando no consumo e na digestibilidade do animal.

O tratamento LCCt*QUI fornecidos na dieta, apresentou maior consumo de nitrogênio levando a uma maior excreção urinária em relação aos demais tratamentos. Os animais que receberam a associação dos aditivos em sua alimentação apresentaram maior consumo de suplemento em relação aos demais tratamentos, entretanto, este resultado pode ter influenciado no seu balanço de nitrogênio. Moreno et al. (2010), observou que o aumento do nível de concentrado, independentemente do tipo de volumoso, influenciou em maior absorção e retenção de nitrogênio, com isto, o teor de concentrado na dieta pode influenciar no balanço de nitrogênio enquanto o consumo e a digestibilidade ligam-se mais com a proporção de volumoso.

A maior perda de compostos nitrogenados e o acréscimo na produção de ureia estão relacionados com o desequilíbrio entre N e a energia no rúmen, somando o custo energético e perdas de N (Russell et al. 1992). A relação entre o N excretado pelas vias urinária e fecal podem ser influenciados pelos teores de PB da ração, consumo de nitrogênio e do tipo de fonte de nitrogênio (Zeoula et al. 2003).

Os resultados das concentrações de ureia e creatinina na urina e sangue são semelhantes aos relatados na literatura (Paiva et al. 2016). Tassoul e Shaver (2009) forneceram óleo essencial para animais da raça holandesa e não encontraram diferença na concentração sanguínea de ureia. Dias et al. (2017) utilizaram quitosana para novilhos a pasto e não observaram diferença nas concentrações urinárias e sanguíneas de

ureia e creatinina. A dieta fornecida ao animal tem pouca influência na excreção urinária de creatinina, no entanto, as suas variações na excreção são afetadas de acordo com a taxa de crescimento dos animais (Chizzotti et al. 2006).

Os casos de alterações na concentração de ureia no sangue podem estar relacionados a uma menor digestibilidade ruminal da proteína bruta, aumentando, assim, a proteína metabolizável no intestino delgado e a produção de ureia no fígado (Garcia-Rodriguez et al. 2015). A manutenção dos níveis normais de ureia no sangue é efetiva para a redução no teor de nitrogênio na urina. Alterações nos níveis plasmáticos de ureia estão diretamente associadas as fontes de amido e de proteína bruta da dieta, com isto o conhecimento sobre metabolismo de compostos nitrogenados se torna essencial (Moscardini et al. 1998; Quigley e Bernard, 1992).

5. CONCLUSÃO

O líquido da castanha de caju mostrou-se eficiente sobre a digestibilidade e a síntese de proteína microbiana. A associação dos aditivos promoveu maior consumo de suplemento e balanço de nitrogênio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, MS, 2000, Effects of Diet on Short-Term regulation of feed Intake by lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 83, 1598-1630. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75030-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2)
- AOAC, 1990, Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. **AOAC International**, Arlington, VA.
- Araújo, APC, Venturelli, BC, Santos, MCB, Gardinal, R, Consolo, NRB, Calomeni, GD, Freitas, JE, Barletta, RV, Gandra, JR, Paiva, PG, 2015. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 206, 114-118. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75030-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2)
- Belanche, A, Pinloche, E, Preskett, D, Newbold, CJ, 2016. Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen simulation technique. **Fems Microbiology Ecology**, 92, 1-14. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv160>
- Branco, AF, Giallongo, F, Frederick, T, Weeks, H, 2015. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. **J Dairy Sci.** 98, 4030-4040. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9015>
- Capelle, ER, Valadares Filho, SC, Silva, JFC, Cecon, PR, 2001. Estimates of the Energy Value from Chemical Characteristics of the Feedstuffs. **Rev. Bras. Zootec**, 30, 1837-1856. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000700022>
- Chen, X.B., Gomes, M.J., 1992. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives – an Overview of the Technical Details. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK, pp. 22.
- Chizzotti, ML, Valadares Filho, SC, Valadares, RFD, Chizzotti, FHM, Campos, JMS, Marcondes, MI, Fonseca, MA, 2006. Intake, digestibility and urinary excretion of urea and purine derivatives in heifers with different body weights. **R. Bras. Zootec.** 35, 1813–1821. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000600032>
- Correia, SJ, David, JP, David, JM, 2006. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000600026>
- Coutinho, DA, Branco, AF, Santos, GT, Osmari, M.P., Teodoro, AL, Diaz, TG, 2014. Intake, digestibility of nutrients, Milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. **Acta Sci. Anim Sci**, 36, 311-316. <http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v36i3.23512>
- Del Valle, TA, Paiva, PG, Jesus, EF, Almeida, GF, Zanferari, F, Costa, AGBVB, Bueno, ICS, Rennó, FP, 2017. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows. **Livest. Sci.** 201, 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.04.003>
- Detmann, E, Paulino, MF, Mantovani, HC, Valadares Filho, SC, Sampaio, CB, Souza, MA, Lazzarini, I, Detemann, KSC, 2009. Parameterization of ruminal fibre degradation

in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livest. Sci.** 126, 136-146. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.06.013>

Detmann, E, Souza, MA, Valadares Filho, SC, Queiroz, AC, Berchielli, TT, Saliba, EOS, Cabral, LS, Pina, DS, Ladeira, MM, Azevedo, JAG, 2012. Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: **Suprema**, 214.

Dias, AOC, Goes, RHTB, Gandra, JR, Takiya, CS, Branco, AF, Jacaúna, AG, Oliveira, RT, CJS, Vaz, MSM, 2017. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 225, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015>

Ferreira, MA, Valadares Filho, SC, Marcondes, MI, Paixão, ML, Paulino, MF, Valadares, RFD, 2009. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **R. Bras. Zootec.** 38, 1568-1573. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800022>

Fujihara, T, Orskov, ER, Reeds, PJ, Kyle, DJ, 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **J. of Agri. Sci.** 109, 7-12. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080916>

Gandra, JR, Takiya, CS, Oliveira, ER, Paiva, PG, Goes, RHTB, Gandra, ERS, Araki, HMC, 2016. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **R. Bras. Zootec.** 45, 130-137.

Garcia-Rodriguez, A, Arranz, J, Mandaluniz, N, Beltrán-de-Heredia, I, Ruiz, R, Goiri, I, 2015. Short-communication: production performance and plasmametabolites of dairy ewes in early lactation as affect by chitosan. Span. **J. Agric. Res.** 13, 06-04. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015134-7683>

Ghizzi, LG, Del Valle, TA, Takiya CS, Silva GG, Zilio, EMC, Scognamiglio, NT, Martello, LS, Renno, FP, 2018. Effects of functional oils on ruminal fermentation, rectal temperature, and performance of dairy cows under a high temperature humidity index environment. **J. Anim. Feed. Sci. Technol.** <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.009>.

Goiri, I, Rodriguez, AG, Oregui, LM, 2009. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 148, 276–287. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007>

Jeon, SJ, Oh, M, Yeo, W, Galvao, KN, Jeong, KC, 2014. Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases. **Plos One.** 9(3): e92723 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092723>

Jesus, EF, Del Valle, TA, Calomeni, GD, Silva, TH, Takiya, THA, Vendramini, PG, Paiva, PG, Silva, GG, Netto, AS, Rennó, FP, 2016. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 214, 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.003>

Kim, DH, McLeod, KR, Klotz, JL, Koontz, AF, Foote, AP, Harmon, DL, 2013. Evaluation of a rapid determination of fasting heat production and respiratory quotient in Holstein steers using the washed rumen technique. **J. Anim Sci.** 91, 4267-4276.

- Kim, DH, McLeod, KR, Koontz, AF, Foote, AP, Klotz, JL, Harmon, DL, 2014. Effect of intake on fasting heat production, respiratory quotient and plasma metabolites measured using the washed rumen technique. **Animal**. 9, 1-9.
- Kong, M, Chen, XG, Xing, K, Parque, HJ, 2010. Antimicrobial propriedades de quitosano e modo de acção: um estado da arte avaliação. **Int. J. Food Microbiol.** 144, 51-63.
- Kumar, PP, Paramashivappa, R, Vithayathil, PJ, Surbba Rao, PV, Srinivasa Rao, A, 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of agriculture and food chemistry**. 50, 4705-4708. <https://doi.org/10.1021/jf020224w>
- Martins, MF, Saran Netto, A, Leme, PR, Pinheiro, MG, Torrent, J, Welter, KC, Arruda, I, 2015. Effects of functional oils and monensin supplementation on ruminal fermentation and milk production and composition in Holstein cows under heat stress. **Journal of Animal Science**, v. 98, Suppl.2.
- Mazzetto, SE, Lomonaco, D, Mele, G, 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>
- Mcguffey, RK, Richardson, LF, Wilkinson, JID, 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.194–203. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70218-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4)
- Mehrez, Z, Orskov, ER, 1978. Protein degradation and optimum urea supplementary feed. **British Journal Nutrition**, v. 40, p. 337-345. <https://doi.org/10.1079/BJN19780130>
- Mertens, DR, 2002. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles. Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1212-1240.
- Moore, JE, Brant, MH, Kunkle, WE, Hopkins, DI, 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **J Anim. Sci.** 77, 122-135. https://doi.org/10.2527/1999.77suppl_2122x
- Moreno, GMB, Sobrinho, AGS, Leão, AG, Loureiro, CMB, Perez, HL, Rossi, RC, 2010. Desempenho, digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com silagem de milho ou cana-de-açúcar e dois níveis de concentrado. **R. Bras. Zootec.** 39, 853-860. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000400022>
- Moscardini, S, Wright, TC, Luimes, PH, McBride, BW, Susmel, P, 1998. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivate and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **J. Dairy Sci.** 81, 2421-2429. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)70133-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)70133-X)
- Murakami, AE, Eyng, C, Torrent, J, 2014. Effects of functional oils on coccidiosis and apparent metabolizable energy in broiler chickens. **Asian. Australas. J. Anim. Sci.** 27, 981-989. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13449>
- Myers, W.D., Ludden, P.A., Nayigihugu, V., Hess, B.W., 2004. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **J. Anim. Sci.** 82, 179-183. <http://dx.doi.org/10.2527/2004.821179x>

NRC, 2016. NATIONAL RESEARCH COUNCIL -. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.rev.ed. Washinton, D.C. 381p.

Orskov, ER, 1988. Nutrición proteica de los ruminantes. Zaragoza, Acribia. 178.

Osmari, MP, Branco, AF, Goes, RHTB, Diaz, TG, Matos, LF, 2017. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. **Archi. Zootec.** 66, 373-379.

<http://dx.doi.org/10.21071/az.v66i255.2513>

Paiva, PG, Jesus, EF, Del Valle, TA, Almeida, GF, Costa, AGBVB, Consentini, CE, Zanferari, F, Takiya, CS, Bueno, ICS, Rennó, FP, 2016. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows.

Anim. Prod. Sci. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15329>

Quigley, JD, Bernard, JK, 1992. Effect of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **J. Anim. Sci.** 70, 1543–1549.

<http://dx.doi.org/10.2527/1992.7051543x>

Rennó, LN, Valadares, RF, Valadares Filho, SC, Leão, MI, Silva, JFC, Cecon, PR, Gonçalves, LC, Dias, HLC, Linhares, RS, 2000. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **R. Bras. Zootec.** 29, 1235-1243.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982000000400038>

Russel, JB, Wilson, DB, 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low Ph. **J. of Dairy Sci.** 79, 1503-1509.

[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76510-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4)

Russell, JB, O'Connor, JD, Fox, DG, Van Soest, PJ, Sniffen, CJ, 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **J. Anim. Sci.** 70, 3551-3561. <http://dx.doi.org/10.2527/1992.70113551x>

Satter, LD, Roffler, RE, 1975. Nitrogen requirements and utilization in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 58, 1219-37. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(75\)84698-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(75)84698-4)

Silva, FF, Sá, JF, Schio, AR, Itavo, LCV, Silva, RR, Mateus, RG, 2009. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **R. Bras. Zootec.** 38, 371-389. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009001300037>

Sniffen, CJ, Robinson, PH, 1987 Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **J. Dairy Sci.** 70, 425-441. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80027-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80027-9)

Tassoul, MD, Shaver, RD, 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. **J Dairy Sci**, **92**, 1734-1740.

Van Soest, PJ, 1982. **Nutritional ecology of the ruminants**. Corvallis: O & Books, 373.

Van Soest, PJ, 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 476.

Van Soest, PJ, Robertson, JB, 1999. **Analysis of forages and fibrous foods**. A Laboratory Manual. Ithaca, NY: Cornell University.

Van Soest, PJ, Wine, RH, 1968. Determination of Lignin and Cellulose in Acid-Detergent Fiber with Permanganate. **Journal of AOAC International**, v.51, p.780-785.

Vendramini, THA, Takiya, CS, Silva, TH, Zanferari, F, Rentas, MF, Bertoni, JC, Consenting, CEC, Gardinal, R, Acedo, TS, Rennó, FP, 2016. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows, **J. Anim. Feed. Sci. Technol.** 214, 12-21.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.015>

Verbic, J, Chen, XB, Macleod, NA, Ørskov, ER, 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **J. Agricultural Sci.** 114, 243-248.
<https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>

Voirin, C, Caillol, S, Sadavarte, N, Tawade, BV, Boutevin, B, Wadgaonkar, PP, 2014. Functionalization de cardanol: para polímeros biobased e aditivos. **Polymer Chem.** 5, 3142-3162.

Watanabe, Y, Suzuki, R, Koike, S, Nagashima, K, Mochizuki, M, Forster, RJ, Kobayashi, Y, 2010. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **J. Dairy Sci.** 93, 1-11.
<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2754>

Wencelová, M, Váradyová, Z, Mihaliková, K, Kišidayová, S, Jalč, D, 2014. Evaluating the effects of chitosan, plant oils, and different diets on rumen metabolism and protozoan population in sheep. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 38, 26-3. <https://doi.org/10.3906/vet/1307-19>

Younes, I, Rinaudo, M, 2015, Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Marine Drugs.** 13, 1133-1174.
<https://doi.org/10.3390/md13031133>

Zanferari, F, Vendramini, THA, Rentas, MF, Gardinal, R, Calomeni, GD, Mesquita, LG, Takiya, CS, Rennó, FP, 2018. Effects of chitosan and whole raw soybeans on ruminal fermentation and bacterial populations, and milk fatty acid profile in dairy cows. **J. Dairy Sci**, 101, 12. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14675>

Zeoula, LM, Caldas Neto, SF, Geron, LJV, Maeda, EM, Prado, IN, Dian, PHM, 2003. Substituição do milho pela farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) em rações de ovinos: consumo, digestibilidade, balanços de nitrogênio e energia e parâmetros ruminais. **R. Bras. Zootec.** 32, 491-502. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000200030>

Zotti, CA, Silva, AP, Carvalho, R, Marino, CT, Rodrigues, PHM, Silva, LFP, McAllister, TA, Leme, PR, 2017. Monensin and a blend of castor oil and cashew nut shell liquid used in a high-concentrate diet abruptly fed to Nellore cattle. **J. Anim. Sci.** 95, 4124-4138. <http://dx.doi.org/10.2527/jas2017.1580>

Tabela 1. Composição percentual e valor nutricional dos ingredientes da suplementação experimental.

Ingredientes	Composição (%MS)
Milho	60,81
Farelo de soja	18,31
Ureia protegida (Biomart)®	10,11
Fosfato bicálcio	4,66
Sal comum	2,29
*Mistura Mineral	3,82
Composição bromatológica	g/kg
Matéria seca (%)	917,8
Matéria orgânica	898,2
Proteína bruta	360,0
Fibra em detergente neutro	12,57
Fibra me detergente ácido	23,2

*Níveis de garantia: fósforo: 40,00g; cálcio: 199,50g; enxofre: 10,00g; sódio: 125,00g; zinco: 2.260,00mg; cobre: 619,50mg; cobalto: 22,00mg; 42,00mg; selênio: 14,00mg; flúor: 400mg

Tabela 2. Disponibilidade e características morfológicas da forragem (*Urochloa brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha*).

	Tratamentos					Média
	SM	SUP	QUI	LCCt	LCCt* QUI	
MS total (ton/ha)	3,6	2,5	3,0	2,9	2,7	2,9
MS folhas (ton/ha)	1,5	1,0	1,0	1,1	1,0	1,1
Colmo (%)	30,47	24,68	22,26	25,65	26,61	25,57
Folha (%)	11,91	11,33	12,79	15,32	16,95	13,54
Material morto (%)	57,60	63,98	64,95	59,02	59,40	60,90
MS (%)	38,48	32,95	38,54	38,69	34,95	36,72
MO (%)	91,87	76,45	76,42	76,46	75,82	79,40
PB (%)	3,58	4,50	3,57	2,97	3,77	3,67
FDN (%)	82,39	67,76	67,75	70,11	65,85	70,77
FDA (%)	48,69	40,21	41,92	42,37	40,62	42,76
LIGNINA (%)	8,67	7,54	7,54	7,99	7,32	7,81
CINZA (%)	6,78	6,88	6,92	6,88	7,64	7,02
NDT (%)	49,42	55,52	55,53	54,55	56,32	54,27
NDT: PB	13,80	12,33	15,55	18,32	14,94	14,98

SM = suplemento mineral, SUP = suplemento, QUI = quitosana, LCCt = líquido de castanha de caju técnico, MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, NDT = nutrientes digestíveis totais. *%NDT = $83,79 - 0,4171 * \text{FDN}$, Capelle et al. (2001).

Tabela 3. Composição química da forragem (*Urochloa brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha*) ingerida pelos animais (extrusa).

	Tratamentos					Média
	SM	SUP	QUI	LCCT	LCCT* QUI	
MS (%)	36,73	38,44	37,63	36,59	33,10	36,50
MO (%)	72,76	73,64	72,83	74,05	74,10	73,48
PB (%)	10,06	9,88	9,16	9,84	8,87	9,56
FDN (%)	62,89	63,14	64,21	64,98	61,63	63,37
FDA (%)	39,03	41,31	38,59	40,41	38,34	39,54
LIGNINA (%)	12,03	12,40	19,62	13,49	12,31	13,97
CINZAS (%)	10,58	9,70	10,50	9,71	9,24	9,95
NDT (%)	57,56	57,45	57,00	56,69	58,08	57,40
NDT: PB	5,72	5,81	6,22	5,76	6,54	6,01

*MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, NDT = nutrientes digestíveis totais. $\% \text{NDT} = 83,79 - 0,4171 * \text{FDN}$, Capelle et al. 2001.

Tabela 4. Médias de ingestão e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.

Item	SM	Suplementos experimentais				EPM	P-valor			
		SUP	QUI	LCCt	LCCt*QUI		Dieta	LCCt	QUI	LCCt*QUI
<i>Consumo (kg/dia)</i>										
Pasto	6,25 ^A	6,46 ^{aA}	5,20 ^{bAB}	4,34 ^{cB}	5,65 ^{abAB}	0,25	0,013	0,048	0,946	0,005
Supl.	0,150 ^B	1,17 ^{bA}	1,16 ^{bA}	1,15 ^{bA}	1,27 ^{aA}	0,07	0,001	0,036	0,022	0,004
MS	6,40	7,63 ^a	6,37 ^{ab}	5,50 ^b	6,92 ^{ab}	0,25	0,027	0,073	0,852	0,003
MO	5,44	6,73 ^a	5,56 ^{ab}	4,89 ^b	6,19 ^{ab}	0,22	0,013	0,099	0,858	0,001
PB	0,762 ^B	1,152 ^{aA}	0,969 ^{abAB}	0,907 ^{bAB}	1,015 ^{abAB}	0,04	0,001	0,179	0,606	0,050
FDN	4,73	5,02 ^a	4,09 ^{ab}	3,47 ^b	4,35 ^{ab}	0,19	0,013	0,043	0,936	0,005
<i>Digestibilidade (g/kg)</i>										
MS	621,33	677,69	660,50	658,54	690,76	13,92	0,199	0,757	0,676	0,176
MO	680,44	714,96	702,37	706,29	732,21	13,30	0,524	0,500	0,670	0,224
PB	604,36 ^B	773,44 ^A	723,28 ^A	755,08 ^A	744,62 ^A	17,61	0,002	0,945	0,172	0,366
FDN	625,36	643,56	653,77	622,53	633,33	14,35	0,867	0,344	0,630	0,989

^{a-b}Letras minúsculas são desdobramento da interação LCCt*QUI feitas pelo recurso PDIFP do SAS.

^{A-B}Letras maiúsculas são comparações pelo teste de Tukey ajustado do SAS.

Tabela 5. Parâmetros de fermentação ruminal em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.

Item	SM	Suplementos experimentais				EPM	P-valor			
		SUP	QUI	LCct	LCct*QUI		Dieta	LCct	QUI	LCct*QUI
<i>mg/dL</i>										
pH	6,51 ^C	6,54 ^{abB}	6,57 ^{aA}	6,58 ^{aA}	6,53 ^{bbB}	0,05	0,013	0,048	0,946	0,005
N-NH ₃	13,14 ^C	31,70 ^{bbB}	41,24 ^{aA}	43,02 ^{aA}	32,19 ^{abB}	3,97	0,001	0,536	0,522	0,002
<i>mmol/L</i>										
Acetato	59,73 ^B	61,17 ^A	53,53 ^C	59,71 ^B	64,75 ^A	2,16	0,011	0,250	0,008	0,138
Propionato	14,96	15,40	18,30	15,31	15,85	0,58	0,115	0,301	0,003	0,267
Butirato	9,32	9,77	8,23	9,41	9,81	0,40	0,532	0,463	0,493	0,245
Isobutirato	1,00	0,99	0,96	0,98	1,06	0,03	0,675	0,541	0,791	0,479
Valerato	0,77	0,75	0,72	0,78	0,79	0,04	0,875	0,490	0,872	0,771
Isovalerato	1,22	1,18	1,18	1,19	1,28	0,11	0,665	0,619	0,723	0,688
AGCR ¹	2,98	2,94	2,86	2,97	3,14	0,04	0,554	0,613	0,530	0,789
C2/C3	4,02	4,00	4,03	3,97	4,07	0,05	0,876	0,948	0,508	0,723
Total	86,99 ^{BC}	89,29 ^{bbB}	82,41 ^{bcC}	87,93 ^{abB}	93,57 ^{aA}	3,19	0,012	0,321	0,681	0,004

AGCR¹= Ácidos graxos de cadeia ramificada

^{a-b}Letras minúsculas são desdobramento da interação LCct*QUI feitas pelo recurso PDIF do SAS.

^{A-B}Letras maiúsculas são comparações pelo teste de Tukey ajustado do SAS.

Tabela 6. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.

Item	SM	Suplementos experimentais				EPM	P-valor			
		SUP	QUI	LCct	LCct*QUI		Dieta	LCct	QUI	LCct*QUI
<i>mmol/L</i>										
Alantoina	11,08	10,83	11,24	10,66	10,61	0,13	0,343	0,123	0,321	0,431
Ácido úrico	0,80	0,58	0,58	0,67	0,99	0,11	0,654	0,553	0,651	0,491
Purina totais	11,89	11,42	11,83	11,33	11,60	0,14	0,541	0,221	0,338	0,231
<i>mmol/dia</i>										
Alantoina	129,04 ^C	140,00 ^B	148,25 ^B	211,07 ^A	109,07 ^C	5,45	0,004	0,027	0,431	0,119
Ácido úrico	6,53 ^C	9,11 ^B	10,54 ^B	14,98 ^A	11,01 ^{AB}	1,67	0,012	0,021	0,651	0,431
Purina totais	135,58 ^C	149,11 ^B	158,80 ^B	226,05 ^A	120,08 ^D	5,34	0,007	0,032	0,531	0,216
Purinas abs	150,10 ^C	160,01 ^{Bc}	174,37 ^B	254,97 ^A	128,55 ^D	7,02	0,008	0,021	0,652	0,119
<i>g/dia</i>										
Nitrogênio	109,13 ^C	116,33 ^{BC}	126,77 ^B	185,38 ^A	93,46 ^D	7,45	0,032	0,004	0,541	0,228
PB	682,04 ^C	727,07 ^{BC}	792,33 ^B	1158,61 ^A	584,13 ^D	13,43	0,032	0,004	0,541	0,228

^{a-b}Letras minúsculas são desdobramento da interação LCct*QUI feitas pelo recurso PDIFF do SAS.

^{A-B}Letras maiúsculas são comparações pelo teste de Tukey ajustado do SAS.

Tabela 7. Valores médios do balanço de nitrogênio em novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.

Item	SM	Suplementos experimentais				EPM	P-valor			
		SUP	QUI	LCCt	LCCt*QUI		Dieta	LCCt	QUI	LCCt*QUI
<i>Consumo (g/dia)</i>										
Nitrogenio	121.91 ^B	162.49 ^{AB}	155.07 ^{AB}	145.22 ^{AB}	184.33 ^A	8.91	0.040	0.278	0.671	0.126
<i>Excreção (g/dia)</i>										
Urina	28.09 ^C	52.45 ^C	65.10 ^B	53.03 ^C	80.52 ^A	0.01	0.047	0.245	0.341	0.008
Fezes	43.02	41.36	36.13	34.35	38.97	2.06	0.125	0.896	0.391	0.064
<i>Balanço (g/kg)</i>										
Absorvido	78.86 ^B	121.04 ^{AB}	118.87 ^{AB}	110.71 ^{AB}	145.31 ^A	8.84	0.039	0.254	0.558	0.201
Retido	50.08 ^B	68.68 ^A	53.84 ^{AB}	57.84 ^{AB}	64.84 ^A	8.84	0.039	0.254	0.558	0.201

^{a-b}Letras minúsculas são desdobramento da interação LCCt*QUI feitas pelo recurso PDIFP do SAS.

^{A-B}Letras maiúsculas são comparações pelo teste de Tukey ajustado do SAS.

Tabela 8. Valores médios para concentração de uréia e creatinina na urina, concentração de ureia e creatinina sanguínea, excreção de uréia e creatinina na urina, excreção de creatinina, ureia e creatinina plasmática, excreção fracional de ureia.

Item	SM	Suplementos experimentais				EPM	P-valor			
		SUP	QUI	LCct	LCct*QUI		Dieta	LCct	QUI	LCct*QUI
<i>Urina (mg/dL)</i>										
Ureia	57,65	65,90	67,47	66,78	68,35	1,49	0,144	0,123	0,321	0,431
Creatinina	2,42	3,23	4,17	2,69	3,09	0,39	0,706	0,510	0,431	0,791
N-Ureico	26,86	30,71	31,44	31,12	31,85	0,69	0,144	0,685	0,474	0,931
N- Creatinina	0,90	1,20	1,55	1,00	1,15	0,14	0,706	0,431	0,510	0,791
<i>Sangue (mg/dL)</i>										
Ureia	61,25	69,15	67,42	63,55	68,46	2,03	0,684	0,431	0,581	0,256
Creatinina	0,35	0,50	0,31	0,50	0,45	0,06	0,835	0,627	0,417	0,590
N-Ureico	28,54	32,23	31,41	29,61	31,90	0,94	0,684	0,431	0,583	0,255
N- Creatinina	0,13	0,18	0,11	0,18	0,16	0,02	0,835	0,621	0,415	0,597
<i>Excreção (mg/kg PC)</i>										
Ureia	60,73	77,60	77,88	74,32	78,22	5,35	0,623	0,821	0,748	0,781
Creatinina	28,92	28,99	29,02	29,10	29,01	0,18	0,312	0,344	0,541	0,228
<i>Clearance (24 horas)</i>										
Ureia	1,06	1,12	1,16	1,20	1,14	0,08	0,952	0,720	0,910	0,578
Creatinina	117,54	80,94	108,28	79,33	123,69	13,43	0,786	0,797	0,213	0,751
<i>Excreção fracional (%)</i>										
Ureia	1,34	2,05	1,24	2,16	1,96	0,31	0,841	0,468	0,385	0,591

^{a-b}Letras minúsculas são desdobramento da interação LCct*QUI feitas pelo recurso PDIF do SAS.

^{A-B}Letras maiúsculas são comparações pelo teste de Tukey ajustado do SAS.