



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

Curso de Doutorado

**DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA NA
TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO**

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

**Dourados - MS
Fevereiro de 2023**



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

Curso de Doutorado

**DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA NA
TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO**

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

Zootecnista

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

Coorientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

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

Dourados, MS

Fevereiro de 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586d Silva, Nayara Gonçalves Da
DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA NA TERMINAÇÃO
INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO [recurso eletrônico] / Nayara Gonçalves Da Silva. --
2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. ácidos graxos. 2. pasto. 3. rúmen. 4. suplementação. 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.

DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA NA TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO

por

NAYARA GONÇALVES DA SILVA

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de DOUTORA EM ZOOTECNIA

Defesa aprovada em: 28 de fevereiro de 2023



Documento assinado digitalmente
RAFAEL HENRIQUE DE TONISSI E BUSCHINI
Data: 11/05/2023 17:16:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Orientador - Universidade Federal da Grande Dourados



Documento assinado digitalmente
Milene Puntel Osmari
Data: 03/05/2023 10:56:13-0300
CPF: ***.886.630-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dr^a. Milene Puntel Osmari
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
ROSEMARY LAIS GALATI
Data: 06/05/2023 21:43:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. Rosemary Lais Galati
Universidade Federal de Mato Grosso



Documento assinado digitalmente
SORAYA MARIA PALMA LUZ JAEGER
Data: 04/05/2023 11:37:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. Soraya Maria Palma Luz Jaeger
Universidade Federal do Recôncavo Baiano



Documento assinado digitalmente
JEFFERSON RODRIGUES GANDRA
Data: 08/05/2023 16:50:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Dr^a. Tatiane Fernandes
Virginia Tech

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 02/01/2018 até 26/02/2019. Em maio de 2019 iniciou o curso de Doutorado junto ao Programa Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

*Dedico a Deus e aos meus amados pais, irmã e afilhada:
Maria Elena, Fausto Humberto, Fernanda Cristina e Isadora.*

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 amados pais (Elena e Fausto) e irmã (Fernanda) pelo apoio financeiro e amor incondicional, pela confiança depositada e por sempre estarem ao meu lado. A minha afilhada Isadora, que através do seu nascimento me deu forças e soube de forma mais simples aquecer meu coração em dias de angústia. Vocês são minha força diária e o maior motivo para eu nunca desistir dos meus sonhos.

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, Raíssa, Camila, Ludmila, Natália, Letícia e Talita. Amo vocês.

A minha família de Naviraí, Laura, Edvaldo, Samia, Alessandro e Gabriel por todo apoio, força e carinho enquanto estive em Dourados, vocês são mais que especiais na minha vida e sempre vão estar no meu coração.

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 todos os professores do programa de pós-graduação em Zootecnia, pelo aprendizado. Em especial ao professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, por sempre participar dos meus projetos e estatística.

A professora Dra. Tatiane Fernandes, pelo apoio nas análises de ácidos graxos e pela ajuda incondicional na correção da minha tese, você foi essencial na minha fase final e é motivo de inspiração para mim.

Ao amigo Luiz Henrique, pelos conselhos profissionais e por sempre me ouvir nos momentos de angústia. Ao amigo Cícero (Ciçu chato), por me aturar e ajudar diariamente no trabalho. A toda equipe Cerrado Alimentação Animal pelo convívio profissional.

Aos amigos e colegas de pós-graduação que me ajudaram de alguma forma e incentivaram durante a minha experiência no doutorado (Renata, Rebeca, Thais, Yasmin, Joyce, Cristiane, Edgar e Sullyvan) obrigada por me ouvirem, obrigada pelos estudos e obrigada pelos momentos de lazes e sorrisos que compartilhamos. Em especial a minha amiga Jéssica (*in memorian*), que me ensinou a verdadeira essência de viver.

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 (Rochelli) que sempre esteve ao meu lado, amiga, irmã, companheira e todas as definições de carinho que poderiam a descrever, você foi meu esteio (B2). Em especial ao quarteto fantástico (Manu, Lavinia, Calebe e Thalisson), pela realização do experimento e por sempre estarem juntos nas horas de trabalho, sem vocês não chegaria até aqui. O trabalho é de vocês.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos, minha gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	12
CAPÍTULO I	14
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Oleaginosas na nutrição animal	16
2.2. Soja	19
2.3. Cártamo	20
2.4. Quitosana	21
2.5. Biohidrogenação ruminal	25
2.6. Terminação intensiva a pasto (TIP)	30
2.7. Implicações Futuras	32
3. HIPÓTESE	33
3.1. Objetivos específicos	33
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO II	49
DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA SOBRE A FERMENTAÇÃO E DIGESTIBILIDADE RUMINAL NA TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO	49
RESUMO	50
1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1. <i>Local, animais e tratamentos</i>	54
2.2. <i>Disponibilidade de forragem</i>	55
2.3. <i>Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total</i>	56
2.4. <i>Fermentação ruminal</i>	57
2.5. <i>Síntese de proteína microbiana e derivados e purinas</i>	58
2.6. <i>Metabolismo da ureia</i>	58
2.7. <i>Cálculos e análise estatística</i>	59
3. RESULTADOS	61
3.1. <i>Disponibilidade de forragem</i>	61
3.2. <i>Consumo e digestibilidade</i>	61

3.3. <i>Padrões fermentativos</i>	62
3.4. <i>Excreção dos derivados de purina e síntese de N-microbiano</i>	62
4. DISCUSSÃO	62
5. CONCLUSÃO.....	68
6. REFERÊNCIAS	71
CAPÍTULO III.....	84
DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA SOBRE A BIOHIDROGENAÇÃO RUMINAL NA TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO⁸⁴	
RESUMO.....	85
1. INTRODUÇÃO.....	87
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	89
2.1. <i>Local, animais e tratamentos</i>	89
2.2. <i>Composição bromatológica da dieta</i>	90
2.3. <i>Ácidos graxos da dieta, líquido ruminal e fezes</i>	91
2.4. <i>Cálculos e análise estatística</i>	93
3. RESULTADOS	94
3.1. <i>Biohidrogenação ruminal</i>	94
3.2. <i>Concentração fecal de ácidos graxos</i>	95
4. DISCUSSÃO	95
5. CONCLUSÃO.....	99
6. REFERÊNCIAS	102

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1. Ingredientes e composição química dos suplementos fornecidos aos animais.	78
Tabela 2. Disponibilidade de matéria seca e matéria verde totais, características morfológicas e composição bromatológica do pasto de <i>Urochloa brizantha</i> , syn. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.	79
Tabela 3. Composição química da forragem (<i>Urochloa brizantha</i> , syn. <i>Brachiaria brizantha</i>) ingerida pelos animais.	80
Tabela 4. Valores médios de consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.	81
Tabela 5. Valores médios dos padrões de fermentação ruminal dos novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.	82
Tabela 6. Valores médios dos derivados de purinas e eficiência da síntese de proteína microbiana dos novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais. ...	83

Capítulo III

Tabela 1. Ingredientes e composição química dos suplementos fornecidos aos animais.	107
Tabela 2. Composição bromatológica do pasto <i>Urochloa brizantha</i> , syn. <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu.	108
Tabela 3. Perfil de ácidos graxos dos ingredientes componentes da dieta de novilhos suplementados a pasto.	109
Tabela 4. Efeito dos grãos de oleaginosas, associados com quitosana na concentração dos ácidos graxos no líquido ruminal de novilhos.	110
Tabela 5. Concentração fecal de ácidos graxos do suplemento proteico/energético fornecido aos novilhos de acordo com as dietas expereimentais.	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas de celulose, quitina e quitosana (Adaptado de Ravi Kumar, 2000)	22
Figura 2. Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina. ...	22
Figura 3. Esquema da desacetilação da quitina, que origina a quitosana (Adaptado de Streit, 2004).	23
Figura 4. Vias de biohidrogenação ruminal principais e "trans-10 shifted" de ácido linoléico (18:2n-6) e ácido α -linolênico (18:3n-3). As setas com linhas contínuas descrevem as principais vias de biohidrogenação conhecidas (Harfoot e Hazlewood, 1997) e as linhas tracejadas descrevem as vias propostas por Griinari e Bauman. (1999). Os ácidos graxos em negrito são intermediários de biohidrogenação já identificados em amostras de ruminantes e os ácidos graxos sublinhados são isômeros ainda não identificados como intermediários de biohidrogenação.	28

LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC - Association of Analytical Chemists	Pabs - Purinas microbianas absorvidas
AG - Ácidos graxos	PB - Proteína Bruta
BH - Biohidrogenação	PC - Peso Corporal
BN - Balanço de Compostos Nitrogenados	AGPI - Ácidos graxos poliinsaturados
CHODR - Carboidratos degradados no rúmen	Q - Quitosana
CLA - Ácido graxo linoleico conjugado	AGS - Ácidos graxos saturados
CON - Controle	SJ - Soja
CT- Cártamo	SJQ - Soja e Quitosana
CTQ - cártamo e quitosana,	SUPL - Suplemento
CZ - Cinza	TiO ₂ - Dióxido de titânio
DP - Derivados de Purina	AGI - Ácidos graxos insaturados
EE - Extrato etéreo	
FDA - Fibra em detergente ácido	
FDN - Fibra em detergente neutro	
FDNi - Fibra em detergente neutro indigestível	
HCl - Ácido Clorídrico	
H ₂ SO ₄ - Ácido Sulfúrico	
MM - Matéria Mineral	
MO - Matéria Orgânica	
MS - Matéria Seca	
AGMI - Ácidos graxos monoinsaturados	
NEB - Nitrogênio endógeno basal	
NDT - Nutrientes digestíveis totais	
NRC - National Research Council	
Nret - Nitrogênio retido	
OL - Cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana	

RESUMO

SILVA, Nayara Gonçalves, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados MS, julho de 2022. **Dietas com grãos de oleaginosas e quitosana na terminação intensiva de novilhos a pasto.** Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes. Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do uso de grãos de oleaginosas associadas com quitosana no suplemento de novilhos a pasto, sobre o consumo, digestibilidade, fermentação e biohidrogenação ruminal (BH). Capítulo II: Cinco novilhos mestiços com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais, foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Os animais foram mantidos em piquetes individuais em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), e suplementados diariamente na proporção de 2% do peso corporal (PC). Os tratamentos experimentais foram: Suplemento proteico/energético a base de farelo de soja como controle (CON); Suplemento a base de cártamo grão (CT); CT com adição de quitosana (CTQ); Suplemento a base de soja grão (SJ) e SJ com adição de quitosana (SJQ). A quitosana foi adicionada diretamente no rúmen dos animais na dosagem de 900 mg/kg de MS. A presença de oleaginosas na suplementação resultou em aumento no consumo de EE ($P < 0.001$). Os animais suplementados com oleaginosas (CONxOLE) apresentaram um aumento de 4,4% na digestibilidade de EE em relação a dieta controle ($P < 0.001$). Na comparação entre grão de cártamo e soja (CTxSJ), a adição da soja apontou maiores valores para o consumo de MS do suplemento com média de 7,43 kg/dia, e aumentou em 8,06% o consumo de PB dos animais, ($P < 0.001$). A inclusão de cártamo apresentou aumento de 20% no consumo de EE e aumento de 14% no consumo de FDN (CTxSJ). Observou-se maior digestibilidade do EE, (0,964 g/kg) com o fornecimento do CT (CTxSJ). A Quitosana na dieta a base de soja, tende a aumentar consumo de MA, MO e PB. A suplementação de CT e SJ com ou sem a inclusão da quitosana não influenciaram ($P > 0.05$) os padrões de fermentação ruminal, excreção dos derivados de purina e síntese de N-microbiano. A inclusão de oleaginosas na dieta de novilhos, promove mudanças no consumo e digestibilidade. O fornecimento do grão cártamo aumenta consumo de EE; FDN e a digestibilidade de EE. A adição da quitosana na dieta com cártamo melhorou a digestibilidade dos nutrientes. Capítulo III: Utilizou-se o mesmo protocolo experimental do capítulo II. Os valores de t9c11-18:2 ($P = 0,048$) e CLA

dimetilester ($P = 0,001$) caracterizaram menores concentrações para inclusão de oleaginosas (CONxOLE). O ácido graxo c13-18:1 monoinsaturado cis, resultou em maior valor ($P = 0,029$) com o grão soja (CTxSJ). O grão cártamo (CTxSJ) apresentou maiores respostas para a concentração de todos os monoinsaturados trans, com média de 2,294%. O ácido graxo t11,c15-18:2 apresentou média superior de 0,022% para a adição de grão soja (CTxSJ). A inclusão da quitosana (CTxCTQ), levou a uma menor concentração do t11-18:1 ($P = 0.070$). O ácido graxo t9c11-18:2 apresentou menor concentração ($P = 0.001$) com a inclusão da quitosana (SJxSJQ). O fornecimento de oleaginosas (CONTxOLE), apresentou menores valores ($P < 0.001$) para ácidos graxos saturados (AGS) e maior valor para C18:2w6 nas fezes. O grão cártamo (CTxSJ) obteve maior concentração ($P < 0.001$) de C12:0; C14:0 e C18:2w6 nas fezes. A inclusão de diferentes fontes oleaginosas promove maiores modificações na BH ruminal e a inclusão da quitosana mostrou-se pouco expressiva na excreção fecal de ácidos graxos.

Palavras-chave: ácidos graxos, pasto, rúmen, suplementação

ABSTRACT

SILVA, Nayara Gonçalves, Federal University of Grande Dourados, Dourados MS, July 2022. **Diets with oleaginous grains and chitosan in the intensive finishing of steers on pasture.** Advisor: Rafael Henrique de Tonissi and Buschinelli de Goes. Co-advisor: Jefferson Rodrigues Gandra

The objective of this work was to evaluate the effect of using oleaginous grains associated with chitosan in the supplement of steers on pasture, on consumption, digestibility, fermentation and ruminal biohydrogenation. Chapter II: Five crossbred steers with an average weight of 300 kg, provided with ruminal cannulas, were randomly distributed in a 5x5 Latin square. The animals were kept in individual paddocks in *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), and supplemented daily in the proportion of 2% of body weight (BW). The experimental treatments were protein/energy supplement based on soybean meal as control (CON); Supplement based on safflower grain (CT); CT with addition of chitosan (CTQ); Supplement based on soybean grain (SJ) and SJ with the addition of chitosan (SJQ). Chitosan was added directly to the animals' rumen at a dosage of 900 mg/kg DM. The presence of oilseeds in the supplementation resulted in an increase in EE consumption ($P < 0.001$). Animals supplemented with oilseeds (CONxOLE) showed a 4.4% increase in EE digestibility compared to the control diet ($P < 0.001$). In the comparison between safflower grain and soy (CTxSJ), the addition of soy showed higher values for the DM intake of the supplement, with an average of 7.43 kg/day, and increased the CP intake of the animals by 8.06%, ($P < 0.001$). The inclusion of safflower showed a 20% increase in EE consumption and a 14% increase in NDF consumption (CTxSJ). Higher EE digestibility (0.964 g/kg) was observed with the supply of CT (CTxSJ). Chitosan in the soy-based diet tends to increase the consumption of MA, MO and CP. CT and SJ supplementation with or without the inclusion of chitosan did not influence ($P > 0.05$) the patterns of ruminal fermentation, excretion of purine derivatives and microbial N synthesis. The inclusion of oilseeds in the diet of steers promotes changes in intake and digestibility. The supply of safflower grain increases EE consumption; NDF and EE digestibility. The addition of chitosan to the safflower diet improved nutrient digestibility. Chapter III: The same experimental protocol as in Chapter II was used. The values of t9c11-18:2 ($P = 0.048$) and CLA dimethylester ($P = 0.001$) characterized lower concentrations for inclusion of oilseeds (CONxOLE). The c13-18:1 cis monounsaturated fatty acid resulted in a higher value ($P = 0.029$) with soybean

(CTxSJ). The safflower grain (CTxSJ) showed the highest responses for the concentration of all trans monounsaturated (MUFA), with an average of 2.294%. The fatty acid t11,c15-18:2 showed a higher average of 0.022% for the addition of soybean grain (CTxSJ). The inclusion of chitosan (CTxCTQ) led to a lower concentration of t11-18:1 ($P = 0.070$). The t9c11-18:2 fatty acid showed a lower concentration ($P = 0.001$) with the inclusion of chitosan (SJxSJQ). The supply of oilseeds (CONTxOLE) showed lower values ($P < 0.001$) for saturated fatty acids and higher values for C18:2w6 in feces. The safflower grain (CTxSJ) obtained the highest concentration ($P < 0.001$) of C12:0; C14:0 and C18:2w6 in stool. The inclusion of different oleaginous sources promotes greater changes in ruminal biohydrogenation and the inclusion of chitosan was not very expressive in the fecal excretion of fatty acids.

Keywords: fatty acids, pasture, rumen, supplementation

CAPÍTULO I
DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA NA
TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A bovinocultura extensiva é reconhecida pelo uso de grandes áreas de pastagens, que bem manejadas fornecem aos animais dieta de boa qualidade, atendendo de forma econômica os requisitos nutricionais da espécie. Entretanto, as sazonalidades climáticas impactam a qualidade e a quantidade de forragem (Reuter et al., 2017). Devido a essa sazonalidade é necessária a suplementação para suprir adequadamente as necessidades energéticas e proteicas do animal (Wyffels et al., 2018). Aliado à nutrição e produção de ruminantes, a demanda do consumidor por produtos de origem animal mais seguros, naturais e que promovam a saúde é um desafio (Christaki et al., 2020). Isso é de grande importância, dados os efeitos benéficos relatados de alguns ácidos graxos de cadeia longa (AGCL), como o ácido linoleico conjugado (CLA, conjugated linoleinic acid), sobre a saúde humana (Parodi, 1997). Nesse contexto, fontes oleaginosas, além de aumentar a densidade energética das dietas para bovinos, visam melhorar o valor nutricional dos lipídios no leite e na carne (Ferlay e Chilliard., 2020).

No entanto, a maior adição de oleaginosas na dieta pode ser tóxica para os microrganismos do rúmen e prejudicar a fermentação ruminal, por serem ricas em ácidos graxos insaturados (AGI) (Jenkins e Bridges 2007). Essa toxidez tem potencial para modificar a biohidrogenação (BH) de ácidos graxos (Palmquist e Jenkins, 2017), causando efeito prejudicial sobre o consumo, podendo também ocasionar alterações no metabolismo ruminal, queda na digestibilidade e no aproveitamento dos nutrientes (Ibrahim et al., 2021). Esses efeitos estão relacionados ao grau de insaturação dos AG, nível e forma de inclusão. Óleos têm efeitos negativos quando usados em doses elevadas (Shingfield et al., 2008), com maior proporção de AGI.

O uso de grãos inteiros é uma estratégia utilizada para minimizar os efeitos adversos de elevados níveis de óleo (Gomez-Insuastl et al., 2018). Além da porcentagem de inclusão e tipo de suplementação lipídica, trabalhos têm sido realizados com a intenção de diminuir a BH de C18:1 t11 no rúmen, aumentando o conteúdo de CLA de produtos de ruminantes (Goiri et al., 2010a). O controle das reações de BH é interessante por que a BH afeta diretamente a composição de ácidos graxos no leite e na carne de ruminantes (Meynadier et al., 2018). A extensa atividade de BH causa deposição ineficaz de ácidos graxos polinsaturados em produtos de origem animal (Makmur et al., 2022). Os aditivos alimentares, como antibióticos ionóforos, também podem alterar os microrganismos e consequentemente a

proporção da BH (Fellner et al., 1997) No entanto a utilização destes aditivos sofreu algumas restrições frente às barreiras sociais ligadas a segurança alimentar, buscando-se emprego de compostos naturais (Goiri et al., 2010a).

A quitosana é um biopolímero natural (N-acetil-d-glicosamina) derivado da desacetilação da quitina, e o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos (Anggraeni et al., 2022). A atividade antimicrobiana da quitosana é considerada uma de suas propriedades mais interessantes (Matsushashi e Kume, 1997), levando à avaliação de seu uso na nutrição de ruminantes (Goiri et al., 2009). As suas propriedades têm um impacto positivo no desempenho da produção, digestibilidade alimentar, fermentação ruminal e população bacteriana (Matra et al., 2022). Há evidências promissoras de que a quitosana pode ser usada como aditivo na alimentação animal e que intervenções de alimentação bem planejadas com foco nesses compostos são altamente incentivadas (Seankamsorn et al., 2021; Ocampo et al., 2019).

As bactérias lipolíticas e algumas bactérias hidrogenadoras são Gram-negativas (Harfoot e Hazlewood, 1988). Os aditivos com espectros antimicrobianos Gram-negativos, como a quitosana (Helander et al., 2001), podem diminuir a lipólise e BH. O mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana é caracterizado pela mudança na permeabilidade da membrana celular causado pelo transporte de íons (Senel e McClure, 2004). A interação da quitosana com as bactérias gram negativas se dá através da superfície da membrana celular (camada lipopolissacáridica) e juntamente com sua capacidade de interagir eletrostaticamente com ácidos graxos carregados negativamente na gordura (Chiang et al., 2009).

A utilização de fontes oleaginosas e aditivo natural na dieta de novilhos podem atuar de forma sinérgica, alterando a fermentação ruminal, promovendo alterações no consumo, nos parâmetros fermentativos e na digestão dos nutrientes, podendo modificar também a BH ruminal. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito do uso de grãos de oleaginosas com inclusão da quitosana na nutrição de bovinos a pasto e a sua relação com parâmetros fermentativos, para elucidar padrões relacionados a consumo e fisiologia ruminal.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Oleaginosas na nutrição animal

A adição suplementar de lipídios tem sido utilizada para bovinos com o intuito de aumentar o valor energético da dieta, o rendimento e o valor nutricional da carne

(Rosa et al., 2013). A inclusão de gordura na dieta de ruminantes fornece ácidos graxos essenciais. O aumento da densidade energética da dieta e a melhoria da eficiência alimentar são vantajosos, resultantes da suplementação de gordura na dieta de bovinos confinados. Isso se deve em grande parte a uma alteração no consumo de matéria seca (CMS) e nos parâmetros de fermentação ruminal (Nasem, 2016; Hales et al., 2017). Em sistema de produção a pasto, a suplementação alimentar de bovinos de corte com uso de lipídios pode corrigir potenciais desequilíbrios das pastagens tropicais, melhorar o balanço energético e eficiência produtiva da pecuária. Em sistemas que o animal recebe suplementação lipídica, entretanto, alterações na fermentação ruminal podem ocorrer devido à ação de toxicidade de ácidos graxos poliinsaturados (Henderson, 1973; Jenkins, 1993). Essa situação, dependendo da composição da dieta basal, resulta em redução da digestibilidade da fibra e do consumo de matéria seca (CMS), o que impulsiona diferentes estratégias nutricionais para reduzir os efeitos de ácidos graxos insaturados sobre os parâmetros de fermentação ruminal em bovinos (Gomez-Insuasti et al., 2014; Gomez-Insuasti et al., 2018).

O uso de fontes de ácidos graxos poliinsaturados adicionados às dietas podem alterar o perfil de ácidos graxos do leite e da carne (Shingfield et al., 2008; Machado Neto et al., 2015). Apesar de terem importantes efeitos funcionais na saúde humana (Marks et al., 2004; Lourenço et al., 2010), a maior adição de ácidos graxos insaturados na dieta pode ser tóxica para os microrganismos do rúmen e prejudicar a fermentação (Jenkins et al., 2007). Isso pode acontecer, devido a muitos fatores, como revestimento de fibra, efeito tóxico para bactérias Gram-positivas e protozoários, modificando a absorção de hidrogênio por bactérias metanogênicas (Goel et al., 2009). Nesse contexto, Palmquist e Jenkins (1980) colocam que problemas no metabolismo ruminal podem ocorrer a partir de 6% de lipídeos na MS da dieta, dependendo das características estruturais da fonte lipídica adicionados à dieta basal (Jenkins e Mcguire, 2006).

A suplementação com fontes lipídicas pode causar efeitos negativos ou positivos em ruminantes dependendo da forma de fornecimento, como: fonte lipídica e quantidade fornecida, podendo alterar o ambiente ruminal e o fluxo de ácidos graxos insaturados

para o intestino delgado, alterando a digestibilidade ruminal dos mesmos (Hess et al., 2008). Dentre as várias fontes de gorduras que podem ser adicionadas na dieta

de ruminantes o óleo de soja é o mais utilizado (Oliveira, 2001). Entretanto, diversos tipos de lipídios com diferentes ácidos graxos, composição ou disponibilidade podem ser usados em dietas de ruminantes, como gorduras protegidas de origem vegetal (Hightshoe et al., 1991) assim como os grãos inteiros de oleaginosas (Talavera et al., 1985).

Os grãos íntegros de oleaginosas são utilizados pelas altas concentrações de lipídeos, bem como pela composição de ácidos graxos, ricos em ácidos insaturados (ω -3 e ω -6), e por apresentarem lenta liberação do óleo, decorrente da mastigação, proporcionando a chegada de pequenas frações ao ambiente ruminal (Coppock e Wilks, 1991). Estudos clássicos (Ekeren et al., 1992) apontaram que suplementação com lipídeos desprotegidos tem efeitos mínimos na composição de AG, devido à biohidrogenação de AGI por microrganismos ruminais (Chang, Lunt, & Smith, 1992). No entanto, os lipídios protegidos reduzem a biohidrogenação ruminal de AG, resultando na absorção de AGI no intestino delgado e posterior incorporação nos tecidos adiposo e muscular de ruminantes (Oltjen e Dinius, 1975). De acordo com Palmquist (1991), quando fontes de gordura são fornecidas na forma de sementes oleaginosas ocorre uma lenta liberação dos lipídios no ambiente ruminal, não superando a capacidade de hidrogenação dos microrganismos. Dessa forma, diminui os prejuízos na digestibilidade da fibra pelo efeito negativo que as gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar as bactérias fibrolíticas (Rennó et al. 2015). Os diferentes fornecimentos de lipídeos, também são empregados com a intenção de modificar o perfil lipídico da carne bovina e reduzir a incidência de doenças cardiovasculares em humanos, com a redução de lipídios totais, ácidos graxos saturados (AGS) e calorias na dieta do consumidor (Breidenstein, 1985).

Em relação ao cenário atual da pecuária, que deve ser pautado na sustentabilidade da produção, algumas estratégias nutricionais e de manejo são relatadas como eficientes na mitigação de emissões de gases de efeito estufa de sistemas de produção animal (Knapp et al., 2014). Martin et al (2010), ressalta que a suplementação lipídica em dietas é um dos meios mais eficazes para reduzir as emissões ruminais de metano (CH₄) em ruminantes. Estudos apontam que suplementos dietéticos de ácidos graxos saturados de cadeia média (como ácidos láurico e mirístico) apresentaram potencial para reduzir as emissões de CH₄ em vacas leiteiras (Odongo et al., 2007; Hollmann et al., 2012). Os mecanismos envolvidos na

diminuição da produção de CH₄ em bovinos suplementados com lipídios envolvem a digestão reduzida de matéria orgânica (MO) no rúmen, alterando a fermentação ruminal de acetato para produção de propionato e efeitos inibitórios diretos sobre microrganismo ruminais (Martin et al., 2010).

2.2. Soja

A soja (*Glycine max* L.) pertence à classe Magnoliopsida (dicotiledôneas), ordem Fabales, família Fabaceae (leguminosa), subfamília Faboideae, e gênero *Glycine* e tem como centro de origem a China (Embrapa, 2000). Amplamente disponível no Brasil, o grão de soja (rico em lipídios e proteínas) se destaca entre os diferentes alimentos disponíveis para nutrição de ruminantes devido ao seu alto teor de nutrientes (Barletta et al., 2012). Rica em proteínas, a soja é amplamente cultivada em todo o mundo como fonte de alimento humano e animal, apresentando cerca de 30 a 45% de proteína bruta, 15 a 25% de lipídeos, 20 a 35% de carboidratos e de 5% de cinzas (Moreira, 1999), já a composição de ácidos graxos é: ácido linoleico (55,3%), ácido oleico (23,6%), ácido palmítico (12,7%), ácido linolênico (4,5%) e esteárico (3,9%) (Sambanthamurthi et al., 2000).

A composição de ácidos graxos presentes nos óleos e nas sementes de oleaginosas, como exemplo o grão de soja, são variáveis e depende da origem botânica (Oliveira, 2017). Algumas sementes são ricas em AGS, e outras apresentam uma maior proporção de insaturados. Assim temos, a colza, girassol (variedades ricas em c9-18:1), azeitona e amendoim são ricos em c9-18:1; o algodão, cártamo, soja e girassol são ricos em 18:2n-6 enquanto o linho contém proporções relativamente elevadas de 18:3n-3 (Woods e Fearon, 2009).

Neste contexto, a inclusão de altos níveis de soja integral, rica em óleos insaturados, pode influenciar na redução do desempenho animal quando o teor de gordura da dieta excede 6% da matéria seca (MS) (Palmquist e Jenkins 1980; Hess et al., 2008). Tal situação está relacionada às características antimicrobianas, que geram efeitos tóxicos nas bactérias gram-positivas presentes no rúmen, especialmente na população celulolítica e metanogênica (Jenkins, 1993). Visto que a incorporação desses compostos à membrana bacteriana, altera a fluidez e permeabilidade da mesma (Kozloski, 2009). As recomendações do nível de inclusão do grão de soja na dieta de ruminantes apresentam alta variação (Lima, 2014).

Barleta (2010), ressalta que ao nível de 16%, a inclusão do grão de soja integral na dieta de vacas no início da lactação se mostrou satisfatório. Cònsolo et al. (2014)

ao avaliarem o fornecimento de três níveis do grão de soja integral (8, 16 e 24%) na dieta de bovinos de corte confinados concluíram que as maiores inclusões não comprometeram o desempenho produtivo, o metabolismo animal, a qualidade da carcaça e da carne. A inclusão do óleo de soja é considerada uma estratégia viável para melhorar a composição de ácidos graxos da carne (Santana, 2017). De acordo com Ueda et al (2003), a utilização do óleo de soja em 4 e 6% da MS, com o uso de feno de gramínea na proporção volumoso concentrado de 65:45, não gerou redução no consumo de MS e consumo de matéria orgânica. Dessa forma, a suplementação com óleo de soja apresenta potencial como estratégia nutricional para incrementar o escape ruminal de ácidos graxos insaturados e reduzir a deposição de ácidos graxos saturados (Duckett e Gillis 2010).

2.3. Cártamo

O cártamo (*Carthamus tinctorius L.*, Asteraceae), é uma oleaginosa de ciclo anual da família Asteraceae, que se adapta bem a vários tipos de solos e climas, principalmente o semiárido. Originário da Ásia, é cultivada principalmente para extração de óleo (Campanella et al., 2014). Há muitos anos, no Oeste e Centro dos Estados Unidos, o cártamo já era amplamente cultivado devido à tolerância a climas quentes e secos (Li e Mundel, 1996; Bradley et al., 1999).

As sementes desta espécie possuem elevados teores de óleo (35 a 45%), podendo ser utilizado tanto para consumo humano como para industrial. A composição do óleo de cártamo consiste em 90% de perfil insaturado, apresentando altos teores de ácido oleico (20-30%) e linoleico (70-75%) (Hamdan et al., 2009). Alimento de alta densidade energética, a semente de cártamo geralmente é 106% mais rica em gordura que o caroço de algodão (Dschaak et al., 2010). Esses nutrientes têm alto custo e são essenciais para a manutenção e desenvolvimento dos animais (Correia et al., 2011).

Alves et al (2018), avaliaram a inclusão de grãos de cártamo (0, 7,5 e 15%) na dieta de ovinos e observaram que a inclusão pode ser até 7,5%, sem alterar a degradabilidade e a fermentação ruminal. Alizadeh et al. (2010), relataram que o cártamo pode ser incluído em até 5% da matéria seca dietética juntamente com caroço de algodão para vacas, sem comprometer o consumo de matéria seca, mantendo a fermentação ruminal. Dschaak et al. (2011), demonstraram que a suplementação com cártamo em até 3% na MS nas dietas de vacas em lactação pode ser uma estratégia eficaz, sem efeitos negativos no desempenho lactacional, e nos perfis de ácidos

graxos do leite. Em estudo realizado por Bayat et al. (2017), foi demonstrado que a suplementação com óleo vegetal (colza, cártamo e linhaça), reduzem as emissões de metano e melhoram a composição de ácidos graxos do leite, fornecendo dietas à base de silagem de capim sem afetar a produção leiteira.

Vogel et al. (2020), investigaram os efeitos do óleo de linhaça e cártamo em vacas com ou sem a inclusão de ácido linoleico conjugado (CLA), observando um elevado teor de proteína do leite após a suplementação com CLA, e melhor estado energético dos animais, durante o início da lactação em ambos os grupos suplementados com CLA. Bell et al. (2006), avaliaram as combinações de óleos poliinsaturados (cártamo ou linhaça) com monensina e/ou vitamina E, demonstrando que a combinação de óleo de cártamo com monensina aumentaram a concentração de CLA no leite.

2.4. Quitosana

A quitosana é um biopolímero (N-acetil-d-glicosamina) derivado da desacetilação da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza e o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos (Senel e MCclure, 2004). Essencial para obtenção de pesquisas em vários campos de estudos, este produto vem sendo explorado ganhando cada vez mais atenção, por se tratar de um produto natural, abundante e não tóxico.

Em 1811 o professor francês Henri Braconnot identificou a quitina pela primeira vez (Roberts, 1992), e a quitosana foi originada por Rouget em 1859, através de um método de desacetilação da quitina usando uma solução concentrada de hidróxido de sódio. A quitina (N-acetil-2-dioxi-D-glicopirranose, interligadas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4)), é sintetizado por um enorme número de organismos vivos, depois da celulose é o polímero mais abundante na natureza. 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 (NHCOCH₃) e amino (NH₂) da quitina e quitosana respectivamente (Figura 1).

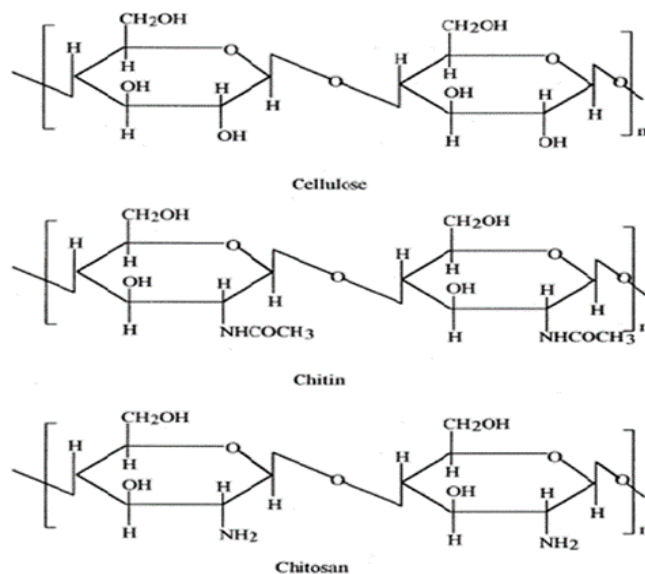


Figura 1. Estruturas de celulose, quitina e quitosana (Adaptado de Ravi Kumar, 2000)

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).

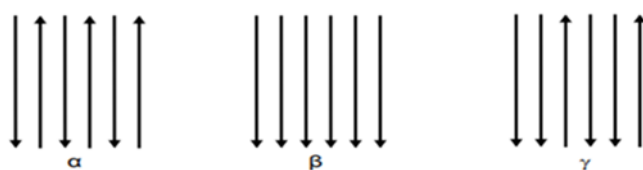


Figura 2. Orientações das cadeias poliméricas nas diferentes formas de quitina.

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 (-NHCOCH₃) são convertidos em grupos amino (-NH₂), 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).

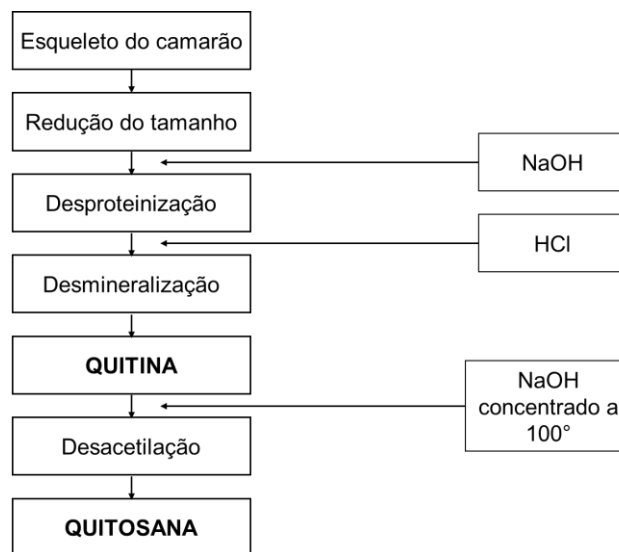


Figura 3. Esquema da desacetilação da quitina, que origina a quitosana (Adaptado de Streit, 2004).

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 maior a solvatação em água (Shi et al., 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 do aditivo, 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 de que a quitosana não sofre degradação no rúmen, tornando provável sua digestão no intestino delgado.

Contudo, Goiri et al (2009), 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 relacionada com a

seleção de bactérias. 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 (Helander et al.1998). 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 (No et al., 2002; Senel et al., 2004). A atividade antimicrobiana da quitosana como uma de suas propriedades mais interessantes (Matsushashi e Kume, 1997), levou a avaliação de seu uso em nutrição de ruminantes (Goiri et al., 2010a). Diversos estudos mostraram que a quitosana pode alterar a fermentação ruminal, ingestão e digestibilidade de nutrientes.

Mingoti et al (2016), utilizando diferentes doses de quitosana (50, 100 e 150 mg /kg de peso corporal), investigaram os seus efeitos sobre a ingestão de matéria seca e digestibilidade dos nutrientes em vacas em lactação. Os autores demonstraram 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 Vendramini et al., (2016), a suplementação de 150mg de quitosana por kg peso corporal para vacas em lactação aumentou a digestibilidade da MS e proteína, reduzindo a relação acetato:propionato e a excreção fecal de N. Araújo et al (2015), utilizaram novilhos de corte e forneceram diferentes doses de quitosana, relatando que o aditivo pode ser utilizado como modulador da fermentação ruminal, especialmente entre os níveis 100 e 150 mg/kg de PV. Isto, devido sua capacidade de melhorar a digestibilidade dos nutrientes e as concentrações de propionato. Dias et al (2017), recomendou-se em seu estudo a utilização de 900 mg de quitosana/kg de concentrado na dieta novilhos a pasto, observando resultados positivos sobre o consumo e a digestibilidade da MS e aumento do propionato ruminal.

Em estudo in vitro, a quitosana inibiu a BH, elevando as proporções de ácido graxo C18:1, t11 e ácido linoléico conjugado total (CLA), diminuindo a proporção de ácido graxo saturado (Goiri et al. 2010b). Del Valle et al (2017), relataram que a quitosana não foi capaz de inibir a BH do ácido linoléico em dietas suplementadas com gordura. Estudando a citotoxicidade da quitosana, Yinghui et al. (2007), descobriram mudanças químicas exclusivas da molécula deste aditivo associadas ao

ácido linoleico. A junção dos componentes, alterou a densidade de carga molecular, funções catiônicas, estrutura e flexibilidade conformacional.

Em trabalho realizado por Mingoti et al. (2016), utilizando quitosana e fonte de oleaginosa, não observaram efeito do aditivo no perfil de ácidos graxos do leite. A dieta aumentou a concentração de ácido linoléico e linolênico no leite, sem a inclusão de óleo. De acordo com Goiri et al. (2010b), a quitosana pode agir com os ácidos graxos livres e carregados negativamente, dificultando a atividade de BH, como também, inibindo o crescimento de populações microbianas.

A quitosana tem uma capacidade quelante com muitos íons metálicos, ou seja, possui grupos aminos e hidroxila, que tem a possibilidade de reações e interações iônicas (Wu et al., 2005). A interação entre as cargas positivas dos grupos $-NH_3^+$ presentes nas cadeias de quitosanas e às cargas negativas da parede celular dos microrganismos, podem estar relacionados a quelação de nutrientes e ao rompimento da membrana celular (Macedo et al., 2022). Já suplementação de bovinos com fontes de oleaginosas, causam alterações no metabolismo de absorção, como a formação de sais de cálcio de ácidos graxos. De acordo com, Kurita, (1998), a associação da quitosana com oleaginosas poderia determinar mudanças metabolismo intermediário e reduzir a eficiência da utilização de nutrientes. Levando isso em consideração, a presença de microrganismos ruminais, como as bactérias lipolíticas e algumas bactérias hidrogenadoras são consideradas Gram-negativas (Harfoot e Hazlewood, 1988). Aditivos com espectros antimicrobianos Gram-negativos, podem reduzir a atividade lipolítica e BH dos microrganismos. Assim, pode-se supor que a quitosana pode interagir com ácidos graxos livres carregados negativamente (Helander et al., 2001; Chiang et al., 2009), impedindo assim o processo de BH e/ou afetar o crescimento de certas populações microbianas. *in vitro* (Goiri et al., 2009; Goiri et al. 2010b).

2.5. Biohidrogenação ruminal

Com o avanço das pesquisas envolvendo a nutrição e o desempenho animal, o estudo do fornecimento dos lipídeos na alimentação de ruminantes é essencial para a compreensão da adequada suplementação, tendo em vista alta performance produtiva. Nesse contexto há o uso de gorduras na alimentação de bovinos com o objetivo de incremento energético sem que haja necessidade de aumentar os carboidratos fermentáveis no rúmen.

O fornecimento de ácidos graxos e sua metabolização no rúmen não contribuem para o crescimento da proteína microbiana ruminal, sendo necessário adequar a energia e proteína em relação a esse aspecto. No entanto, o fornecimento de lipídeo influencia na síntese e incorporação dos ácidos graxos pela microbiota ruminal (Medeiros et al., 2015). Nas composições de dietas fornecidas a ruminantes, os lipídios chegam ao rúmen como triglicerídeos, glicolipídios ou fosfolipídios (Harfoot e Hazlewood, 1997; Dewhurst et al., 2006), e então são fortemente alterados devido a lipólise e a BH por ação microbiana.

As ligações éster presente nos lipídeos dos alimentos sofrem uma quebra, seguido pela biohidrogenação, diminuindo a quantidade de duplas ligações de ácidos graxos insaturados, advindos das fontes vegetais (Bauman e Lock, 2006). Esse processo ocorre graças a microbiota ruminal, sendo que as principais responsáveis são as bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter* (Bauman et al., 1999; Pariza et al., 2001). A ação dos protozoários na BH, entretanto, não é bem esclarecida, mas Williams e Coleman (1988), Harfoot e Hazlewood (1988) e Yokoyama e Johnson (1993), afirmam que há evidências da participação dos protozoários na biohidrogenação de ácidos graxos.

A lipólise é, portanto, um pré-requisito para a liberação dos ácidos graxos livres e glicerol (Bassi, 2010). A hidrólise (lipólise), é realizada pelas bactérias ruminais, sendo que, o pH ruminal e o fornecimento de ionóforos podem influenciar neste processo, inibindo a atividade e crescimento de determinados grupos de bactérias. A maturidade do volumoso, o teor de nitrogênio e o tamanho das partículas de alimentos no rúmen também podem alterar as taxas de lipólise (Lor et al., 2004). Durante o processo de hidrolização são liberados o glicerol e açúcares, estes serão fermentados a ácidos graxos voláteis, e alguns utilizados pelas bactérias para formação de fosfolipídeos importante para a parede celular. (Doreau e Chilliard, 1997). No momento da liberação do glicerol, estarão presentes no líquido ruminal os ácidos graxos de cadeia longa, como, oleico, linoleico e linolênico.

Após a liberação dos ácidos graxos pela lipólise ruminal, ocorre a hidrogenação no rúmen pelos microrganismos, acontecendo apenas com ácidos graxos insaturados. Admite-se que a BH ruminal é um mecanismo de defesa dos microrganismos contra os efeitos tóxicos dos ácidos graxos insaturados (Oliveira et al., 2016; Bessa et al., 2015; Jenkins, 1993). As bactérias Gram positivas, metanogênicas e protozoários são consideradas as mais susceptíveis aos efeitos tóxicos desses ácidos (Palmquist e

Mattos, 2011). Deste modo, os ácidos graxos solúveis tanto em solventes orgânicos como em água são os de maiores toxicidade, e isso está relacionado a sua natureza anfipática (Jenkis et al., 2008). A teoria mais aceita, ressalta que a hidrogenação dos ácidos graxos, funciona como uma ferramenta, controlando a fluidez das membranas celulares dos microrganismos e, conseqüentemente, da sua permeabilidade (Dehority, 2003).

O processo de BH envolve todo o processo biológico de metabolizações que os ácidos graxos poliinsaturados podem sofrer no ambiente ruminal, incluindo hidrogenações (reduções e saturações) e isomerizações que as acompanham (Bessa et al., 2015). Entretanto, as propriedades anfipáticas dos ácidos graxos insaturados permitem a interação com as paredes bacterianas, ocorrendo a saturação das ligações duplas C=C dos ácidos graxos insaturados, numa ou em várias etapas (Doreau et al., 2012). As isomerizações consistem em alterações da conformação geométrica do AG (de cis para trans), além de modificações posicionais de duplas ligações (Carreño et al., 2015; Costa et al., 2017; Francisco et al., 2016). Assim, como um mecanismo de defesa, a BH é fundamental para a fisiologia ruminal (Jenkins et al., 2008).

A biohidrogenação dos AGI, envolve um conjunto de reações bioquímicas dentro do rúmen, envolvendo várias espécies de bactérias, que modificam os ácidos graxos insaturados da dieta em ácido graxo com um menor grau de insaturação. Os AG que apresentam a função carboxílica livre, participam dos processos de isomerização e hidrogenação das duplas ligações, originando o ácido 18:0 como produto final, assim como diferentes ácidos graxos insaturados como intermediários (Doreau et al., 2012). As condições do meio podem influenciar o processo de BH, tornando-o incompleto, onde produtos intermediários relevantes, escapam da saturação completa e são posteriormente absorvidos no intestino (Oliveira, 2017).

As bactérias que apresentam capacidade de BH são divididas em grupos A e B, desde a data da década de 80 (Kemp e Lander, 1984; Harfoot and Hazelwood, 1988), sendo aceita até os dias atuais. O grupo A, (*Megasphaera*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Treponema*, *Bacteroides*), é constituído por bactérias capazes de hidrogenar ácido linoleico ou linolênico incompletamente, não produzindo ácido esteárico (C18:0). Já o grupo B (*Butyrivibrios*, *Ruminococcus*), apresenta capacidade de hidrogenar completamente os ácidos linoleico e linolênico e outros isômeros C18:1 a ácido esteárico.

O processo intracelular que compreende a BH, funciona através de dois passos (Figura 4). O primeiro é a hidrogenação do 18:2 a um ácido octadecenóico (monoeno), e a segunda etapa é a saturação do monoeno ao ácido 18:0 (Polan et al., 1964). Abordando o primeiro passo, a hidrogenação do 18:2 para ácido esteárico abrange duas reações; a primeira muito rápida em comparação a BH geral é a produção de um ácido conjugado (*cis*-9, *trans*-11 18:2) (Kepler et al., 1966). A segunda reação é responsável pela formação do ácido vacênico (Noble et al., 1974). Durante o processo, o ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12), é convertido ao ácido conjugado *cis/trans* 18:2, e através do andamento da BH, há um acúmulo do ácido vacênico (*trans*-18:1) pela hidrogenação do ácido conjugado *cis/trans* 18:2 (Souza e Ribeiro 2021).

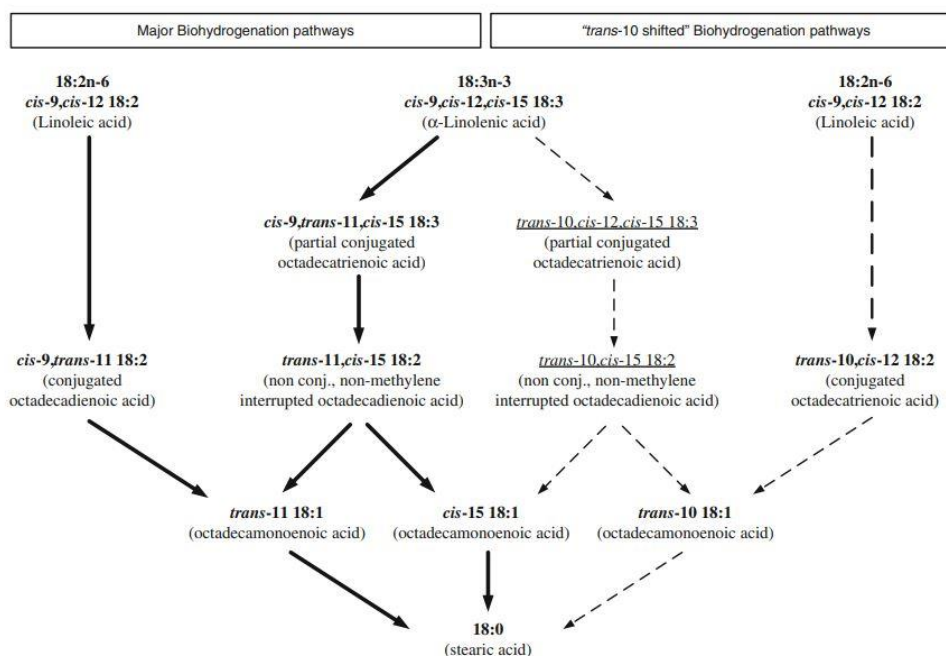


Figura 4. Vias de biohidrogenação ruminal principais e "trans-10 shifted" de ácido linoléico (18:2n-6) e ácido α-linolênico (18:3n-3). As setas com linhas contínuas descrevem as principais vias de biohidrogenação conhecidas (Harfoot e Hazlewood, 1997) e as linhas tracejadas descrevem as vias propostas por Griinari e Bauman. (1999). Os ácidos graxos em negrito são intermediários de biohidrogenação já identificados em amostras de ruminantes e os ácidos graxos sublinhados são isômeros ainda não identificados como intermediários de biohidrogenação.

A conversão *cis/trans* 18:1 para o ácido esteárico, que aumenta rapidamente após altos níveis de *cis/trans* 18:1 se acumular (Polan et al., 1964), é pontuado como segundo passo da BH. Diferentes fatores podem influenciar essas reações. Segundo Noble et al. (1974), maiores quantidades de ácido vacênico foi antecedido pelo

acúmulo de cis-9, trans-11 18:2, pelo qual cresceu com a concentração inicial crescente de 18:2, podendo associar-se a redução da taxa de aparecimento do vacênico. No entanto, os pesquisadores propõem que diferentes quantidades de 18:2, podem influenciar na inibição da conversão de 18:1 a 18:0, no qual notaram uma inibição contínua e posterior a redução insignificante na concentração de 18:2. A readaptação de microrganismos ruminais também pode ter influenciado essa inibição persistente, podendo ter sido afetados pelas concentrações de 18:2 (Souza e Ribeiro 2021). A BH do 18:3 também pode formar trans-18:1. As etapas de isomerização e hidrogenação são concluídas, produzindo cis-9, trans-11, cis-15 18:3 e trans-11, cis-15 18:2 respectivamente. O último ácido graxo pode ser BH tanto para trans-11, trans-15, cis-15 18:1 FA. (Harfoot & Hazlewood, 1970).

Alguns autores afirmam que o padrão da BH é alterado quando há o fornecimento de dietas ricas em amido, com acumulação de C18:1 trans 10 em vez do habitual C18:1 trans 11 e apontam bactérias que não estão relacionadas filogeneticamente ao gênero *Butyrivibrios* como os prováveis responsáveis por essa acumulação (Guerreiro et al., 2016; Lascano et al., 2016). Tal fato, indica que outras bactérias atuam em vias alternativas na BH o que explicaria a diversidade de intermediários formados (Boeckaert et al., 2008).

As vias da BH implicam em reações de isomerização e de redução e, em alguns casos, hidratação. Liavonchanka et al (2009), identificaram que bactérias gram-positivas não ruminais são capazes de formar CLA por isomerização do ácido linoleico. Vários fatores nutricionais atuam na microbiota envolvida na BH. A suplementação de oleaginosas em dietas de ruminantes é um desses fatores, sendo que pesquisas demonstram que bactérias do rúmen envolvidas na BH, foram diferentes entre novilhos alimentados com silagem de capim suplementada com linhaça, e aqueles alimentados apenas com silagem de capim (Huws et al., 2015). Autores compararam o metabolismo lipídico ruminal em vacas e cabras alimentadas com dietas semelhantes suplementadas ou não com lipídios e indicaram diferenças na estrutura bacteriana do fluido ruminal dessas duas espécies, porém, os índices de diversidade foram semelhantes (Toral, et al., 2016). A pesquisa bibliográfica confirma que o metabolismo lipídico do rúmen é complexo, especialmente no que tange as vias de BH, de forma que algumas incertezas permanecem quanto à identificação de lipases e bactérias envolvidas na lipólise e BH.

A suplementação de óleos nas dietas tem apresentado alta BH. Já em 1997, Kalscheur et al., demonstraram que a suplementação de óleo girassol nas rações de vacas em lactação apresentou aproximadamente 80% de BH. Bateman e Jenkins (1998), demonstraram que a saturação de AG no rúmen de vacas secas excedeu 75% quando óleo de soja foi adicionado em 8% da dieta total. Recentemente, Toral et al (2021), testaram a hipótese de que a BH seria diferente entre animais de alta e baixa eficiência alimentar, e essas diferenças se refletiriam no perfil de AG do rúmen. Os autores relataram menor proporção de 18:2n-6, cis-9 18:1, e de vários de seus metabólitos de BH, e uma concentração maior de 18:0. Indicando que a BH seria mais completa em ovelhas mais eficientes.

Dentre os estudos com bovinos de corte, Gomez-Insuasti et al (2018), utilizaram o óleo de soja com diferentes disponibilidades ruminais para avaliar a BH em novilhos Nelore. A pesquisa demonstrou que sais de cálcio resultaram em menores taxas de renovação de C:18 e menor BH de ácidos graxos monoinsaturados e insaturados comparado a dieta com soja inteira. Nos últimos anos, diferentes estratégias foram desenvolvidas para evitar efeitos tóxicos de ácidos graxos nas bactérias ruminais. Avaliando as alterações que os microrganismos provocam nas moléculas de ácidos graxos, várias fontes de ácidos graxos poliinsaturados, bem como tratamentos ou tecnologias de proteção foram estudadas (Angeli et al., 2020) Uma estratégia incorporada à dieta de ruminantes, é o fornecimento de oleaginosas inteiras, com a intenção de reduzir a BH (Mach et al., 2006).

2.6. Terminação intensiva a pasto (TIP)

A produção de bovinos de corte é uma atividade de relevante interesse econômico no Brasil e no mundo. A bovinocultura de corte brasileira caracteriza-se por utilizar o sistema de criação a pasto como fonte de nutrientes, que se destaca por seu baixo custo e praticidade de manejo (De Paula, 2012). Entretanto, a eficiência desse sistema depende de dois componentes básicos: o valor forrageiro da planta utilizada como fonte de volumoso e o tipo do animal, ambos limitados pelo ambiente que estão inseridos (Detmann et al., 2005).

Deste modo, a produção de carne segue a estacionalidade da produção de gramíneas, que pode ser afetada por fatores climáticos como a estiagem, ocasionando escassez na oferta de pasto em determinadas épocas do ano e/ou qualidade afetada, limitando o consumo e comprometendo a digestibilidade, e

consequentemente prejudicará o desempenho produtivo dos animais (Baroni et al., 2010; Detmann et al., 2014).

Sob essa perspectiva, a terminação intensiva a pasto (TIP) é considerada uma estratégia que visa otimizar a produtividade do rebanho de forma eficiente ao aumentar capacidade de lotação do pasto (Ferrari, 2016). Tornando-se uma alternativa viável mediante aos fatores de capital de giro, bem como, viabilidade econômica num possível período de perdas (seca) (Reis et al., 2011).

Essa estratégia vem ganhando espaço e se tornando uma prática comum pelos pecuaristas, pois traz aplicações dos conceitos do confinamento, oferecendo aos animais uma suplementação balanceada, a fim de atender à exigência nutricional suprindo a carência de nutrientes que não foram atendidos pela pastagem (Medeiros et al., 2017). Visando o ganho de peso dos animais, rendimento de carcaça e peso por área, reduzindo a idade ao abate, proporcionando ao produtor bons resultados econômicos (Reis et al., 2011). Assim, a suplementação dos animais deve ser definida de acordo com o planejamento da unidade de produção, de modo que as metas de ganho do rebanho sejam atingidas, além de se adequar conforme a disponibilidade e a qualidade da forragem utilizada (Detmann et al., 2005).

De acordo com Reis (2009), existem três possíveis efeitos da interação do consumo de forragem e adição do suplemento: efeito aditivo (consumo de forragem não é afetado pela adição do suplemento), efeito combinado (consumo total aumenta e o consumo de forragem diminui com a inserção do suplemento), e efeito substitutivo (quando o consumo de forragem diminui na mesma proporção em que se adiciona o suplemento). As respostas irão depender da oferta e qualidade forrageira, potencial produtivo dos animais e características da suplementação realizada (Cavali, 2010).

Um estudo conduzido por De Paula (2012), ao avaliar a influência do baixo, médio e alto nível de suplementação bovinos nelore terminados a pasto, verificou o aumento no consumo de nutrientes para todos os tratamentos, porém, um decréscimo no consumo de forragem foi observado à medida que inclusão de suplemento na dieta foi maior, havendo também maior excreção de nitrogênio.

Barbosa et al. (2015) ao analisarem manejos de suplementação para bovinos em pastagens tropicais, observaram que ao aumentar o nível de suplementação, a idade ao abate dos animais foi reduzida. De modo que, animais abatidos de 17 a 18 meses obtiveram ganho médio diário (GMD) de 0,8-0,9 kg na fase de terminação,

enquanto animais abatidos entre 32 e 36 meses obtiveram um GMD referente 0,4-0,5 kg.

Paulino et al. (2002) ao avaliarem suplementos contendo soja grão (GSOi) e caroço de algodão (ALG) em bovinos de corte terminados a pasto, observaram ganhos de peso de 1,056; 1,016; para os suplementos contendo GSOi e ALG, respectivamente, comparados a dieta padrão milho e farelo de soja, apresentando média de e 1,137 kg/ animal/dia. Resultados semelhantes foram encontrados por Detmann et al. (2001), que observaram ganhos de 0,982 kg/dia em novilhos mestiços Holandês X Zebu, em pastagem de *B. decumbens*, com suplementos constituídos por milho e soja grão (20% PB com base na matéria natural), na quantidade de 4 kg/animal/dia.

Sob essa linha de raciocínio, Paulino (2005) afirma que suplementos a base de grãos, podem ser eficientemente utilizados por bovinos consumindo forragem de baixa qualidade quando o conteúdo adequado de proteína degradável no rúmen (PDR) for incluído no suplemento. Essa percepção é explicada, em virtude da intensificação da deficiência de PDR pelos carboidratos não fibrosos, quando ofertados sozinhos. Acarretando assim, na redução do consumo e digestibilidade de forragens de baixa qualidade (Hoffman, 2014).

Mediante aos resultados trazidos, bem como ao cenário atual da bovinocultura de corte, infere-se que o sistema de TIP é um método de criação de bovinos que apresenta bons resultados, proporcionando ao pecuarista uma estratégia econômica em momentos críticos da produção. Além de oferecer aos animais um aporte nutricional com o auxílio da suplementação, promovendo ganhos no desempenho animal, digestibilidade dos nutrientes e redução da idade ao abate.

2.7. Implicações Futuras

Segundo pesquisas, nas próximas três décadas haverá aumento da procura de alimentos de origem animal, devido ao crescimento da população mundial, prevendo valores de 9,15 mil milhões em 2050 (Thornton, 2010). O aumento na procura de alimentos, além de satisfatório, trará consigo, profundas implicações na produção animal nos próximos anos. As mudanças benéficas na produção animal estão intimamente ligadas a aplicação da ciência e tecnologia animal (Bodirsky et al., 2015). Desenvolvimentos nas áreas da genética, reprodução, nutrição e sanidade animal contribuem de forma essencial para aumentar o potencial de produção, focados na eficiência e melhorias genéticas (Thornton, 2010).

No entanto, frente a questões socioeconômicas, relacionadas a saúde da população e alterações nos valores socioculturais, a busca por produtos de origem animal vem se tornando cada vez mais estreita, principalmente em países desenvolvidos (Christaki et al., 2020). Os consumidores vêm se tornando cada vez mais exigentes em relação aos produtos de origem animal, consumo de proteína e ingestão alimentar de gorduras, particularmente gorduras saturadas, e a relação a determinadas patologias vivenciadas nas sociedades industriais (câncer, distúrbios metabólicos, diabetes ou obesidade) (Oliveira, 2017). Deste modo, a garantia de qualidade dos alimentos, homogeneidade dos produtos e buscas nas suas qualidades organolépticas e dietéticas, são essenciais para melhoria do consumo de produtos de origem animal (Pethick et al., 2010)

Com base em pesquisas relatadas na literatura, nota-se a importância da inclusão de grãos de oleaginosas na alimentação de ruminantes, como fonte de energia e proteína para a produção animal, no entanto o estudo da relação entre a utilização de fontes de lipídeos e a BH, carece de maiores pesquisas, sobretudo, com bovinos de corte criados a pasto. Aliado a busca por produtos alternativos a inclusão de aditivos com efeitos similares aos ionóforos tem-se intensificado. Nos últimos anos a Quitosana é estudada como um aditivo natural favorecendo a flora ruminal, digestão e a BH dos alimentos ingeridos. Segundo Seankamsorn et al. 2021 a quitosana pode ser incluída na dieta animal, com o intuito de manipular o ambiente ruminal e conseqüentemente fornecer rotas energéticas mais eficientes devido a sua ação semelhante aos aditivos já utilizados, obtendo resultados promissores.

3. HIPÓTESE

A utilização de fontes oleaginosas e aditivo natural na dieta de novilhos podem atuar de forma sinérgica, alterando a fermentação ruminal, promovendo alterações no consumo, nos parâmetros fermentativos e na digestão dos nutrientes, podendo modificar também a biohidrogenação ruminal. Para testar esta hipótese, foi utilizado dois tipos de grãos de oleaginosas com diferentes composições de ácidos graxos (soja e cártamo), associados ao aditivo natural (quitosana) na dieta de novilhos suplementados a pasto.

3.1. Objetivos específicos

Avaliar o efeito do uso de grãos de oleaginosas no suplemento de novilhos a pasto sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, biohidrogenação ruminal e concentração fecal de ácidos graxos;

Avaliar o efeito da substituição do grão de soja por cártamo no suplemento de novilhos a pasto sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, biohidrogenação ruminal e concentração fecal de ácidos graxos;

Avaliar a adição de quitosana na suplementação a base de grão cártamo para novilhos a pasto sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, biohidrogenação ruminal e concentração fecal de ácidos graxos;

Avaliar a adição de quitosana na suplementação a base de grão de soja para novilhos a pasto sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, biohidrogenação ruminal e concentração fecal de ácidos graxos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alizadeh, A.R., Ghorbani, G.R., Alikhani, M., Rahmani, H.R., Nikkhah, A., 2010. Safflower seeds in corn silage and alfalfa hay based early lactation diets: A practice within an optimum forage choice. **Animal Feed Science and Technology** 155, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.09.014>.

Allan, C.R., Hadwiger, L.A., 1979. The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying in cell wall composition. **Experimental Microbiology** 3, 285-287.

Alves, J.L.R., Goes, R.H.T.B., Martinez, A.C., Nakamura, A.Y., Gandra, J.R., Souza, L.C.F., 2018. Ruminal parameters and ruminal degradability of feedlot sheep fed safflower grains. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal** 19, 324-335. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-99402018000300009>.

Angeli, E., Barcarolo, D., Ribas, L., Marelli, B.E., Roskopf, P.M., Salado, E.E., Ortega, H.H., Hein, G.J., 2020. Relevant aspects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids in the adaptation of dairy cattle to the transition period, **Livestock Science** 20, 1871-1413. doi: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.1043>

Anggraeni, A.S., Jayanegara, A., Laconi, E.B., Kumalasari N.R., Sofyan A., 2022. Marine by-products and insects as a potential chitosan source for ruminant feed additives. **Czech J. Anim. Sci** 67, 295-317. <https://doi.org/10.17221/42/2022-CJAS>

Araújo, A.P.C., Venturelli, B.C., Santos, M.C.B., Gardinal, R., Consolo, N.R.B., Calomeni, G.D., Freitas, J.E., Barletta, R.V., Gandra, J.R., Paiva, P.G., 2015. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Journal Animal Feed Science and Technology** 206, 114-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.016>

Barbosa, F.A., Soares Filho, B.S., Merry, F.D., Azevedo, H.O., Costa, W.L.S., Coe, M.T., Batista, E.L.S., Maciel, T.G., Sheepers, L.C., Oliveira, A.R., Rodrigues, H.O., 2015. Cenários para pecuária de corte amazônica. 1ª Ed. Belo Horizonte, MG. Editora ICG, 74.

Barleta, R.V., 2010. Grão de soja cru e integral na dieta de vacas leiteiras. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

Barletta, R.V., Rennó, F.P., Gandra, J.R., Freitas Júnior, J.E., Verdurico, L.C., Mingoti, R.D., Vilela, F.G., 2012. Blood parameters and performance of dairy cows fed with whole raw soybean. **Archivos Zootecnia** 61, 483-492.

Baroni, C.E.S., Lana, R.P., Mancio, A.B., Mendonça, B.P., Leão, M.I., Sverzur C.B., 2010. Consumo e digestibilidade de nutrientes em novilhos suplementados e terminados em pasto na seca. Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 62, 365-372. Viçosa – MG. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000200017>.

Baroni, C.E.S., Lana, R.P., Mancio, A.B., Queiroz, A.C., Sverzur C.B., Mendonça, B.P.C., 2010. Desempenho de novilhos suplementados e terminados em pasto, na

seca, e avaliação do pasto. **Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 2, 373-381. Viçosa, MG <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000200018>.

Bassi, M. S. 2010. Diferentes grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade aparente e desempenho. LAVRAS, MG: UFLA, 2010,63p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras.

Bateman, H.G., Jenkins, C., 1998. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to non-lactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science** 81, 2451-2458. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)70136-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)70136-5).

Bauman, D. E., Lock, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 15., 2006, West Lafayette. Proceedings... West Lafayette: Cornell University, 2006. 14 p.

Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proceedings of the American Society of Animal Science, **Ruminant Research** 41, 215-227.

Bayat, A.R., Tapio, I., Vilkki, J., Shingfield, K.J., Leskinen, H., 2017. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. **J. Dairy Science** 101, 1136–1151. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13545>

Bell, J.A., Griinari, J.M., Kennelly, J.J., 2006. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. **Journal of Dairy science** 89, 733-748. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72135-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72135-X).

Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Silva, J.S., 2015. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. **European Journal of Lipid Science and Technology** 117, 1325-1344. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400468>.

Boeckert, C., Vlaeminck, B., Fievez, V., Maignien, L., Dijkstra, J., Boon, N., 2008. Accumulation of trans C18: 1 fatty acids in the rumen after dietary algal supplementation is associated with changes in the *Butyrivibrio* community. **Applied and Environmental Microbiology** 74, 6923-6930. <https://doi.org/10.1128/AEM.01473-08>.

Bradley, V.L., Guenther, R.L., Johnson, R.C., Hannan R.M., 1999. Evaluation of safflower germplasm for ornamental use. **J. Janick**, 433-435.

Breidenstein, B.C.,1985. Red Meat: Nutrient Composition and Actual Consumption. Chigaco: National Live Stock and Meat Board, 507-530.

Campanella, L.C.A., Silva, A.C., Freygang, J., Dal Magro, D.D., 2014. Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e

antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. **Revista de Ciência Farmacêuticas Básica e Aplicada** 35, 141- 147.

Carreño, D., Hervás, G., Toral, P.G., Belenguer, A., Frutos, P., 2015. Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate in vitro ruminal biohydrogenation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, 202, 42-51. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.02.003>.

Cavali, J., 2010. Efeitos de idade e suplementação proteica sobre características de carcaça e qualidade de carne de bovinos criados em pasto. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Chang, H.P., Lunt, D.K., & Smith S.B., 1992. Fatty acid composition and fatty acid elongase and stearyl-CoA desaturase activities in tissues of steers fed high oleate sunflower seed. **Journal of Nutrition** 122, 2074-2080.

Chiang, Y.-W., Wang, T.-H., Lee, W.-C., 2009. Chitosan coating for the protection of amino acids that were entrapped within hydrogenated fat. **Food Hydrocol** 23, 1057-1061. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.04.007>.

Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., e Doreau, M., 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat: a review. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 109, 828-855. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700080>.

Christaki, E., Giannenas, I., Bonos, E., Florou-Paneri, P., 2020. Innovative uses of aromatic plants as natural supplements in nutrition. **Feed Additives** 19-34. doi:10.1016/b978-0-12-814700-9.00002-9

Consolo, N.R.B., Gardinal R., Gandra, J.R., de Freitas Junior, J.E., Renno, F.P., de A. Santana., M.H., Pflanzler Junior, S.B., Pereira, A.S.C., 2014. High levels of whole raw soybean in diets for Nellore bulls in feedlot: effect on growth performance, carcass traits and meat quality. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 99, 201-209. doi: 10.1111/jpn.12237

Coppock, C.E., Wilks, D.L., 1991. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal of Animal Science** 69, 3826- 3837.

Correia, B.R., Oliveira, R.L., Jaeger, S.M.P.L., Bagaldo, A.R., Carvalho, G.G.P., Oliveira, G.J.C., Lima, F.H.S., Oliveira, P.A., 2011. Intake, digestibility and ruminal pH of steers fed diets with pies coming from the production from biodiesel to replacement soybean meal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 63, 356-363.

Costa, M., Alves, S.P., Cabo, Â., Guerreiro, O., Stilwell, G., Dentinho, M.T., Bessa, R. J., 2017. Modulation of in vitro rumen biohydrogenation by *Cistus ladanifer* tannins compared with other tannin sources. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 97, 629-635. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7777>.

Dehority, B. A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham: Nottingham University Press.

De Paula, N.F., 2012. Crescimento de bovinos de corte no sistema de pasto/suplemento submetidos a diferentes planos nutricionais. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Dehority, B. A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham: Nottingham University Press.

Del Valle, T.A., Paiva, P.G., Jesus, E.F., Almeida, G.F., Zanferari, F., Costa, A.G.B.V.B., Bueno, I.C.C., Rennó, F.P., 2017. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows. **Livestock Science** 201, 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.04.003>.

Detmann, E., Paulino, M.F., Cecon, P.R., Campos, S.V.F., Zervoudakis, J.T., Cabral, L.S., Leão, M.I., Lana, R.P., Ponciano, N.J., 2005. 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** 34, 4, 1371-1379. Viçosa – MG.

Detmann, E., Paulino, M.F., Franco, M.O., Rufino, L.M.A., Sampaio, C.B., Batista, E.D., 2014. Princípios de nutrição de bovinos em pastejo nos trópicos. In: IX Congresso Nordeste de Produção Animal, Ilhéus 22.

Detmann, E., Paulino, M.F., Leão, M.I., 2001. Níveis de proteína em suplementos múltiplos para terminação de bovinos mestiços em pastejo: ganho de peso. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia 38. Sociedade Brasileira de Zootecnia 1198-1199. Piracicaba – SP.

Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.A., Scollan, N.D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology** 131, 68-206. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.04.016>.

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** 225, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015>.

Doreau, M.; Chilliard, Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 78, n. 1, p. 15-35.

Doreau, M., Fievez, V., Troegeler-Meynadier, A., Glasser, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant: le point des connaissances récentes. *Prod. Anim* 25, 361-373.

Doreau, M., Meynadier, A., Fievez, V., Ferlay, A., Fatty Acids, in: Watson, R.R., Meester, F., (Eds.), *Ruminal Metabolism of Fatty Acids: Modulation of Polyunsaturated, Conjugated, and Trans Fatty Acids in Meat and Milk*, **Academic Press and AOC Press**, San Diego, USA, 2016, pp. 521-542.

Dschaak, C.M., Eun, J.S., Young, A.J., Bergman, J.W., 2010. Nutritive merits of whole Nutrasaff safflower seed when fed to Holstein dairy cows during midlactation. **Animal Feed Science Technology** 156, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.12.010>.

Dschaak, C.M., Noviandi, C.T., Eun, J.S., Fellner, V., Young, A.J., Zobell, D.R., e Israelsen, C.E., 2011. Ruminal fermentation, milk fatty acid profiles, and productive performance of Holstein dairy cows fed 2 different safflower seeds. **Journal of Dairy Science** 94, 5138-5150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.12.010>.

Duckett, S.K., Gillis, M.H., 2010. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science** 88, 2684-2691. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2375>.

Ekeren, P.A., Smith, D.R., Lunt, D.K., & Smith, S. B., 1992. Ruminal biohydrogenation of fatty acids from high-oleate sunflower seeds. **Journal of Animal Science** 70, 2574-2580.

EMBRAPA (Empresa brasileira de Pesquisa Agropecuária). *Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2000/01*. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 245p.

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** 83, 161-163. <https://doi.org/10.4141/A02-063>.

Fellner, V., Sauer, F. D., & Kramer, J. K. G. 1997. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. **Journal of Dairy Science**, 80(5), 921-928.

Ferlay, A., Chilliard, Y., 2020. Effect of linseed, sunflower, or fish oil added to hay-, or corn silage-based diets on milk fat yield and trans-C18: 1 and conjugated linoleic fatty acid content in bovine milk fat. **Livestock Science** 235, 104005.

Ferrari, A.C., 2016. *Qualidade da carne de bovinos recriados em pastagens associada a suplementação e terminação a pasto ou no confinamento*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal, Brasil.

Francisco, A., Alves, S.P., Portugal, P.V., Pires, V.M.R., Dentine, M.T., Alfaia, C.M., Bessa, R.J.B., 2016. Effect of feeding lambs with a tanniferous shrub (rockrose) and a vegetable oil blend on fatty acid composition of meat lipids. **Animal** 10, 2061-2073. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001129>.

Goel, G., Arvidsson, K., Vlaeminck, B., Bruggeman, G., Deschepper, K., Fievez, V., 2009. Effects of capric acid on rumen methanogenesis and biohydrogenation of linoleic and α -linolenic acid. **Animal** 3, 810-816

Goiri, I., Garcia-Rodriguez, A., Oregui, L.M., 2009. Effect of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of maize silage. **Animal Feed Science and Technology** 148, 276–287. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007>.

Goiri, I., Oregui, L.M., Garcia-Rodriguez, A., 2010a. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Journal of Animal Science** 88, 749-755. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2377>.

Goiri, I., Indurain, G., Insausti, K., Sarries, V., Garcia-Rodriguez, A., 2010b. Ruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids *in vitro* as affected by chitosan. **Journal Animal Feed Science and Technology** 159, 35-40.

Gomez-Insuasti, A.S., Granja-Salcedo, Y.T., Castagnino, P.S., Vieira, B.R., Malhieros, E.B., Berchielli, T.T., 2014. The effect of lipid sources on intake, rumen fermentation parameters and microbial protein synthesis in Nelore steers supplemented with glycerol. **Animal Production Science** 54, 1871-1876. <https://doi.org/10.1071/AN14394>.

Gomez-Insuasti, A.S., Granja-Salcedo, Y.T., Rossi, L.G., Vieira, B.R., Berchielli, T.T., 2018. Effect of soybean oil availabilities on rumen biohydrogenation and duodenal flow of fatty acids in beef cattle fed a diet with crude glycerine. **Archives of Animal Nutrition** 72, 308-320. Doi: 10.1080/1745039X.2018.1492805.

Griinari J.Mm, Bauman D.E., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. (eds) Advances in conjugated linoleic acid research, **AOCS Press** 1, 180-200, Champaign, Illinois.

Guerreiro, O., Alves, S.P., Costa, M., Cabo, Â., Duarte, M.F., Jerónimo, E., Bessa, R. J., 2016. Effects of extracts obtained from *Cistus ladanifer* L. on *in vitro* rumen biohydrogenation. **Animal Feed Science and Technology** 219, 304-312. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.024>.

Hales, K.E., Foote A.P., Brown-Brandl. M.T., Freetly H.C., 2017. The effects of feeding increasing concentrations of corn oil on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef steers. **Journal of Animal Science** 95, 939–948. <https://doi.org/10.2527/jas2016.0902>.

Hamdan, Y., Pérez-Vich, B., Velasco, L., Fernández-Martínez, J.M., 2009. Inheritance of high oleic acid content in safflower. **Euphytica, Holanda** 168, 61-69.

Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P. Lipid Metabolism in The Rumen. In: HOBSON, H.D. (Ed.) The rumen microbial ecosystem. New York: Elsevier Science, 1988. p.285-322

Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1997, Lipid metabolism in the rumen, in: The Rumen Microbial Ecosystem, P.N. Hobson, C.S. Stewart (Eds), 382-426.

- Helander, I.M., Nurmiäho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S., 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. **Int. J. Food Microbiol** 71, 235–244. Doi: 10.1016/s0168-1605(01)00609-2.
- Helander, I.M., Lativa-kala K., Lounatmaa, K., 1998. Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. **Great Britain** 144, 385-390.
- Henderson, C., 1973. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. **The Journal of Agriculture Science** 81, 107-112. <https://doi.org/10.1017/S0021859600058378>.
- Hess, B.W., Moss, G.E., Rule, D.C., 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science** 86, 188-204. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0546>.
- Hightshoe, R.B., Cochran, R.C., Corah, L.R., 1991. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. **Journal of Animal Science** 69, 4097-4103. <https://doi.org/10.2527/1991.69104097x>.
- Hoffmann, A., Moraes, E.H.B.K.de., Mousquer, C.J., Simioni, T.A., Junior G.F., Ferreira, V.B., & Silva, H.M.da., 2014. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período da seca. **Nativa** 2, 119-130. <https://doi.org/10.31413/nativa.v2i2.1298>
- Hollmann, M., Powers, W.J., Fogiel, A.C., Liesman, J.S., Bello, N.M., e Beede, D.K., 2012. Enteric methane emissions and lactational performance of Holstein cows fed different concentrations of coconut oil. **Journal Dairy Science** 95, 2602–2615. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4896>.
- Huws, S.A., Kim, E.J., Cameron, S.J., Girdwood, S.E., Davies, L., Tweed, J., e Scollan, N.D., 2015. Characterization of the rumen lipidome and microbiome of steers fed a diet supplemented with flax and echium oil. **Microbial Biotechnology** 8, 331-341. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12164>.
- Ibrahim. N.A., Alimon, A.R., Yaakub, H., Samsudin, A.A., Candyrine, S.C.L., Mohamed, W.N.A., Noh, A.M., Fuat, M.A., Mookiah, S., 2021. Effects of vegetable oil supplementation on rumen fermentation and microbial population in ruminant: a review. **Tropical Animal Health and Production** 53, 422. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02863-4>
- Jaworska, M., Sakurai, K., Gaudon, P., Guibal, E., 2003. Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties. **Polymer International** 52, 198-205. <https://doi.org/10.1002/pi.1159>.
- Jenkins, T.C., 1993 Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science** 76, 3851-3863. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9).

Jenkins, T.C., McGuire, M.A., 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal Dairy Science** 89, 1302–1310. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72198-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1).

Jenkins, T.C., Bridges W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. Europe **Journal Lipid Science technology** 109, 778-789. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700022>.

Kalscheur K.F., Teter B.B., Piperova L.S., 1997. Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 80, 2115–2126. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76157-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76157-5).

Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B., 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **J. Biol. Chem.** 241, 1350–1354. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96781-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96781-5).

Kemp, P., Lander, D.J. Hydrogenation in vitro of α -Linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria **J. Gen. Microbiol.** 130: 527-533. 1984.

Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B., 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **J. Biol. Chem.** 241, 1350–1354. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96781-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96781-5).

Knapp, J.R., Laur, G.L., Vadas, P.A., Weiss, W.P., Tricarico, J.M., 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal Dairy Science** 97, 3231–3261. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7234>.

Kozloski, G. V. Bioquímica dos ruminantes. Editora:ufsm, 2ª Edição, p. 214, 2009.

Krajewska, B., 2004. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: A review. **Enzyme and Microbial Technology** 35, 126-139. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.12.013>.

Kurita, K., 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polym Degrad Stab.** 59, 117-120.

Lascano, G.J., Alende, M., Koch, L.E., Jenkins, T.C. 2016. Changes in fermentation and biohydrogenation intermediates in continuous cultures fed low and high levels of fat with increasing rates of starch degradability. **Journal of Dairy Science** 99, 6334-6341. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11032>.

Li, D., Mündel, H.H., 1996. Safflower *Carthamus tinctorius* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 7. Inst. Plant Genet. Crop Plant Res., Gatersleben/Int. Plant Genet. Resources Inst., Rome, Italy.

Liavonchanka, A., Rudolph, M.G., Tittmann, K., Hamberg, M., Feussner, I., 2009. On the mechanism of a polyunsaturated fatty acid double bond isomerase from

Propionibacterium acnes. **Journal of Biological Chemistry** 284, 8005-8012. <https://doi.org/10.1074/jbc.M809060200>.

Lima, G.O.V., 2014. Quitosana associada ao grão de soja cru e integral na dieta de búfalos: pH e nitrogênio amoniacal de digesta reticular. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahia.

Lor, J.J., Ueda, K.; Ferlay, A.; Chilliard, Y.; Doreau, M. 2004. Biohydrogenation, Duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 2472-2485.

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. **Animal** 4, 1008-1023. <https://doi.org/10.1017/S175173111000042X>.

Macedo, J.B., Sanfelice, R.C., Mercante, L.A., Santos, D.M.D., Habitzreuter, F., Campana Filho, S.P., Pavinatto, A., 2022. Antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: influence of its structural characteristics. **Quim. Nova** 45, 690-704. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170867>

Mach, N., Devant, M., Díaz, I., Font-Furnols, M., Oliver, M.A., García, J.A., Bach, A., 2006. Increasing the amount of n-3 fatty acid in meat from young Holstein bulls through nutrition. **J. Anim. Sci** 84, 3039-48. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-632>.

Machado Neto, O.R., Chizzotti, M.L., Ramos, E.M., Oliveira, D.M., Lanna, D.P.D., Ribeiro, J.S., Lopes, L.S., Descalzo, A.M., Amorim, T.R., Ladeira, M.M., 2015. Fatty acid profile and meat quality of young bulls fed ground soybean or ground cottonseed and vitamin E. **Animal** 9, 362-372. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002377>.

Makmur, M., Zain, M., Sholikin, M.M., S., Jayanegara, A., 2022. Modulatory effects of dietary tannins on polyunsaturated fatty acid biohydrogenation in the rumen: A meta-analysis. *Heliyon* 8, e09828. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09828>

Marks, D.J., Nelson, M.L., Busboom, J.R., Cronrath, J.D., Falen, L., 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barleypotato product finishing diets: II. Fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat. **Journal of Animal Science** 82, 3611-3616. <https://doi.org/10.2527/2004.82123611x>.

Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: From microbe to the farm scale. **Animal** 4, 351–365. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990620>.

Matra, M., Wanapat, M., 2022. Role of Chitin and Chitosan in Ruminant Diets and Their Impact on Digestibility, Microbiota and Performance of Ruminants. **Fermentation** 8, 549. <https://doi.org/10.3390/fermentation810054>

Matsushashi, S., Kume, T., 1997. Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. **Journal Science Food Agricultural** 73, 237–241.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199702\)73:2<237::AID-JSFA711>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199702)73:2<237::AID-JSFA711>3.0.CO;2-4).

Medeiros, S.R.; Albertini, T.Z.; Marino, C.T. 2015. Lipídios na nutrição de ruminantes. In: Medeiros, S.R.; Gomes, R.C.; Bungenstab, D.J. Nutrição de bovinos de corte: Fundamentos e aplicações. **EMBRAPA** Brasília- DF. Cap 5.

Medeiros, S.R., Gomes, R.C., Bungenstab, D.J., 2017. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Embrapa, 22. Brasília, DF.

Meynadier, A., Zened, A., Farizon, Y., Chemit, M.L., Enjalbert, F., 2018. Enzymatic Study of Linoleic and Alpha-Linolenic Acids Biohydrogenation by Chloramphenicol-Treated Mixed Rumen Bacterial Species. **Front. Microbiol** 9, 1452. doi: 10.3389/fmicb.2018.01452

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** 187, p. 35-39. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.02.008>.

Moreira, M.A., 1999. Programa de melhoramento genético de qualidade de óleo e proteína de soja desenvolvida na UFV In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1, 1999, Londrina, Anais... Londrina: **EMBRAPA** Soja, 1999. p. 99-104

Nasem. 2016. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Nutrient requirements of beef cattle model, 8th rev. ed. Washington, DC: **National Academic Press**.

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** 74, 65-72.

Noble, R.C., Moore, J. H., Harfoot, C.G., 1974. Observations on the pattern on biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. **Br. J. Nutr** 31, 99-108.

Ocampo, R.J., Salazar, S.V., Díaz, C.E.P., Torres, E.H., Pérez, C.F.A., Arango, J., Ku-Vera, J.C., 2019. Review The Role of Chitosan as a Possible Agent for Enteric Methane Mitigation in Ruminants. **Animals** 9, 942. doi:10.3390/ani9110942

Odongo, N.E., Or-Rashid, M.M., Kebreab, E., France, J., e McBride, B.W., 2007. Effect of supplementing myristic acid in dairy cow rations on ruminal methanogenesis and fatty acid profile in milk. **Journal Dairy Science** 90, 1851–1858. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-541>.

Oliveira, M.A., Alves, S.P., Santos-Silva, J., e Bessa, R.J. 2016. Effects of clays used as oil adsorbents in lamb diets on fatty acid composition of abomasal digesta and meat. **Animal Feed Science and Technology** 213, 64-73. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.006>.

Oliveira, M.S.P., 2017. Nutritional strategies in the modulation of ruminal biohydrogenation to improve the fatty acid profile of ruminant's meat. **Phd Thesis**, University of Lisbon, Lisbon, Europe.

Oliveira, S.G., 2001. Utilização de fontes de gordura em dietas com diferentes níveis de fibra para vacas em lactação. **Phd thesis**, Universidade de São Paulo. Piracicaba, São Paulo.

Oltjen, R.R., & Dinius, D.A., 1975. Production practices that alter the composition of foods of animal origin. **Journal of Animal Science** 41, 703-722.

Palmquist, D. L. 1991. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, 74(4), 1354-1360.

Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 1980. Fat in lactation rations: Review. **Journal Dairy Science** 63, 1-14. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82881-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82881-5).

Palmquist, D.L., Mattos, W.R.S., 2011. Metabolismo dos lipídios. In: Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. (Eds.). **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep. 616 p.

Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 2017. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. **Journal Dairy Science** 100, 10061-10077. doi:10.3168/jds.2017-12924.

Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 40,283-298. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00008-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00008-X).

Parodi, P.W., 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. **J. Nutr** 127, 1055-1060.

Paulino, M.F., 2005. Fontes de energia em suplementos múltiplos de auto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagens de Brachiaria Decumbens durante o Período das águas. *Revista Brasileira De Zootecnia* 32, 3, 957-962. Viçosa – MG. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000300029>.

Paulino, M.F., Zervoudakis, J.T., Henrique, E., Moraes, B.K., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., 2002. Bovinocultura de ciclo curto em pastagens. III Simpósio de Produção de Gado de Corte –SINCORTE, Viçosa – MG.

Pethick, D.W., Ball, A.J., Banks, R.G., Hocquette, J.F., 2010. Current and future issues facing red meat quality in a competitive market and how to manage continuous improvement. **Animal Production Science** 51, 13-18. doi:10.1071/AN 10041

Polan, C.E., McNeill, J.J., Tove, S.B., 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. **Journal of Bacteriology** 88, 1056-1064.

Ravi Kumar, M.N.V., 2000. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**. 46, 1-27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9).

Reis, R.A., Oliveira, A.A., Siqueira, G.R., Gatto, E., 2011. Semi-confinamento para produção intensiva de bovinos de corte. 196-222. In: Anais do 1º Simpósio Mato-grossense de Bovinocultura de Corte, Cuiabá - MT, Brasil.

Reis, R.A., Ruggieri, A.C., Casagrande, D.R., Pascoa, A.G., 2009. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38, 147-159. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001300016>.

Rennó, F.P., Cônsolo, N.R.B., Barletta, R.V., Ventureli, B., Gardinal, R., Takiya, C.S., Gandra, J.R., Pereira, A.S.C., 2015. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. *Archivos de Zootecnia* 64, 332.

Reuter R.R., Moffet C.A., Horn G.W., Zimmerman S., Billars M., 2017. Technical note: daily variation in intake of a salt-limited supplement by grazing steers. *The Professional Animal Scientist* 33, 372–377.

Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 31, 603-632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>.

Roberts, G.A.F., 1992. Chitin chemistry. London: Mc Millan Press, p. 350-103.

Rosa, B.L., Sampaio, A.A.M., Henrique, W., Oliveira, E.A., Pivaro, T.M., Andrade, A.T., Fernandes, A.R.M., 2013. Performance and carcass characteristics of Nellore young bulls fed different sources of oils, protected or not from rumen degradation. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42, 109-116. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982013000200005>.

Rouget, C. 1859. Des substances amylicées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine). *Comp. Rend*, 48, 792-795.

Sambanthamurthi, R., Sundram, K., Yew-Ai, T., 2000 Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research* 39, 507-558. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(00\)00015-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(00)00015-1).

Santana, M.C.A., Fiorentini, G., Messana, J. D., Dian, P. H. M., Canesin, R. C., Reis, R. A., Berchielli, T. T. 2017. Different forms and frequencies of soybean oil supplementation do not alter rumen fermentation in grazing heifers. *Animal Production Science*, 57, 530–538 <http://dx.doi.org/10.1071/AN14608>

Seankamsorn, A., Cherdthong, A., So, S., Wanapat, M., 2021. Influence of chitosan sources on intake, digestibility, rumen fermentation, and milk production in tropical lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production* 53, 241. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02697-0>

Senel, S., McClure, S.J., 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56, 1467-1480. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.007>.

Shi, G., Zhu, Y., Ran, X., 2006. Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. *Journal of Surgical Research* 133, 185-192. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.12.013>.

Shingfield, K.J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Griinari, J.M., 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. **British Journal Nutrition**. 99, 971-983. <https://doi.org/10.1017/S0007114507853323>.

Souza, J.G., Ribeiro, C.V.D.M., 2021. Ruminal biohidrogenation and main impact on met the fatty acid profile: a review Biohidrogenación ruminal y los principales impactos en el perfil de ácidos grasos de la carne: revisión. **Research, Society and Development** 10, e28101321039. doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21039>

Streit, F., 2004. Estudo do aproveitamento do bagaço da maçã para produção de quitosana fúngica. **Dissertação**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

Talavera, F., Park, C.S., Willians G.L., 1985. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol, and ovarian function in Holstein heifers. **Journal of Animal Science** 60, 1045-1051. <https://doi.org/10.2527/jas1985.6041045x>.

Thornton, P.K., 2010. Livestock production: recent trends, future prospects. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Bio. Sci* 365, 2853–2867. Doi:10.1098/rstb.2010.0 134.

Toral, P.G., Bernard, L., Belenguer, A., Rouel, J., Hervás, G., Chilliard, Y., Frutos, P., 2016. Comparison of ruminal lipid metabolism in dairy cows and goats fed diets supplemented with starch, plant oil, or fish oil **Journal Dairy Science** 675, 301-316. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10292>.

Toral, P.G., Hervás, G., Fernández-Díez, C., Belenguer, A., Frutos, P., 2021. Rumen biohydrogenation and milk fatty acid profile in dairy ewes divergent for feed efficiency. **Journal of Dairy Science** 104, 5569-5582. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19061>.

Ueda, K., Ferlay, A., Chabrot, J., 2003. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**. 86, 3999-4007. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74011-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74011-9).

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** 214, 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.015>.

Vogel, L., Gnot, M., Kröger-Koch, C., Dannenberger, D., Tuchscherer, A., Tröscher, A., e Hammon, H.M., 2020. Effects of abomasal infusion of essential fatty acids together with conjugated linoleic acid in late and early lactation on performance, milk and body composition, and plasma metabolites in dairy cows. **Journal Dairy Science** 103, 7431–7450. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18065>.

Williams, A.G., Coleman, G.S., 1988. The Rumen protozoa. In: HOBSON, H.D. (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*. **Elsevier Science**. p.77-128

- Woods, V.B., Fearon, A.M., 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. **Livest. Sci.** 126, 1-20. doi: 10.1016/j.livsci.2009.07.002
- Wu, Z., D.L. Palmquist., 1991. Synthesis and Biohydrogenation of Fatty Acids by Ruminal Microorganisms In Vitro. **Journal Dairy Science** 74, 3035-3046. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78489-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78489-0)
- Wu, Y., Zheng, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J., Fu, S., 2005. Synthesis and characterization of a novel amphiphilic chitosan-poly lactide graft copolymer. **Carb. Polym** 59, 165-171. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.09.006>.
- Wyffels S.A., Williams A.R., Parsons C.T., Dafoe J.M., Boss D.L., DelCurto T., Davis G., Bowman J.G.P., 2018. The influence of age and environmental conditions on supplement intake and behavior of winter grazing beef cattle on mixed-grass rangelands. *Translational Animal Science* 2, S89–S92.
- Yinghui, L.V., Chen, X., Wang, Q., Wang, Y., Zhang, J., Liu, C., Liu, C., Meng, X., Yu, L., 2007. Synthesis and characterization of chitosan-based biomaterials modified with different active groups and their relationship with cytotoxicity. **J Wuhan Univ Technol.** 22, 695-700.
- Yokoyama, M,T., Johnson, K,A., 1993. Microbiology of the rumen and intestine. In: Church, D.C. (Ed.) *The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition.* New York: **John Wiley e Sons.** P.125-144
- 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>.

CAPÍTULO II

DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA SOBRE A FERMENTAÇÃO E DIGESTIBILIDADE RUMINAL NA TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO

Artigos apresentados nas normas da revista *Animal*

https://animal-journal.eu/animal-journal-documents/Instructions_for_authors.pdf

Dietas com grãos de oleaginosas e quitosana sobre a fermentação e digestibilidade ruminal na terminação intensiva de novilhos a pasto

N.G, Silva^a; R.H.T.B, Goes^a; R.T, Oliveira^a; L.E.F, Oliveira^a; C.C, Silva^a; T.M, Souza^a; L.R, Feitosa^a; T. Fernandes^b; J.R, Granda^c Alves, S.P^b

^a*Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Unidade II: Rodovia Dourados/Itahum, Km 12, Cidade Universitária, 79.804-970, Dourados – MS, Brasil.*

^b*CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 1300-47, Lisboa, Portugal.*

^c*Universidade Federal do Oeste do Pará, 68507-59, Marabá – PA, Brasil*

Autor correspondente: Nayara Gonçalves da Silva. E-mail: nayagsm@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do uso de grãos de oleaginosas associadas com quitosana no suplemento de novilhos a pasto, sobre o consumo, digestibilidade e fermentação ruminal. Cinco novilhos mestiços com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais, foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Os animais foram mantidos em piquetes individuais em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), e suplementados diariamente na proporção de 2% do peso corporal (PC). Os tratamentos experimentais foram: Suplemento proteico/energético a base de farelo de soja como controle (CON); Suplemento a base de cártamo grão (CT); CT com adição de quitosana (CTQ); Suplemento a base de soja grão (SJ) e SJ com adição de quitosana (SJQ). A quitosana foi adicionada diretamente no rúmen dos animais na dosagem de 900 mg/Kg de MS. A presença de oleaginosas na suplementação resultou em aumento no

consumo de EE ($P < 0.001$). Os animais suplementados com oleaginosas (CONxOLE) apresentaram um aumento de 4,4% na digestibilidade de EE em relação a dieta controle ($P < 0.001$). Na comparação entre grão de cártamo e soja (CTxSJ), a adição da soja apontou maiores valores para o consumo de MS do suplemento com média de 7,43 kg/dia, e aumentou em 8,06% o consumo de PB dos animais, ($P < 0.001$). Os animais que receberam cártamo apresentaram aumento de 20% no consumo de EE e aumento de 14% no consumo de FDN (CTxSJ). A inclusão de cártamo no suplemento (CTxSJ) resultou em maior digestibilidade do EE, apresentando média de 0,964 g/kg. A adição de quitosana nas dietas a base de cártamo (CTxCTQ) aumentou a digestibilidade da MS ($P = 0,070$), MO ($P = 0,048$) e PB ($P = 0,035$). A suplementação de CT e SJ com ou sem a inclusão da quitosana não influenciaram ($P > 0.05$) os padrões de fermentação ruminal, excreção dos derivados de purina e síntese de N-microbiano. A inclusão de grãos de oleaginosas na dieta de novilhos a pasto, aumentou o consumo de EE e não afetou negativamente a digestibilidade do mesmo. A adição da quitosana na dieta com cártamo melhorou a digestibilidade dos nutrientes sem alterações no consumo.

Palavras-chave: aditivos alternativos, digestão, consumo, lipídeos

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira tem grande importância na produção de alimentos de alta qualidade. Aliado a isso, consumidores mais exigentes demandam por produtos de origem animal mais seguros e que promovam a saúde humana (Christaki et al., 2020). Com isto, melhorias na genética animal, manejo e especialmente a nutrição entram como alternativas para atender as barreiras sociais e os desafios econômicos. Nesse contexto, sementes oleaginosas, além de aumentar a densidade energética das dietas para bovinos, visam melhorar o valor nutricional dos lipídios no leite e na carne (Ferlay e Chilliard, 2020).

Além disso, inclusão de gordura em dieta de bovinos fornece ácidos graxos essenciais. Isso é de grande importância, dados os efeitos benéficos relatados de alguns ácidos graxos de cadeia longa, como o ácido linoleico conjugado (CLA), sobre saúde humana (Parodi, 1997). Em sistema de produção a pasto, a suplementação com fontes oleaginosas pode corrigir potenciais desequilíbrios das pastagens tropicais, melhorar o balanço energético e eficiência produtiva. No entanto, a maior adição de ácidos graxos insaturados (AGI) na dieta, pode ser tóxica para os microrganismos do rúmen e prejudicar a fermentação ruminal (Jenkins e Bridges 2007). Essa situação, dependendo da composição da dieta basal, resulta em redução da digestibilidade da fibra e do consumo de matéria seca (CMS), o que impulsiona diferentes estratégias nutricionais para reduzir os efeitos de ácidos graxos insaturados sobre os parâmetros de fermentação ruminal em bovinos (Gomez-Insuasti et al., 2014; Gomez-Insuasti et al., 2018).

Diversas fontes de lipídios com diferente composição e disponibilidade ácidos graxos, podem ser usados em dietas de ruminantes, como gorduras protegidas de origem vegetal (Hightshoe et al., 1991) assim como os grãos inteiros de oleaginosas

(Talavera et al., 1985). De acordo com Palmquist (1991), o fornecimento de fontes de gordura na forma de sementes oleaginosas promove uma lenta liberação dos lipídios no rúmen, fazendo com que a capacidade de BH dos microrganismos não seja superada. Dessa forma, há redução dos prejuízos na digestibilidade da fibra pelo efeito negativo que as gorduras insaturadas podem causar as bactérias fibrolíticas (Rennó et al., 2015).

Além do fornecimento adequado de fontes oleaginosas, os antibióticos ionóforos, também podem modificar a proporção de ácidos graxos ao modificar a microbiota ruminal (Fellner et al., 1997) 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 (Goiri et al., 2010). As tendências na demanda por produtos mais seguros encorajaram a busca por alternativas naturais aos antibióticos fornecidos na alimentação animal.

Goiri et al (2009), 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. 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 é o mais característico (Helander et al.1998). As bactérias lipolíticas e algumas bactérias hidrogenadoras são Gram-negativas (Harfoot e Hazlewood, 1988). Os aditivos com espectros antimicrobianos Gram-negativos, como a quitosana (Helander et al., 2001), podem diminuir a lipólise e BH. Araújo et al (2015) e Paiva et al (2016), demonstraram o potencial da quitosana no aumento da proporção de propionato em fluido ruminal. Além dos efeitos na produção de ácidos graxos de cadeia curta como propionato,

autores também evidenciaram efeito na metanogênese com diminuição da produção de metano (Belanche et al., 2016).

O objetivo deste trabalho foi identificar como a suplementação de diferentes fontes oleaginosas (soja ou cártamo), associado a adição da quitosana para novilhos a pasto, afeta a fermentação ruminal, e conseqüentemente o consumo, parâmetros fermentativos e digestão dos nutrientes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local, animais e tratamentos

O ensaio experimental foi realizado no setor de Nutrição de Ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), entre os meses de abril a julho de 2019, durante o período seco do ano. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA), no Centro de Laboratórios de Pesquisa em Agroenergia e Conservação Ambiental (LAPAC/FINEP), pertencentes à Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD, e localizada no município de Dourados - Mato Grosso do Sul. Cinco novilhos mestiços com 18 meses de idade, com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais, foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Cada período experimental foi de 23 dias, sendo quatorze dias para adaptação e nove dias para coleta de dados.

Os animais foram mantidos em piquetes individuais em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), de aproximadamente 0,2 hectares providos de cocho e bebedouro. A suplementação foi balanceada de acordo com recomendações do NRC (2016) (Tabela 1). O suplemento foi fornecido diariamente no período da manhã (08:00 horas) na proporção de 2% do peso corporal (PC) dos animais. No primeiro dia de cada período experimental os novilhos foram pesados e o fornecimento de suplemento ajustado. Os tratamentos experimentais foram:

Suplemento proteico/energético a base de farelo de soja como controle (CON);
Suplemento a base de cártamo grão (CT); CT com adição de quitosana (CTQ);
Suplemento a base de soja grão (SJ) e SJ com adição de quitosana (SJQ).

A quitosana foi colocada em cartuchos de papel e adicionadas diretamente no rúmen dos animais na dosagem de 900 mg/Kg de MS de acordo com Dias et al (2017). O aditivo foi fornecido diariamente no período da manhã (08:00 horas), no horário do fornecimento da suplementação. A quitosana foi fornecida pela empresa Polymar®, Fortaleza, Brasil (≥ 850 g/kg de grau de desacetilação, 0,32 g/mL de densidade, pH 7,90, viscosidade < 200 cPs, cinza total 1,35 g/100g e perda na secagem 9,3 g/100g).

2.2. Disponibilidade de forragem

A avaliação da disponibilidade de forragem foi realizada no primeiro dia de cada período experimental. Dez pontos aleatórios do piquete foram amostrados por meio do corte rente ao solo com auxílio de um quadrado metálico (0,25 m²). Uma subamostra foi utilizada para separação morfológica (folha, caule e material senescente). Outra subamostra foi seca sob ventilação forçada (60°C), processada em moinho de facas (1 mm) e composta por piquete, para posteriores análises da composição química.

A coleta da forragem ingerida pelos animais (extrusa) foi realizada no 23º dia de cada período experimental, através do esvaziamento do rúmen, onde o conteúdo ruminal foi retirado manualmente conforme descrito por Dubbs et al (2003). Após o esvaziamento do rúmen, os animais foram levados para seus respectivos piquetes onde pastaram por um tempo determinado de 40 minutos e amostras de extrusa (400 g) foram retiradas do rúmen, após esse período. Todas as amostras foram congeladas, para posterior análise da composição química.

Amostras de suplementos, forragem obtida por esvaziamento ruminal (extrusa) e corte rente ao solo, foram avaliados quanto à matéria seca (MS; método 934.01), proteína bruta (PB) obtida pela determinação de N total usando a técnica de micro Kjeldahl (método 920.87, N x 6,25), matéria mineral ou cinza (MM/CZ; método 924,05; AOAC, 1990), matéria orgânica (100 – cinzas). O conteúdo de fibra em detergente ácido (FDA) foi determinado em um analisador de fibra (TE – 149 fiber analyzer, Tecnal Equipment for Laboratory Inc., Piracicaba, Brasil) usando alfa-amilase e sem sulfeto de sódio, conforme descrito por Van Soest e Robertson (1999). A análise do teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi realizada utilizando sulfeto de sódio, 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, 10 g/dia de dióxido de titânio (TiO₂) foi acondicionado em cartuchos de papel e fornecido via cânula ruminal às 08h00min (Ferreira et al., 2009). O indicador foi fornecido do dia 10 ao 20 de cada período experimental.

As amostras fecais (200 g) foram coletadas, a partir do 15° dia até o 19° dia de cada período, diretamente no reto 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, obtendo-se uma amostra de cada piquete por período, para análise química, conforme descrito anteriormente. As

concentrações de TiO₂ foram analisadas por espectrofotometria UV/Vis, de acordo com a metodologia descrita por Myers et al (2004).

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 g/cm²) de 5x5 cm e 0,5 g de amostra incubadas no rúmen (in situ) por 288 horas (Detmann et al., 2012). A oferta de suplemento foi baseada nas sobras diárias, e o consumo do pasto foi feito por meio do indicador interno (FDNi).

2.4. Fermentação ruminal

No 20° dia, de cada período experimental foram coletadas manualmente amostras do conteúdo ruminal para determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal e ácidos graxos de cadeia curta, imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento do suplemento. 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) de amostras de líquido ruminal foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos e coletado 1800 µL de sobrenadante, sendo misturadas com 100 µL de uma solução de ácido ortofosfórico 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 H₂SO₄ 1:1, congelada a -18°C para posterior análise.

A determinação dos teores de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (N-NH₃) foi realizada de acordo com o método INCT-CA N201 007/1, descrito por Detmann et al (2012). As concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta foram medidas

usando um cromatógrafo a gás (modelo GC 2104, Shimadzu, Tóquio, Japão) de acordo com o método descrito por Erwin et al. (1961) e adaptado por Getachew et al (2002). O cromatógrafo a gás foi equipado com injetor split, detector de ionização de chama dupla (temperatura a 250°C) e coluna capilar (Stabilwax, Restek, Bellefonte, PA, EUA) a 145°C. Os gases utilizados nas análises foram o hélio como gás de arraste (fluindo 8.01 mL/min), hidrogênio como gás combustível (pressão de 60 kPa) e ar sintético como gás oxidante (pressão de 40 kPa). Um padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chem Service, Inc., West Chester, PA, EUA). O software GCSolution (Shimadzu) foi usado para calcular as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta.

2.5. Síntese de proteína microbiana e derivados e purinas

A coleta de urina foi realizada no 21º 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. Todas as amostras foram identificadas e congeladas imediatamente a -18°C para posterior análise.

A determinação da alantoína na urina foi realizada pelo método colorimétrico, segundo Fujihara et al (1987), descrito por Chen e Gomes (1992). Kits comerciais (Labtest, Lagoa Santa, Brasil; Gold Analisa Diagnostica Ltda, Belo Horizonte, Brasil) foram usados para determinar a concentração de creatinina e ácido úrico e as leituras foram feitas com um analisador bioquímico semiautomático (BIO-200, Bioplus, Barueri, Brasil).

2.6. Metabolismo da ureia

No 22º 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 -18°C para posterior análise da ureia e creatinina plasmática. O sobrenadante sérico coletado foi analisado para ureia e creatinina plasmática pelo método colorimétrico em kits comerciais (Gold Analisa® Diagnostica Ltda) e leituras realizadas em analisador bioquímico semiautomático (BIO – 200, Bioplus).

2.7. Cálculos e análise estatística

Para a determinação da produção fecal foi utilizada a fórmula: $EF = OF/COF$. 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 consumo de matéria seca foi estimado de acordo com Dias et al. (2017) com a equação: $CMS (kg/dia) = \{[(EF \times CIFZ) - IS] / CIFO\} + CMSS$. 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. A estimativa para a determinação da produção de metano (mM/L) foi realizada segundo fórmula proposta por Moss et al. (2000), $MEt = 0.45 (C2) - 0.275 (C3) + 0.4 (C4)$; sendo C2 a concentração de ácido acético, C3 a concentração de ácido propiônico e C4 a concentração de ácido butírico.

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). 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/kg de MS microbiana de carboidratos degradados no rúmen (CHODR).

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: $DP = 0,85 \cdot Pabs + 0,385 \cdot PC_{0,75}$, 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). 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).

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC 2009), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE. Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + e_{ijk}$; onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito da dieta ($k = 1$ to 5), e e_{ijk} = erro.

Para se avaliar os efeitos da fonte de oleaginosa e da quitosana, as médias foram aplicadas com contrastes ortogonais conforme apresentado: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

Os dados obtidos de fermentação ruminal foram analisados pelo comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, de acordo com a 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 = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 5), T_k = efeito do tempo (1 a 5), $T_y(D_k)$ = interação entre dieta e tempo e e_{ijk} = erro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial pelo comando PROC MIXED, adotando-se nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Disponibilidade de forragem

A disponibilidade total de matéria seca (MS) e folha (MSverde) durante todo período experimental foram de 2,07 t/ha e 1,18 t/ha respectivamente (Tabela 2). A forragem ingerida pelos animais apresentou teores médios de proteína bruta de 7,62% e a relação energia: proteína das forragens (NDT: PB), apresentou média de 7,60 (Tabela 3).

3.2. Consumo e digestibilidade

Os animais que receberam a suplementação com oleaginosas (CONxOLE) apresentaram redução de 9,77%, no consumo de MS de suplemento ($P < 0.001$), e menor consumo de MS total e PB apresentando médias de 9,4 kg/dia e 1,78 kg/dia (Tabela 4). A presença de grãos de oleaginosas na dieta resultou em aumento no consumo de EE ($P < 0.001$), com média de 0,54 kg/dia. Os animais suplementados com oleaginosas (CONxOLE) apresentaram um aumento de 4,4% na digestibilidade de EE em relação a dieta controle ($P < 0.001$) (Tabela 4).

Na comparação entre grão de cártamo e soja (CTxSJ), a adição da soja apontou maiores valores para o consumo de MS do suplemento com média de 7,43

kg/dia. A adição do grão soja aumentou em 8,06% o consumo de PB dos animais, em relação ao grão cártamo ($P < 0.001$) (Tabela 4). No mesmo contraste (CTxSJ), os animais que receberam cártamo apresentaram aumento de 20% no consumo de EE e aumento de 14% no consumo de FDN. A inclusão de cártamo no suplemento (CTxSJ) resultou em maior digestibilidade do EE, apresentando média de 0,964 g/kg (Tabela 4).

A adição de quitosana nas dietas a base de cártamo (CTxCTQ) tende a maior digestibilidade da MS ($P = 0,070$), MO ($P = 0,048$) e PB ($P = 0,035$). No entanto, a adição de quitosana nas dietas a base de soja (SJxSJQ) apresentou menor consumo de EE ($P = 0,017$) e digestibilidade de MS ($P = 0,004$), MO ($P = 0,003$) e FDN ($P = 0,003$) (Tabela 4).

3.3. Padrões fermentativos

A suplementação com ou sem a inclusão de oleaginosas e quitosana não influenciaram o pH ruminal, mantendo a média de 6,62. Da mesma forma, não houve efeito na concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (N-NH₃), com média de 23,26 mg/dL (Tabela 5). Os tratamentos utilizados, não afetaram o total ácidos graxos de cadeia curta, apresentando média de 70,55 mmol/L. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para emissão de metano, mantendo-se média de 21,94 g/dia (Tabela 5).

3.4. Excreção dos derivados de purina e síntese de N-microbiano

Os tratamentos dietéticos dos animais não afetaram ($P > 0.05$) a excreção de derivados de purina e síntese de nitrogênio microbiano (Tabela 6).

4. DISCUSSÃO

O consumo dos bovinos a pasto depende exclusivamente da qualidade da forragem. Diante disso, Silva et al (2009), propuseram 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 teor de PB da forragem ingerida pelos animais é considerado um valor adequado para atender as exigências proteicas do animal nessa categoria NRC (2016). Os teores de PB abaixo de 7%, acarretam redução na digestão da mesma e menor consumo voluntário (Van Soest, 1994). Com isto, a melhoria das condições de alimentação para animais ruminantes durante períodos de escassez de forragens, é uma das alternativas mais práticas para adequar suprimento de nutrientes aos requerimentos dos animais.

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 (Moore e Kunkle, 1998). Os valores da relação energia: proteína bruta da forragem (NDT:PB), apresentou média de 7,60, demonstrando que a pastagem estava levemente deficiente em PB de acordo com o limiar estabelecido por Moore et al. (1999). Onde, a razão maior que 7 indica um déficit de proteína em relação a energia disponível, em situação contrária a relação NDT:PB menor do que 7 é resultante de uma quantidade de proteína adequada na dieta (Moore et al., 1999).

O consumo de suplemento, PB, MS e MO diminuiu com a adição das fontes de oleaginosas na dieta, e aumentou a ingestão de EE. A redução no consumo dos animais alimentados com soja e cártamo pode estar relacionado com o teor de extrato etéreo derivado da suplementação lipídica e pela presença de ácidos graxos

insaturados na dieta, que podem reduzir a digestibilidade da fibra e conseqüentemente a ingestão de MS por enchimento (Benchaar et al., 2015). Outro efeito paralelo que pode reduzir o consumo de MS, é o aumento no conteúdo de ácido graxo insaturado no soro sanguíneo associado ao aumento de lipídios na dieta (Granja et al., 2017). Esse aumento de AG resulta em ativação do centro de feedback de sinais de saciedade do hipotálamo causando saciedade no animal, o que inibi o consumo de MS (Allen, 2000; Granja et al., 2017). Estudos utilizando diferentes fontes de oleaginosas também mostraram influência sobre a redução do consumo e digestibilidade de bovinos (Fiorentii et al., 2018; Carvalho et al., 2017; Neto et al., 2017; Dschaak et al., 2011; Lee et al., 2008), relacionado aos efeitos na função ruminal.

Entretanto, neste trabalho a inclusão de oleaginosas apresentou maior digestibilidade de EE. Burdick et al (2022), trabalhou com AG de cadeia média (0,05-0,2% da MS da dieta), e concluiu que as dosagens não afetaram a digestibilidade dos nutrientes, supondo que alimentação com AG de cadeia média podem causar diferentes efeitos na digestibilidade dependendo do comprimento da cadeia. Contudo, o aumento da digestibilidade do EE em dietas com oleaginosas, seguiu a premissa de Doreau e Chilliard (1997), em que o aumento de ácidos graxos insaturados de cadeia longa no intestino podem aumentar a digestibilidade e a eficiência de absorção do EE.

A presença de ácidos graxos insaturados que são conhecidos por terem um efeito negativo sobre as bactérias celulolíticas, podem apresentar efeitos inibitórios da digestão da fibra (Ibrahim et al., 2021). Este efeito sobre os microrganismos ocorre devido a alteração na permeabilidade da membrana celular (Maia et al., 2007). Além disso a porcentagem de inclusão, tipo de suplementação lipídica na dieta, podem reduzir a digestibilidade da fibra (Burdick et al., 2022)

Ferlay e Chilliard (2020), estudaram a interação entre 2 tipos de forragem e 3 tipos de suplementos lipídicos (2,5% de óleo de peixe, 5,0% de óleo de girassol, ou 5,0% de óleo de linhaça) em vacas Holandesas e observaram redução no consumo das dietas suplementadas com óleo. No entanto, a comparação dos contrastes CTxSJ, apontou que o fornecimento de SJ apresentou um maior consumo de suplemento e PB. Todavia, na comparação entre (CTXSJ), a adição do CT aumentou o consumo de FDN e EE, podendo estar relacionados com a maior quantidade de EE presente no CT da dieta (Tabela 1), ocasionando também maior consumo de EE nos suplementos com inclusão de CT. Alizadeh et al (2010), relataram que o cártamo pode ser incluído em até 5% da (MS) dietética para vacas, sem comprometimento no consumo de matéria seca, mantendo a fermentação ruminal. Apesar das recomendações propostas, utilizamos níveis superiores, com inclusão de 10,5% de CT na MS na dieta, influenciando no consumo e digestibilidade de EE dos animais.

A inclusão do CT também apresentou maiores valores na digestibilidade de EE. A forma de fornecimento em grãos, pode ter influenciado no aumento da digestibilidade do EE. A digestão e as taxas de passagem se opõem, pois, uma taxa de passagem mais lenta se correlaciona com maior digestão (Allen e Mertens, 1988). Portanto, o aumento na digestibilidade do EE pode estar relacionado com a diminuição na taxa de passagem causada pela gordura dietética resultando em melhor digestão. Além disso, o cártamo possui sementes menores, e em seu conteúdo contém substâncias ativas (Tavarini et al., 2019, Kenari et al., 2014). A presença dessas substâncias, como ácidos graxos poliinsaturados, em doses mais acentuadas, causa efeitos percebíveis no rúmen (Oancea et al., 2022).

De acordo com Dschaak et al (2011), as digestibilidades totais de MS e MO aumentaram quando as vacas foram alimentadas com sementes de cártamo até 3,0%

MS. Da mesma forma, digestibilidades totais de FDN e MO, não foram influenciadas pela ingestão de cártamo na dieta, até 5% na MS (Alizadeh et al., 2010). De acordo com Drackley (2000), a ingestão de fontes de oleaginosas na dieta em níveis acima de 7% de MS diminui a digestibilidade da gordura, podendo haver influência da baixa atividade da lipase ruminal. Ferreira et al (2019), utilizando altas concentrações de óleo de soja na dieta de novilhos, também observaram aumento na digestibilidade de EE. Outro fator que pode estar associado a digestibilidade, é a forma que as oleaginosas foram disponibilizadas. Espera-se que lipídios em grãos inteiros tenham menor efeito sobre a ingestão de MS, fermentação ruminal e digestão de fibras, comparado a lipídios em oleaginosas processadas (Jenkins, 1997; Palmquist e Jenkins, 2017).

No presente estudo a inclusão da quitosana nas dietas com oleaginosas, não influenciou no consumo dos animais. Em relação ao fornecimento da quitosana em dietas sem a presença de oleaginosas e extrato etéreo relativamente baixo, também não foi observada modificação na ingestão de nutrientes (Goiri et al., 2010; Araújo et al., 2015; Paiva et al., 2016). Em situações contrárias, o fornecimento da quitosana para animais contendo óleo de soja, reduziu o consumo de nutrientes (Del Valle et al., 2017).

Apesar da quitosana não ter afetado os parâmetros de consumo avaliados, a digestibilidade aparente total da MS, MO e PB melhorou quando a quitosana foi adicionada à dieta a base de CT. A quitosana pode promover modificações na fermentação ruminal melhorando assim a digestibilidade aparente e total da MS e nutrientes (Li et al., 2017; Santos et al., 2020). O aditivo é uma macromolécula e é capaz de inibir o crescimento de algumas bactérias (Abd El-Hack., 2020). As mudanças na fermentação ocasionadas pela quitosana está relacionada a

constituição das membranas celulares dos microrganismos (Macedo et al., 2022). 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 peptideoglicana das bactérias gram positivas, sendo as duas aniônicas. De acordo com alguns estudos as bactérias gram positivas apresentam maior suscetibilidade do que as bactérias gram negativas (No et al., 2002; Senel et al., 2004).

Já a inclusão da quitosana na dieta com SJ, levou a uma menor digestibilidade da MS, MO e FDN. Dietas com inclusão de soja crua e quitosana também reduziram a digestão da fibra (Zanferari et al., 2018). Os autores sugerem que *Butyrivibrio fibrisolvens* foi afetado pela inclusão do grão de soja na dieta, resultando na diminuição da digestibilidade da PB. Segundo Maia et al (2007), as *fibrisolvens* são suscetíveis aos efeitos bacteriostáticos dos ácidos graxos insaturados. Contudo, mudanças na população de bactérias ruminais de bovinos recebendo dieta a base de grão de oleaginosa são provavelmente a principal causa de diminuições na digestibilidade de PB.

Não houve alterações nos padrões fermentativos em nosso estudo quando suplemento lipídico foi incluído na dieta. Foi consistente com pesquisas anteriores que a suplementação com óleo vegetal não teve efeitos no valor do pH ruminal e no nível de $\text{NH}_3\text{-N}$ (Pi et al., 2019; Lunsin et al., 2012). Porém, outros autores sugerem que os suplementos lipídicos podem influenciar parâmetros de fermentação ruminal, dependendo da sua composição e inclusão na dieta (Chelikani et al., 2004; Benchaar et al., 2012). 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. Apesar de neste experimento o pH

ruminal dos animais não ter sido alterado estatisticamente, é importante lembrar que o pH ruminal mais baixo pode alterar a população microbiana e alterar as rotas usuais de BH ruminal (Barletta et al., 2016).

O $\text{NH}_3\text{-N}$ no rúmen geralmente reduz (Wanapat et al., 2011) ou não é afetado pela gordura presente na dieta (Homem Junior et al., 2010). A inclusão dos suplementos na dieta não teve efeito nos derivados de purina e síntese de N microbiano. Segundo Van Soest (1994), a concentração de N-NH_3 ruminal é fundamental ao crescimento e eficiência microbiana. Para que não ocorra limitação na fermentação microbiana, a concentração mínima de N-NH_3 deve ser em torno de 5 mg/100 mL de líquido ruminal, e máxima de 23 mg de N-NH_3 /mL para síntese microbiana (Oliveira, 2020). Assim, destaca-se que os valores observados em todos os tratamentos estão de acordo com os valores indicados para não limitar a fermentação e para máxima síntese microbiana, podendo atribuir esses resultados para a semelhança nos perfis digestivos entre as dietas e as condições de fermentação ruminal.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de grãos de oleaginosas na dieta de novilhos a pasto, aumentou o consumo de EE e não afetou negativamente a digestibilidade do mesmo. A dieta a base de cártamo aumentou o consumo de EE, FDN, e digestibilidade de EE. A adição da quitosana na dieta com cártamo melhorou a digestibilidade dos nutrientes sem alterações no consumo. Os tratamentos contendo suplementos dietéticos lipídicos e quitosana não influenciaram nas características de fermentação ruminal.

Aprovação de Ética

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).

ORCID dos Autores

(N. G. Silva) <http://orcid.org/0000-0003-4195-2465>

(R. H. T. B. Goes) <http://orcid.org/0000-0002-4744-0367>

(J. R. Gandra) <http://orcid.org/0000-0002-3287-8737>

(R. T. Oliveira) <http://orcid.org/0000-0003-1079-1574>

Contribuições dos autores

Nayara Gonçalves Silva: Conceituação, Validação, Investigação, Redação, Visualização, Redação - Rascunho Original, Redação - Revisão e Edição, Administração do projeto. **Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes:** Conceituação, Metodologia, Validação, Análise formal, Redação - Revisão e Edição, Supervisão. **Raquel Tenório Oliveira:** Investigação. **Tatiane Fernandes:** Análise formal, Redação – Revisão. **Letícia Emanuelle Fetter de Oliveira:** Investigação. **Calebe Corcino Silva:** Investigação. **Thalison Marques de Souza:** Investigação. **Lavinya Rodrigues Feitosa:** Investigação. **Jefferson Rodrigues Gandra:** Programas, Análise Formal, Curadoria de dados.

Declaração de interesse

Nenhum.

Reconhecimentos

Os autores também agradecem à Universidade Federal da Grande Dourados e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

Declaração de apoio financeiro

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

6. REFERÊNCIAS

- Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Shafi, M.E., Zabermaawi, N.M., Arif, M., Batiha, G.E., Khafaga, A.F., Abd El-Hakim, Y.M., AISagheer, A.A., 2020. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. **Int. J. Biol. Macromol** 164, 2726.
- Alizadeh, A.R., Ghorbani, G.R., Alikhani, M., Rahmani, H.R., Nikkhah, A., 2010. Safflower seeds in corn silage and alfalfa hay based early lactation diets: A practice within an optimum forage choice. **Anim. Feed Sci. Technol** 155, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.09.014>
- Allen, M.S., Mertens, D.R., 1988. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. **J. Nutr** 118, 261-270.
- Allen, M.S., 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).
- Alves, S.P., Santos-Silva, J., Cabrita, A.R., Fonseca, A.J., Bessa, R.J., 2013. Detailed dimethylacetal and fatty acid composition of rumen content from lambs fed lucerne or concentrate supplemented with soybean oil. **PloS ONE** 3, e58386.
- Araújo, A.P.C., Venturelli, B.C.; Santos, M.C.B., Gardinal, R., Cônsolo, N.R.B., Calomeni, G.D., Freitas Júnior, J.E., Barletta, R.V., Gandra, J. R.; Paiva, P.G., Rennó, F.P., 2015. Chitosan affects total nutrients digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Journal Animal Feed Science and Technology** 206, 114-118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.016>
- Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 1990. Official methods of analysis, volume 2, 15th edition. **AOAC International**, Arlington, VA, USA.
- Barletta, R.V., Gandra, J.R., Bettero, V.P., Araujo, C.E., Del Valle, T.A., Almeida, G.F., Ferreira de Jesus, E., Mingoti, R.D., Benevento, B.C., Freitas Junior, J.E., Rennó, F.P., 2016. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology** 219, 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.011>
- Bayat, A.R., Tapio, I., Vilkki, J., Shingfield, K.J., Leskinen, H., 2017. Plant oil supplements reduce methane emissions and improvenmilk fatty acid composition in dairy cows fed grassnsilage-based diets without affecting milk yield. **J. Dairy Sci** 101, 1-16. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13545>
- Belanche, A., Pinloche, E., Preskett, D., Newbold, C.J., 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, 1-13. doi: 10.1093/femsec/fiv160
- Benchaar, C., Romero-Pérez, G.A., Chouinard, P.Y., Hassanat, F., Eugène, M., Petit, H.V., Côrtes., C., 2012. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total

mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. **J. Dairy Sci** 95, 4578-4590. [10.3168/jds.2012-5455](https://doi.org/10.3168/jds.2012-5455)

Benchaar, C., Hassanat, F., Martineau, R., Gervais, R., 2015. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science** 98, 7993-8008. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9398>

Burdick, M., Zhou, M., Guan L.L., Oba M., 2022. Effects of medium-chain fatty acid supplementation on performance and rumen fermentation of lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science** 16, 1751-7311. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100491>

Capelle, E.R., Valadares Filho, S.C., Silva, J.F.C, Cecon, P.R., 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>

Carvalho, I.P.C., Fiorentini, G., Castagnino, P.S., Jesus, R.B., Messana, J.D., Granja, S.Y.T., Detmann, E., Padmanabha, J., McSweeney, C.S., Berchielli, T.T., 2017. Supplementation with lipid sources alters the ruminal fermentation and duodenal flow of fatty acids in grazing Nellore steers. **Animal Feed Science Technology** 227, 142-153. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.02.017

Chelikani, P.K., J.A., Bell, J.J. Kennelly., 2004. Effects of feeding or abomasal infusion of canola oil in Holstein cows 1. Nutrient digestion and milk composition. **J. Dairy Res** 71, 279-287.

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. 2.

Chizzotti, M.L., Valadares Filho, S.C., Valadares, R.F.D., Chizzotti, F.H.M., Campos, J.M.S., Marcondes, M.I., Fonseca, M.A., 2006. Intake, digestibility and urinary excretion of urea and purine derivatives in heifers with different body weights. **Brazilian Journal of Animal Science** 35, 1813-1821. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000600032>

Christaki, E., Giannenas, I., Bonos, E., Florou-Paneri, P., 2020. Innovative uses of aromatic plants as natural supplements in nutrition. **Feed Additives** 19-34. doi:10.1016/b978-0-12-814700-9.00002-9

Del Valle, T.A., Paiva, P.G., Jesus, E.F., Almeida, G.F., Zanferari, F., Costa, A.G.V.B., Bueno, I.C.S., Renno, F.P., 2017. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows. **Journal Animal Feed Science and Technology** 201, 22-29.

Detmann, E., Souza, M.A., Valadares Filho, S.C., Queiroz, A.C., Berchielli, T.T., Saliba, E.O.S., Cabral, L.S., Pina, D.S., Ladeira, M.M., Azevedo, J.A.G., 2012. Métodos para análise de alimentos, editora Suprema, Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brasil.

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. **Journal Animal Feed Science and Technology** 225, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015>.

Doreau, M., Chilliard, Y., 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **Br. J. Nutr** 78, 15-3

Drackley, J.K., 2000. Lipid metabolism. In: Farm Animal Metabolism and Nutrition. Edited by J.P.F. D'Mello. CAPI Publishing, Wallingford, UK, pp. 97-119.

Dschaak, C.M., Noviandi, C.T., Eun, J.-S., Fellner, V., Young, A. J., ZoBell D.R., Israelsen, C.E., 2011. Ruminal fermentation, milk fatty acid profiles, and productive performance of Holstein dairy cows fed 2 different safflower seeds. **Journal Dairy Science** 94, 5138-515. doi:10.3168/jds.2011-4541.

Dubbs, T.M., Vanzant, E.S., Kitts, S.E., Bapst, R.F., Fieser, B.G., Howlett C.M., 2003. Characterization of season and sampling method effects on measurement of forage quality in fescue-based pastures. **Animal Science** 81, 1308-15. <https://doi.org/10.2527/2003.8151308x>.

Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E.M., 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatograph. **Dairy Science** 44, 1768-1771.

Fellner, V., Sauer, F.D., Kramer, J.K.G., 1997. Effect of nigericin, monensin and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. **J. Dairy Sci** 80, 921–928.

Ferlay, A., Chilliard, Y., 2020. Effect of linseed, sunflower, or fish oil added to hay-, or corn silage-based diets on milk fat yield and trans-C18: 1 and conjugated linoleic fatty acid content in bovine milk fat. **Livestock Science** 235, 104005.

Ferreira, A.V.P., Cominotte, A., Ladeira., M.M., Casagrande, D.R., Teixeira, P.D., Van Cleef, E., Ezequiel, J., Castagnino, P., Machado Neto, O.R, 2019. Feedlot diets with soybean oil, selenium and vitamin E alters rumen metabolism and fatty acids content in steers. **Journal Animal Feed Science and Technology** 260, 114362. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114362>

Ferreira, M.A., Valadares Filho, S.C., Marcondes, M.I., Paixão, M.L., Paulino, M.F., Valadares, R.F.D., 2009. Evaluation of indicators in studies with ruminants: digestibility. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38, 1568-1573. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800022>.

Fiorentini, G., Messana J.D., Jose Neto A., Sgobi E.G., Castagnino, P.S., Berchielli T.T., 2018. Performance and meat quality of Nellore bulls fed crude glycerin combined with soybean oil. **Journal Animal Feed Science and Technology** 241, 45-54.

Fujihara, T., Orskov, E.R., Reeds, P.J., Kyle, D.J., 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science** 109, 7-12. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080916>.

- Getachew, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. **Journal Agricultural Science** 139, 341-352. 10.1017/s0021859602002393
- Goiri, I., Rodriguez, A.G., Oregui, L.M., 2009. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **Journal Animal Feed Science and Technology** 148, 276-287. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007>
- Goiri, I., Oregui, L.M., Garcia-Rodriguez, A., 2010. Use of chitosan to modulate ruminal fermentation of 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Animal Science** 88, 749-755. 10.2527/jas.2009-2377
- Gomez-Insuasti, A.S., Granja-Salcedo, Y.T., Castagnino, P.S., Vieira, B.R., Malhieros, E.B., Berchielli, T.T., 2014. The effect of lipid sources on intake, rumen fermentation parameters and microbial protein synthesis in Nellore steers supplemented with glycerol. **Animal Production Science** 54, 1871-1876. <https://doi.org/10.1071/AN14394>.
- Gomez-Insuasti, A.S., Granja-Salcedo, Y.T., Rossi, L.G., Vieira, B.R., Berchielli, T.T., 2018. Effect of soybean oil availabilities on rumen biohydrogenation and duodenal flow of fatty acids in beef cattle fed a diet with crude glycerine. **Archives of Animal Nutrition** 72, 308-320. Doi: 10.1080/1745039X.2018.1492805.
- Granja-Salcedo, Y.T., De Souza, V.C., Dias, A.V.L., Gomez-Insuasti, A.S., Messana, J.D., Berchielli, T.T., 2017. Diet containing glycerine and soybean oil can reduce ruminal biohydrogenation in Nellore steers. **Anim. Feed Sci. Technol.** 225, 195-204.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P. Lipid Metabolism in The Rumen. In: HOBSON, H.D. (Ed.) The rumen microbial ecosystem. New York: Elsevier Science, 1988. p.285-322
- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S., 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. **Int. J. Food Microbiol** 71, 235–244. Doi: 10.1016/s0168-1605(01)00609-2.
- Helander, I.M., Lativa-kala K., Lounatmaa, K., 1998. Permeabilizing action of polyethyleneimine on Salmonella typhimurium involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. **Great Britain** 144, 385-390.
- Hightshoe, R.B., Cochran, R.C., Corah, L.R., 1991. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. **Journal of Animal Science** 69, 4097-4103. <https://doi.org/10.2527/1991.69104097x>.
- Homem Junior, A.C., Ezequiel, J.M.B., Fávoro, V.R., Oliveira, P.S.N., D'Aurea, A.P., Santos, V.C., Gonçalves, J.S., 2010. Ruminal fermentation of sheep fed highconcentrated diet containing sunflower grains or protected fat. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec** 62, 144-153.
- Hess, B.W., Moss, G.E., Hule, D.C., 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **J. Anim. Sci.** 86, 188-204.

Ibrahim. N.A., Alimon, A.R., Yaakub, H., Samsudin, A.A., Candyrine, S.C.L., Mohamed, W.N.A., Noh, A.M., Fuat, M.A., Mookiah, S., 2021. Effects of vegetable oil supplementation on rumen fermentation and microbial population in ruminant: a review.

Jenkins, T.C., 1997. Success of fat in dairy rations depends on the amount. **Feedstuffs** January 13, 11-12.

Jenkins, T.C., Bridges W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **Europe Journal Lipid Science technology** 109, 778-789. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700022>.

Kenari, E., R., Mohsenzadeh, F., Amiri, Z. R., 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. **Food Science and Nutrition** 2, 426–435.

Lee, M.R.F., Shingfield, K.J., Tweed, J.K.S., Toivonen, V., Huws, S.A., Scollan, N. D., 2008. Effect of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids in steers fed grass or red clover silages. **Animal** 2:12, 1859-1869. doi:10.1017/S1751731108002899.

Li, Z., Bai, H., Zhenga, L., Jianga, H., Cui, H., Caoa, Y., Yaoa, J., 2017. Bioactive polysaccharides and oligosaccharides as possible feed additives to manipulate rumen fermentation in Rusitec fermenters. **Int. J. Biol. Macromol** <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.098>

Lunsin., R., Wanapat, M., Yuangklang, C., Rowlinson, P., 2012. Effect of rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Livestock Science**, 145 (2012), pp . 167 - 173

Macedo, J.B., Sanfelice, R.C., Mercante., L.A., Santos., DM.D., Habitzreuter., F., Campana Filho., S.P., Pavinatto, A., 2022. Antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: influence of its structural characteristics. **Quim. Nova** 45, 690-704. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170867>

Maia, M.R., Chaudhary, L.C., Figueres, L., Wallace, R.J., 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek* 91, 303-314. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9118-2>.

Mertens, D.R., 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, J.E., Brant, M.H., Kunkle, W.E., Hopkins, D.I., 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal Animal Science** 77, 122-135. https://doi.org/10.2527/1999.77suppl_2122x.

Moore, J.E., Kunkle, W.E., 1998. Balancing protein and energy in forages. In: Florida beef cattle short course, Gainesville. Proceedings, Gainesville: University of Florida, 1998. p.126.

Moss, A., J., Jean-Pierre, and N. John., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Ann. Zootech.** 49 231-253. <https://doi.org/10.1051/animres:2000119>

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. **Journal Animal Feed Science and Technology** 82, 179-183. <http://dx.doi.org/10.2527/2004.821179x>.

National Research Council (NRC), 2016. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th edition. National Academy of Science, Washington, DC, USA.

Neto, A.J., Messana, J.D., Granja-Salcedo, Y.T., Castagnino, P.S., Fiorentini, G., Reis, R.A., Berchielli, T.T., 2017. Effect of starch level in supplement with or without oil source on diet and apparent digestibility, rumen fermentation and microbial population of Nellore steers grazing tropical grass. **Livestock Science** 202, 171-179. doi: 10.1016/j.livsci.2017.06.007

Neto, A.J., Granja-Salcedo, Y.T., Messana, J.D., Malheiros, E.B., Reis, R.A., Pires, A.V., Berchielli, T.T., 2019. Soybean hulls as feed substitute of ground corn can increase the fiber digestibility and bacterial fibrolytic profile of grazing Nellore steers during the rainy season. **Semina: Agricultural Sciences** 40, 3577-3594. doi: 10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl3p3577

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** 74, 65-72.

Oancea, A.G., Dragomir, C., Cişmileanu, A., 2022. The effects of minor oilseeds cakes on rumen metabolism and productive performances of ruminants. **Archiva Zootechnica** 252, 130-157. Doi:10.2478/azibna-2022-0020

Oliveira, R.T., Goes, R.H.T.B., Gandra, J.R., Sabedot, M.A., Osmani, M.P., Silva, N.G., Anschau, D.G., Oliveira, S.S., Picanço, Y.S., 2020. Intake, digestibility, and recovery of grains from feces of steers fed different oilseeds. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal** 21, 1-12.

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

Paiva, P.G., Ferreira de Jesus, E., Del Valle, T.A., Almeida, G. F., Costa, A.G.V.B., Consentini, C.E.C., Zanferari, F., Takiya, C.S., Bueno, I. C. S., Rennó, F.P., 2016. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows. **Animal Production Science** 57, 301-307.

Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 2017. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. **Journal Dairy Science** 100, 10061-10077. doi:10.3168/jds.2017-12924.

Parodi, P.W., 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. **J. Nutr** 127, 1055-1060.

Pi, Y., Ma, L., Pierce, K. M., Wang, H. R., Xu, J. C., e Bu, D. P., 2019. Rubber seed oil and flaxseed oil supplementation alter digestion, ruminal fermentation, and rumen fatty acid profile of dairy cows. **Animal** 13, 2811-2820.

Rennó, F.P., Cònsolo, N.R.B., Barletta, R.V., Ventureli, B., Gardinal, R., Takiya, C.S., Gandra, J.R., Pereira, A.S.C., 2015. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. **Archivos de Zootecnia** 64, 332.

Rennó, L.N., Valadares, R.F., Valadares Filho, S.C., Leão, M.I., Silva, J.F.C., Cecon, P.R., Gonçalves, L.C., Dias, H.L.C., Linhares, R.S., 2000. Plasma urea concentration and urea and creatinine excretion in steers. **Revista Brasileira de Zootecnia** 29, 1235-1243. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982000000400038>.

Russel, J.B., Wilson, D.B., 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)

Santos, G. C. L., Oliveira, J. S., Gonzaga Neto, S., & Duarte, A. M. C. 2020. Uma revisão de quitosana: polímero que melhora a eficiência do rebanho e a sustentabilidade do sistema de produção. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** 3.1, 73-88.

Senel, S., McClure, S.J., 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews** 56, 1467-1480. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.007>.

Silva, F.F., Sá, J.F., Schio, A.R., Itavo, L.C.V., Silva, R.R., Mateus, R.G., 2009. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38, 371-389. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009001300037>

Talavera, F., Park, C.S., Willians G.L., 1985. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol, and ovarian function in Holstein heifers. **Journal of Animal Science** 60, 1045-1051. <https://doi.org/10.2527/jas1985.6041045x>.

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: Cornell University, Ithaca, NY.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., 1999. Analysis of forages and fibrous foods. A Laboratory Manual, Cornell University, Ithaca, NY.

Verbic, J., Chen, X.B., Macleod, N.A., Ørskov, E.R., 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agricultural Science** 114, 243-248. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>.

Wanapat, M., Mapato, C., Pilajun, R., Toburan, W., 2011. Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. **Livest. Sci** 135, 32-37.

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>

Tabela 1. Ingredientes e composição química dos suplementos fornecidos aos animais.

Ingrediente (%)	CON	CT	SJ
Milho	86,16	73,38	81,50
Soja grão	-	-	10,03
Cártamo grão	-	13,82	-
Farelo de Soja	5,06	5,0	-
Ureia protegida	3,8	3,8	3,8
*Mistura mineral	4,97	4,67	4,0
Composição			
MS (% da MS)	88,98	77,13	80,24
PB (% da MS)	21,44	21,48	22,82
FDN (% da MS)	17,02	23,92	17,19
EE (% da MS)	1,35	4,75	3,07
NDT (% da MS)	80,69	77,81	80,62

CON = controle, CT = cártamo e SJ = soja. *Níveis de garantia: fósforo: 40,00g; cálcio: 199,50g; enxofre: 10,00g; sódio: 125,00g; zinco: 2.260,00 mg; cobre: 619,50mg; cobalto: 22,00mg; 42,00mg; selênio: 14,00mg; flúor: 400mg. MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, EE = extrato etéreo, NDT = nutrientes digestíveis totais.

Tabela 2. Disponibilidade de matéria seca e matéria verde totais, características morfológicas e composição bromatológica do pasto de *Urochloa brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Disponibilidade do pasto	Média
MS total (t/ha)	2,07
MS verde total (t/ha)	1,18
Altura (cm)	29,2
Colmo %	19,0
Folha %	43,21
Material senescente %	37,78
MS %	30,02
MO %	93,83
PB %	5,80
FDN %	81,60
FDA %	44,47
*NDT%	53,75
NDT:PB	9,26

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

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

	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ
MS (%)	36,73	38,44	37,63	36,59	33,10
MO (%)	90,86	91,33	92,22	87,89	91,89
PB (%)	7,36	7,21	8,05	7,04	8,44
EE (%)	1,55	1,41	1,44	1,71	1,66
FDN (%)	74,28	71,86	68,93	75,63	69,77
FDA (%)	33,99	36,21	35,93	36,34	33,39
NDT (%)	56,80	57,81	59,03	56,24	58,66
NDT: PB	7,71	8,01	7,33	7,98	6,95

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana. MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, 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. Valores médios de consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.

Variável	Suplementos						p-valor				
	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ	EPM	SUPL	CON xOLE ^{C1}	CT x SJ ^{C2}	CT xCTQ ^{C3}	SJ x SJQ ^{C4}
Consumo (Kg/dia)											
Pasto	1,86	2,23	1,87	1,90	2,32	0,124	0,473	0,405	0,793	0,282	0,208
Suplemento	8,14	7,20	7,31	7,47	7,40	0,270	<,001	<,001	0,067	0,451	0,618
MS	10,0	9,44	9,18	9,36	9,73	0,283	0,195	0,0537	0,360	0,469	0,316
MO	9,00	8,60	8,37	8,39	8,84	0,257	0,249	0,092	0,586	0,477	0,183
PB	1,88	1,70	1,73	1,84	1,88	0,059	<,001	0,009	<,001	0,492	0,315
EE	0,24	0,62	0,57	0,56	0,43	0,026	<,001	<,001	0,006	0,376	0,017
FDN	2,78	3,34	3,07	2,73	2,89	0,021	0,129	0,257	0,034	0,298	0,529
Digestibilidade (g/kg)											
MS	0,58	0,56	0,65	0,71	0,57	0,021	0,0131	0,277	0,343	0,070	0,004
MO	0,65	0,63	0,73	0,75	0,60	0,021	0,014	0,387	0,816	0,048	0,003
PB	0,73	0,71	0,79	0,75	0,76	0,013	0,275	0,468	0,869	0,035	0,938
EE	0,91	0,96	0,97	0,95	0,94	0,004	0,001	0,001	0,028	0,932	0,556
FDN	0,42	0,50	0,53	0,54	0,38	0,021	0,013	0,110	0,160	0,576	0,003

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana, SUPL= suplemento, OLE = cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana). MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra em detergente neutro.

Contrastes ortogonais: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

Tabela 5. Valores médios dos padrões de fermentação ruminal dos novilhos suplementados de acordo com as dietas experimentais.

Variável	Suplementos							p-valor			
	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ	EPM	SUPL	CONxOLE ^{C1}	CTxSJ ^{C2}	CTxCTQ ^{C3}	SJxSJQ ^{C4}
pH	6,66	6,59	6,61	6,68	6,59	0,027	0,753	0,534	0,585	0,783	0,288
N-NH ₃ (mg/dL)	25,04	22,08	19,79	25,38	24,02	1,355	0,497	0,434	0,139	0,522	0,703
Acetato (mmol/L)	43,17	52,95	50,90	49,00	51,67	2,087	0,606	0,146	0,735	0,757	0,687
Propionato (mmol/L)	10,19	12,87	11,36	11,40	11,93	0,571	0,711	0,271	0,753	0,436	0,796
Butirato (mmol/L)	6,44	7,28	6,98	6,91	7,87	0,418	0,860	0,452	0,779	0,816	0,479
Isovalerato (mmol/L)	0,90	1,13	1,18	0,93	1,31	0,114	0,332	0,186	0,831	0,826	0,106
Isobutirato (mmol/L)	0,56	0,72	0,79	0,57	0,74	0,051	0,341	0,178	0,323	0,595	0,229
Valerato (mmol/L)	0,51	0,65	0,61	0,56	0,63	0,041	0,555	0,174	0,662	0,685	0,422
AGCC total (mmol/L)	61,78	75,60	71,80	69,42	74,18	3,021	0,628	0,167	0,781	0,694	0,623
C2:C3	4,26	4,19	4,53	4,31	4,32	0,067	0,574	0,638	0,798	0,125	0,977
Metano g/dia	19,20	23,19	22,56	21,67	23,12	2,101	0,594	0,140	0,807	0,822	0,608

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana, SUPL= suplemento, OLE = cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana);

Contrastes ortogonais: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

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

Variável	Suplementos							p-valor			
	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ	EPM	SUPL	CONxOLE ^{C1}	CTxSJ ^{C2}	CTxCTQ ^{C1}	SJxSJQ ^{C1}
Ácido úrico (mmol/dia)	39,28	45,56	46,69	45,93	54,99	4,919	0,914	0,500	0,714	0,946	0,591
Alantoina (mmol/dia)	108,76	105,62	115,44	101,08	112,25	3,823	0,805	0,987	0,670	0,448	0,390
Purina totais (mmol/dia)	148,05	151,19	162,14	147,02	167,25	7,092	0,881	0,647	0,978	0,655	0,413
Purina abs (mmol/dia)	130,94	134,31	145,09	130,07	150,49	7,240	0,886	0,647	0,973	0,666	0,419
N-ureico sangue (mg/dL)	20,95	21,42	19,07	17,79	22,35	1,321	0,520	0,731	0,932	0,423	0,134
N-microbiano (g/dia)	95,20	97,65	105,49	94,56	109,41	5,263	0,886	0,647	0,973	0,666	0,419

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana, SUPL= suplemento, OLE = cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana).

Contrastes ortogonais: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

CAPÍTULO III

DIETAS COM GRÃOS DE OLEAGINOSAS E QUITOSANA SOBRE A BIOHIDROGENAÇÃO RUMINAL NA TERMINAÇÃO INTENSIVA DE NOVILHOS A PASTO

Dietas com grãos de oleaginosas e quitosana sobre a biohidrogenação ruminal na terminação intensiva de novilhos a pasto

N.G, Silva^a; R.H.T.B, Goes^a; R.T, Oliveira^a; L.E.F, Oliveira^a; C.C, Silva^a; T.M, Souza^a; L.R, Feitosa^a; T. Fernandes^c; J.R, Granda^b; R.J.B, Bessa^c; S.P, Alves^c

^a*Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Unidade II: Rodovia Dourados/Itahum, Km 12, Cidade Universitária, 79.804-970, Dourados - MS, Brasil.*

^b*Universidade Federal do Oeste do Pará, 68507-59, Marabá - PA, Brasil*

^c*CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 1300-47, Lisboa, Portugal.*

Autor correspondente: Nayara Gonçalves da Silva. E-mail: nayagsm@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do uso de grãos de oleaginosas associadas com quitosana no suplemento de novilhos a pasto, sobre a biohidrogenação ruminal (BH) e concentração fecal de ácidos graxos. Cinco novilhos mestiços com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais, foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Os animais foram mantidos em piquetes individuais em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), e suplementados diariamente na proporção de 2% do peso corporal (PC). Os tratamentos experimentais foram: Suplemento proteico/energético a base de farelo de soja como controle (CON); Suplemento a base de cártamo grão (CT); CT com adição

de quitosana (CTQ); Suplemento a base de soja grão (SJ) e SJ com adição de quitosana (SJQ). A quitosana foi adicionada diretamente no rúmen dos animais na dosagem de 900 mg/kg de MS. Os valores de t9c11-18:2 ($P = 0,048$) e CLA dimetilester ($P = 0,001$) caracterizaram menores concentrações para os animais suplementados com oleaginosas (CONxOLE). Analisando CTxSJ, o ácido graxo c13-18:1 monoinsaturado cis, resultou em maior valor ($P = 0,029$) com adição do grão soja. Os animais suplementados com grão cártamo (CTxSJ) apresentou maiores padrões de respostas para a concentração de todos os AGMI trans, com média de 2,294%. O ácido graxo t11,c15-18:2 apresentou valor superior e média de 0,022 para a adição de grão soja na dieta (CTxSJ). A inclusão da quitosana na dieta a base de cártamo, levou a uma menor concentração do t11-18:1 ($P = 0,070$). O ácido graxo t9c11-18:2 apresentou menor concentração ($P = 0,001$) com a inclusão da quitosana, na dieta a base de grão soja (SJxSJQ). O fornecimento de oleaginosas (CONxOLE), apresentou menores valores ($P < 0,001$) para C12:0; C14:0 e C16:0 e maior valor para C18:2w6 nas fezes. A inclusão de grão de cártamo (CTxSJ) obteve maior concentração ($P < 0,001$) de C12:0; C14:0 e C18:2w6 nas fezes. A inclusão de diferentes fontes oleaginosas promove maiores modificações na BH ruminal. O ácido graxo t11-18:1 foi mais expressivo na dieta com oleaginosas. A presença de grão cártamo obteve maiores concentrações de AGMI trans. A inclusão da soja promoveu maiores valores de t11,c15-18:2 e t9c11-18:2 no líquido ruminal. A excreção fecal de ácidos graxos saturados foi maior com inclusão de oleaginosas. O fornecimento de grão cártamo aumentou a excreção fecal de C12:0; C14:0; C18:2w6 e reduziu a de 18:0 nas fezes em comparação a grão soja.

Palavras-chave: aditivos naturais, ácidos graxos, grãos inteiros, metabolismo, pasto

1. INTRODUÇÃO

A suplementação lipídica nas dietas de ruminantes tem sido relatada como a maneira mais direta de modular o processo de BH do rúmen (Zubiria et al., 2019). Fontes oleaginosas aumentam a densidade energética em dietas para bovinos e é uma prática correlacionada com maior proporção de energia metabolizável disponível e consequente melhora no desempenho (Alba et al., 2021). Além disso, trabalhos têm sido realizados com a intenção de diminuir a BH de C18:1 t11 no rúmen, aumentando o conteúdo de CLA de produtos de ruminantes (Goiri et al., 2010), ou seja, melhorar o valor nutricional dos lipídios no leite e na carne (Ferlay e Chilliard, 2020).

No entanto, animais ruminantes são únicos quando se trata de digestão de ácidos graxos. Ao contrário dos monogástricos, o perfil desses ácidos ingeridos pelos ruminantes não é o mesmo que alcança o intestino para ser absorvido (Freitas Jr et al., 2018). A digestão que ocorre no ambiente ruminal, é classificada como fermentação pré-gástrica, sendo as bactérias, fungos e protozoários responsáveis por esse processo (Takenaka e Itabashi 1995). Os lipídeos fornecidos na dieta passam por uma etapa chamada lipólise, considerada fundamental para a liberação dos ácidos graxos no meio ruminal e ocorre por hidrólise das ligações éster (Doreau et al., 2012). Esta hidrólise é realizada majoritariamente pelas lipases bacterianas (Bauman et al., 2003). Após a liberação dos AG pela lipólise ruminal, os ácidos graxos insaturados sofrem hidrogenação pelos microrganismos do rúmen, convertendo os ácidos graxos insaturados da dieta principalmente em ácido esteárico (18:0) (Bessa et al., 2015). Os microrganismos são capazes de hidrogenar duplas ligações nas cadeias de carbono para reduzir os efeitos tóxicos dos ácidos graxos insaturados nas bactérias (Jenkins e Bridges 2007). Esse processo é denominado BH. Devido a BH há limitação da

quantidade de ácidos graxos poliinsaturados absorvidos pelos ruminantes (Oldick e Firkins, 2000).

Os tipos, forma e quantidade de lipídeos fornecidos aos animais influenciam na extensão da BH e podem afetar a quantidade dos produtos finais da fermentação (Ibrahim et al., 2021; Chikwanha et al., 2018). Fornecer grãos inteiros na dieta de bovinos é uma estratégia utilizada para minimizar os efeitos adversos das fontes oleaginosas (Gomez-Insuastl et al., 2018). O complexo proteico que envolve o cotilédone nas sementes protege seu conteúdo lipídico da BH enzimática (Doreau et al., 2016), ocorrendo uma lenta liberação dos lipídeos no ambiente ruminal (Rennó et al., 2015). Nesse contexto, a qualidade e o grau de gordura absorvida dependem da composição de ácidos graxos da dieta, quantidade e metabolismo (Harvatine e Allen, 2006). Rennó et al. (2015) observaram que é comum conter fragmentos ou até mesmo sementes inteiras nas fezes dos animais, quando é fornecida inteira. Podendo o grão inibir a BH, e também a absorção intestinal.

Além do fornecimento dos grãos inteiros, aditivos naturais como a quitosana pode ser incluída na dieta animal, com o intuito de manipular o ambiente ruminal e conseqüentemente favorecer rotas energéticas mais eficientes (Goiri et al., 2009). A atividade antimicrobiana da quitosana é considerada uma de suas propriedades mais interessantes (Matsushashi e Kume, 1997), levando à avaliação de seu uso na nutrição de ruminantes (Goiri et al., 2009). As suas propriedades têm um impacto positivo no desempenho da produção, digestibilidade alimentar, fermentação ruminal e população bacteriana (Matra et al., 2022). Os aditivos com espectros antimicrobianos Gram-negativos, como a quitosana (Helander et al., 2001), podem diminuir a lipólise e BH.

Caracterizar os efeitos da BH ruminal é importante para compreender os mecanismos que sustentam as respostas fisiológicas aos suplementos lipídicos e

aditivos naturais em ruminante. O objetivo deste trabalho foi identificar como a suplementação de diferentes fontes oleaginosas (soja ou cártamo), associado a adição da quitosana para novilhos a pasto, poderiam alterar a BH ruminal e concentração fecal de ácidos graxos dos suplementos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local, animais e tratamentos

O ensaio experimental de foi realizado no setor de Nutrição de Ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), entre os meses de abril a julho de 2019, durante o período seco do ano. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) e no Centro de Laboratórios de Pesquisa em Agroenergia e Conservação Ambiental (LAPAC/FINEP), pertencentes à Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD, localizada no município de Dourados - Mato Grosso do Sul e no Laboratório de Sistemas de Produção Animal (LSPA) pertencente ao CIISA, Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal. Cinco (5) novilhos mestiços com 18 meses de idade, com peso médio de 300 kg, providos de cânulas ruminais, foram distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Cada período experimental foi de 23 dias, sendo quatorze dias para adaptação e nove dias para coleta de dados.

Os animais foram mantidos em piquetes individuais em pastagem de *Urochloa brizantha*, cv. Marandu (*Syn Brachiaria*), de aproximadamente 0,2 hectares providos de cocho e bebedouro. A suplementação foi balanceada de acordo com recomendações do NRC (2016) (Tabela 1). O suplemento foi fornecido diariamente no período da manhã (08:00 horas) na proporção de 2% do peso corporal (PC) dos animais. No primeiro dia de cada período experimental os novilhos foram pesados e

o fornecimento de suplemento ajustado. Os tratamentos experimentais foram: Suplemento proteico/energético a base de farelo de soja como controle (CON); Suplemento a base de cártamo grão (CT); CT com adição de quitosana (CTQ); Suplemento a base de soja grão (SJ) e SJ com adição de quitosana (SJQ).

A quitosana foi adicionada diretamente no rúmen dos animais na dosagem de 900 mg/Kg de MS de acordo com Dias et al (2017). A quitosana foi fornecida pela empresa Polymar®, Fortaleza, Brasil (≥ 850 g/kg de grau de desacetilação, 0,32 g/mL de densidade, pH 7,90, viscosidade < 200 cPs, cinza total 1,35 g/100g e perda na secagem 9,3 g/100g).

2.2. Composição bromatológica da dieta

A avaliação da composição bromatológica da forragem foi realizada no primeiro dia de cada período experimental. Dez pontos aleatórios do piquete foram amostrados por meio do corte rente ao solo com auxílio de um quadrado metálico (0.25 m²). Uma amostra foi retirada e seca sob ventilação forçada (60°C), processada em moinho de facas (1 mm) e composta por piquete, para posteriores análises da composição química.

Amostras dos suplementos e forragem obtida por corte rente ao solo, foram avaliados quanto à matéria seca (MS; método 934.01), proteína bruta (PB) obtida pela determinação de N total usando a técnica de micro Kjeldahl (método 920.87, N x 6,25), extrato etéreo (EE, método 920.39), matéria mineral ou cinza (MM/CZ; método 924,05; AOAC, 1990), matéria orgânica (100 cinzas). O conteúdo de fibra em detergente ácido (FDA) foi determinado em um analisador de fibra (TE – 149 fiber analyzer, Tecnal Equipment for Laboratory Inc., Piracicaba, Brasil) usando alfa-amilase e sem sulfeto de sódio, conforme descrito por Van Soest e Robertson (1999). A análise do teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi realizada utilizando sulfeto de sódio, 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): $\%NDT = 83,79 - 0,4171*FDN$.

2.3. Ácidos graxos da dieta, líquido ruminal e fezes

No 20º dia, de cada período experimental foram coletadas manualmente amostras do conteúdo ruminal para determinação dos ácidos graxos de cadeia média e longa, imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento do suplemento. Amostras de líquido foram coletadas utilizando uma camada tripla de gaze para filtrar o líquido. Para determinação dos ácidos graxos de cadeia média e longa foi separada uma alíquota de 40 mL do líquido ruminal, as amostras foram liofilizadas por 52 h com um programa de 5 etapas (-35°C por 60 min, -10°C por 120 min, 0°C por 480 min, 3°C por 1.250 min, 30°C por 1.250 min; Virtis 3.5 L XL, The Virtis Co.), e armazenadas para posterior análise.

Para determinação dos ácidos graxos de cadeia média e longa, ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) de amostras da dieta e líquido ruminal foram preparados por transesterificação com metóxido de sódio (0,5 M) em metanol seguido pela adição de cloreto de hidrogênio (1,25 M) em metanol (Alves et al., 2013). FAME foi analisado por cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama (GC-FID) usando um Shimadzu GC 2010-Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm, espessura de filme de 0,20 µm, Supelco, Bellefonte, PA). As condições cromatográficas para dieta (Tabela 3) e líquido ruminal foram as seguintes: as temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 220°C; hélio foi usado como gás de arraste em fluxo constante de 1 mL/min. Para dieta, a temperatura inicial do forno de 50°C foi mantida por 1 min, aumentada a 50°C/min até 150°C e mantida por 20 min, aumentada a 1°C/min até 190°C e após

aumentada a 2°C/min até 220°C e mantida por 30 min. Para o líquido ruminal utilizou-se o mesmo processo, mudando apenas o tempo de corrida final, aumentada a 2°C/min até 220°C e mantida por 40 min.

A identificação do FAME foi obtida por comparação dos tempos de retenção do FAME com os dos padrões (FAME mix 37 components da Supelco Inc., Bellefont, PA, EUA) e por espectrometria de massa usando um GC-MS Shimadzu 2010-Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão). A integração dos picos foi realizada usando o software GCsolution Versão 2.41.00 (Shimadzu, 2000-2011). Fatores de correção de resposta FID relativos teóricos para FAME foram usados para corrigir áreas de pico, de acordo com Ackman (2002).

As amostras fecais (200g) foram coletadas, a partir do 15° dia até o 19° dia de cada período, diretamente no reto 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, obtendo-se uma amostra de cada piquete por período, posteriormente as fezes foram liofilizadas, como descrito acima.

O perfil de ácidos graxos das fezes (Tabela 5) foi determinado de acordo com as recomendações de Folch et al. (1957). Os lipídios foram extraídos das amostras usando uma mistura de clorofórmio-metanol (2:1, v/v). A transesterificação dos ácidos triglicéridos foi realizada usando uma solução de n-heptano e KOH/metanol. O material gorduroso (200 mg) foi transferido para um tubo de ensaio de 10 mL, ao qual foram adicionados 2,0 mL de n-heptano. O material foi agitado até a completa solubilização da matéria graxa. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de KOH 2 mol/L em metanol e a solução foi agitada por 5 min.

As análises de ácidos graxos foram realizadas por cromatografia gasosa utilizando cromatógrafo gasoso detector de ionização de chama. Uma coluna capilar de sílica fundida de 100 m x 0,25 mm x 0,20 µm foi utilizada para a eluição. A temperatura do forno foi programada da seguinte forma: temperatura inicial de 100°C, mantida por 1 min, aumentada para 170°C a 6,5°C min⁻¹. Posteriormente, houve nova elevação de 170 para 215°C a 2,7°C min⁻¹ e mantida por 30 min. Houve um aumento de 215 para 230°C a 4°C min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram de 270 e 280°C, respectivamente. Amostras de 0,5 µL foram injetadas no modo split usando nitrogênio como gás de arraste a uma velocidade de deriva de 1 mL min⁻¹. Os picos cromatográficos de ácidos graxos foram identificados por comparação com o tempo de retenção usando uma mistura de padrões Sigma (St Louis, MO, EUA), e o ácido nonadecanóico (19:0) foi usado como padrão interno. A quantificação de ácidos graxos foi realizada por meio de fatores de correção para áreas de pico e cálculos baseados em padrões internos, e os resultados foram expressos em mg/g de tecido.

2.4. Cálculos e análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC 2009), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE. Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + e_{ijk}$; onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito da dieta ($k = 1$ to 5), e e_{ijk} = erro.

Para se avaliar os efeitos da fonte de oleaginosa e da quitosana, as médias foram aplicadas com contrastes ortogonais conforme apresentado: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com

CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

Os dados obtidos de fermentação ruminal foram analisados pelo comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, de acordo com a 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 = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 5), D_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 5), T_k = efeito do tempo (1 a 5), $T_y(D_k)$ = interação entre dieta e tempo e e_{ijk} = erro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial pelo comando PROC MIXED, adotando-se nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Biohidrogenação ruminal

A dieta a base de oleaginosas (CONxOLE), proporcionou maiores concentrações de $i16:0$ e $t11-18:1$, com respectivas médias de 0,234 e 1,139%. Os valores de $t9c11-18:2$ ($P = 0,048$) e CLA dimetilester ($P = 0,001$) caracterizaram menores concentrações para os animais suplementados com oleaginosas (CONxOLE) (Tabela 4).

Na comparação entre grão de cártamo e soja (CTxSJ), a adição de cártamo apresentou maior concentração de $22:0$ ($P = 0.059$) e $15:0$ no líquido ruminal ($P = 0.050$). Os ácidos graxos de cadeia ramificada, $i14:0$, $i16:0$ e $i18:0$, apontaram maiores concentrações com o fornecimento de grão cártamo (CTxSJ), apresentando médias de 0,141, 0,260 e 0,040% (Tabela 4).

Analisando CTxSJ, o ácido graxo $c13-18:1$ monoinsaturado cis, resultou em maior valor ($P = 0,029$) com adição do grão soja. Os animais suplementados com grão cártamo (CTxSJ) apresentou maiores padrões de respostas para a concentração de

todos os AGMI trans, com média de 2,294%. O ácido graxo t11,c15-18:2 e CLA dimetilester apresentaram valores superiores e respectivas médias de 0,022 e 0,173 para a adição de grão soja na dieta (CTxSJ) (Tabela 4).

Os ácidos graxos saturados 16:0, 18:0, i16:0 e i18:0, apresentaram menores valores ($P = 0.059$; $P = 0.085$; 0.003 e 0.078) com a presença da quitosana na dieta (CTxCTQ). Observamos uma menor concentração do t11-18:1, na dieta grão cártamo (CTxCTQ) com inclusão da quitosana ($P = 0.070$) (Tabela 4).

A adição de quitosana nas dietas a base de grão soja (SJxSJQ), apontou maior valor ($P = 0.077$), para o ácido 13:0. Os ácidos graxos i15:0 e t9c11-18:2 apresentaram respectivamente menores concentrações ($P = 0.049$; $P = 0.001$) com a inclusão da quitosana, na dieta a base de grão soja (SJxSJQ) (Tabela 4).

3.2. Concentração fecal de ácidos graxos

O fornecimento de oleaginosas (CONTxOLE), apresentou menores valores ($P < 0.001$) na concentração fecal dos ácidos C12:0; C14:0 e C16:0 e maior valor para C18:2w6. A inclusão de grão de cártamo (CTxSJ) levou a uma maior concentração ($P < 0.001$) de C12:0; C14:0 e C18:2w6 e menor de 18:0 nas fezes (Tabela 5).

4. DISCUSSÃO

Os óleos alimentares sofrem BH no rúmen como um processo de autodefesa dos microrganismos ruminais, convertendo ácidos graxos insaturados em saturados. Os diferentes graus de insaturação dos suplementos lipídicos explicam seus efeitos na BH (Hervás et al., 2022). A dieta a base de oleaginosas apresentou maiores concentrações de t11-18:1 no líquido ruminal. Lóor et al. (2004), sugerem que a BH é mais ativa em dietas com baixo concentrado, pois há menor proporção de precursores da BH e uma maior proporção de intermediários da BH, principalmente trans C18:1, no rúmen. Colocando como conclusão de que as alterações nas vias de BH em dietas

com maior proporção de concentrado são mais dependentes do teor de amido das dietas e do meio ruminal. Em dietas com maior quantidade de fibra, o principal intermediário da BH é t11-18:1, mas quando uma dieta rica em amido é fornecida, o principal intermediário de BH torna-se t10-18:1 (Bessa et al., 2005).

O fluxo de t11-18:1 é desejável, pois atua como substrato para a D9-dessaturase, resultando na formação do ácido linoleico conjugado cis-9, trans-11 (CLA) (Griinari et al., 1998). Quando o ácido linoleico é biohidrogenado, pode ser considerada respostas satisfatórias, pois são empregados no produto final, como carne e leite, e conferem efeitos benéficos à saúde, incluindo atividades anticarcinogênicas (Dewhurst et al., 2006). No atual estudo, o fornecimento de oleaginosas apresentou menores valores na excreção fecal de ácidos graxos saturados como o C12:0, C14:0 e C16:0, podendo estar relacionado com a absorção desses ácidos no intestino.

O ácido graxo c13-18:1 monoinsaturado cis apresentou maiores valores para grão soja quando comparado ao grão cártamo. Dietas contendo baixas concentrações desse ácido graxo e do C18:3 são mais submetidas ao processo de BH (Barletta et al., 2016), sugerindo nesta pesquisa, que dietas com soja e quitosana, podem ter inibido a BH ruminal. Existe também a hipótese que oleaginosas associadas a quitosana, podem interferir na BH (Goiri et al., 2010). As razões para um aumento em AGMI cis, não são claros, mas umas das hipóteses é que a quitosana pode estar interagindo com ácidos graxos livres carregados negativamente (Jumaa e Müller, 1999), impedindo o processo de biohidrogenação e/ou pode estar afetando o crescimento de certas populações microbianas in vitro (Goiri et al., 2009).

A presença de grão cártamo em relação a soja na dieta, apresentou maiores valores para ácidos graxos de cadeia ramificada e maiores padrões de respostas para

a concentração de todos os AGMI trans. Na composição do perfil de ácidos graxos da dieta, o cártamo apresentou 75,15% de C18:2n-6. Sob condições ruminais normais, 18:2n-6 é principalmente isomerizado a cis - 9, trans - 11 CLA, que é posteriormente hidrogenado a t11-18:1 e finalmente a 18:0 (Dewanckele et al., 2020). No entanto, os resultados pode ser um indicativo que a presença do grão cártamo inibiu a BH, apontando maiores concentrações de monoinsaturados trans. Além disso, o cártamo apresentou menor excreção fecal de 18:0. Menores valores de C18:0 nas fezes de animais suplementados podem estar associados a uma redução na etapa final da biohidrogenação de trans 18:1 para 18:0 (Ferlay e Chilliard, 2020; Shingfield et al., 2010). A BH de 18:2n-6, 18:3n-3 e cis - 9 18:1 pode resultar na formação de vários outros intermediários secundários de ácidos graxos, como trans -9, trans -11 CLA, trans - 10 18:1 e cis -12 18:1 (Dewanckele et al., 2020). A BH é extensa, resultando em 18:0 sendo o principal AG deixando o rúmen (Shingfield e Wallace, 2014).

A redução de ácidos graxos insaturados com 18 carbonos para 18:0 no rúmen é incompleta e numerosos intermediários 18:1, 18:2 e 18:3 se acumulam (Dewanckele et al., 2020). Segundo Souza e Ribeiro. (2021), as bactérias fibrolíticas butirogênicas (*B. fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, *R. flavifaciens* etc.), são extremamente eficientes em hidrogenar os poliinsaturados livres no rúmen, tendo como principal produto intermediário o ácido rumênico (cis-9, trans-11 CLA), e como produto final o ácido vacênico (t11-18:1). Na comparação entre cártamo e soja, a concentração do ácido poliinsaturado t11,c15-18:2 foi maior para soja. Assim, quando ocorre uma BH incompleta dos ácidos graxos polinsaturados, ocorre um aumento do fluxo duodenal dos ácidos graxos C18:1 trans e dos ácidos linoleicos conjugados CLA cis-9, trans-11 e CLA trans-10, cis-1 (Bauman e Griinari, 2001).

Na dieta a base de grão cártamo alguns ácidos saturados como o 18:0 apresentaram menores valores com a adição da quitosana. Na BH o segundo passo é a conversão do cis/trans 18:1 para o ácido esteárico, que aumenta rapidamente após altos níveis de cis/trans 18:1 se acumular e pode exigir sinergismo de microrganismos ruminais (Polan et al., 1964, Souza e Ribeiro, 2021). A presença da quitosana em alguns trabalhos reduziu a concentração de C18:0 no líquido ruminal, podendo ser um indicativo de extensa biohidrogenação de ácidos graxos insaturados por bactérias ruminais (Fellner et al., 1997; Goiri et al., 2010). As principais bactérias Gram-positivas, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* e *Eubacterium* sp., envolvidas na BH tem capacidade de hidrogenar ácido linoleico a ácido oleico, mas não a ácido esteárico e apenas *Fusocillus* sp. e bactérias Gram-negativas anônimas demonstraram hidrogenar oleato em estearato (Harfoot e Hazlewood, 1988). Nesse sentido, foi relatado que a quitosana afeta não apenas o crescimento de bactérias Gram-positivas, mas também Gram-negativas (Helander et al., 2001), que podem estar envolvidas na lipólise ou na etapa final da formação do ácido esteárico. De acordo com Ferreira et al., 2019, valores maiores de 18:0 e redução de ácidos graxos poliinsaturados nas dietas com óleos vegetais, estão relacionados com aumento ineficiente no consumo de lipídios para inibir a BH ruminal.

O ácido graxo t11-18:1 também apresentou menores concentrações com a inclusão de quitosana, na dieta a base de grão cártamo. Pesquisas relataram que alguns fatores podem ser prejudiciais a biohidrogenação ruminal de ácidos graxos, e, portanto, afetaram a concentração de C18:1 t11 produzida no rúmen. Foram eles: uso de antimicrobianos, perfil de ácido graxo insaturado do alimento e pH ruminal. (Van Nevel e Demeyer, 1996; Bessa et al., 2000). Alguns trabalhos evidenciam que o tipo, forma e quantidade de lipídios fornecidos na dieta, podem afetar a extensão

biohidrogenação ruminal e o perfil de ácidos graxos (Ponnampalam et al. 2015; Alves et al. 2017; Chikwanha et al. 2018).

Óleos de soja, girassol, cártamo e caroço de algodão são ricos em ácidos linoleicos (Dubois et al. 2007; Shingfield et al. 2013). As fontes de oleaginosas fornecidas neste trabalho na forma de grãos, demonstraram um maior perfil de ácido linoleico (C18:2n-6), especialmente grão cártamo na sua composição. Oleaginosas processadas foram mais eficazes em aumentar as concentrações de poliinsaturados total em cordeiro do que sementes cruas. No entanto, foi ressaltado que sementes inteiras oferecem maior grau de proteção contra a biohidrogenação, devido a porção tegumentar da semente, limitando o acesso das bactérias ao óleo presente, podendo escapar da digestão (Noci et al., 2011).

5. CONCLUSÃO

A inclusão de diferentes fontes oleaginosas promove maiores modificações na biohidrogenação ruminal. O ácido vacênico foi mais expressivo na dieta com oleaginosas. O presente estudo indica que o cártamo promove aumento na concentração de graxos monoinsaturados no líquido ruminal. O fornecimento do grão de soja obteve respostas expressivas na biohidrogenação de alguns poliinsaturados no líquido ruminal. A inclusão dos grãos de cártamo e soja apresentou maior excreção fecal de ácidos graxos saturados. No entanto o cártamo apresentou maior excreção fecal para a maioria dos ácidos graxos saturados.

Aprovação de Ética

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).

ORCID dos Autores

(N. G. Silva) <http://orcid.org/0000-0003-4195-2465>

(R. H. T. B. Goes) <http://orcid.org/0000-0002-4744-0367>

(J. R. Gandra) <http://orcid.org/0000-0002-3287-8737>

(R. T. Oliveira) <http://orcid.org/0000-0003-1079-1574>

Contribuições dos autores

Nayara Gonçalves Silva: Conceituação, Validação, Investigação, Redação, Visualização, Redação - Rascunho Original, Redação - Revisão e Edição, Administração do projeto. **Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes:** Conceituação, Metodologia, Validação, Análise formal, Redação - Revisão e Edição, Supervisão. **Raquel Tenório Oliveira:** Investigação. **Letícia Emanuelle Fetter de Oliveira:** Investigação. **Calebe Corcino Silva:** Investigação. **Thalison Marques de Souza:** Investigação. **Lavinia Rodrigues Feitosa:** Investigação. **Jefferson Rodrigues Gandra:** Programas, Análise Formal, Curadoria de dados. **Tatiane Fernandes:** Análise formal, Redação - Revisão **Rui Jose Branquinho Bessa:** Investigação **Susana Paula Alves:** Investigação

Declaração de interesse

Nenhum.

Reconhecimentos

Os autores também agradecem à Universidade Federal da Grande Dourados e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

Declaração de apoio financeiro

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

6. REFERÊNCIAS

- Ackman, R.G., 2002. The gas chromatograph in practical analyses of common and uncommon fatty acids for the 21st century. **Anal. Chim. Acta.** 465:175-192. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00098-3)
- Alba, H.D.R., Freitas Júnior, J.E.d., Leite, L.C., Azevêdo, J.A.G., Santos, S.A., Pina, D.S., Cirne, L.G.A., Rodrigues, C.S., Silva, W.P., Lima, V.G.O., et al., 2021. Protected or Unprotected Fat Addition for Feedlot Lambs: Feeding Behavior, Carcass Traits, and Meat Quality. **Animals** 11, 328. <https://doi.org/10.3390/ani11020328>
- Alves, S.P., Francisco, A., Costa, M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2017. Biohydrogenation patterns in digestive contents and plasma of lambs fed increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. **Animal Feed Science and Technology** 225, 157-172.
- Alves, S.P., Santos-Silva, J., Cabrita, A.R., Fonseca, A.J., Bessa, R.J., 2013. Detailed dimethylacetal and fatty acid composition of rumen content from lambs fed lucerne or concentrate supplemented with soybean oil. **PLoS ONE** 3, e58386.
- Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 1990. Official methods of analysis, volume 2, 15th edition. AOAC International, Arlington, VA, USA.
- Barletta, R.V., Gandra, J.R., Bettero, V.P., Araujo, C.E., Del Valle, T.A., Almeida, G.F., Ferreira de Jesus, E., Mingoti, R.D., Benevento, B.C., Freitas Junior, J.E., Rennó, F.P., 2016. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology** 219, 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.011>
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low fat milk syndrome. **Livest. Prod. Sci** 70,15-29.
- Bauman D.E., Griinari J.M. 2003 Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Ann Rev Nutr** 23, 203–227.
- Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J.M.R., Portugal, A.V., 2000. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livest. Prod. Sci** 63, 201-211. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00117-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00117-7)
- Bessa, R.J.B., P.V. Portugal, I.A. Mendes, and J. Santos-Silva., 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. **Livest. Prod. Sci** 96, 185-194. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.01.017>
- Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Santos-Silva, J., 2015. Constrains and potentials of the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. **Eur. J. Lipid Sci. Technol** 117, 1325-1344. doi:10.1002/ejlt.201400468

Capelle, E.R., Valadares Filho, S.C., Silva, J.F.C, Cecon, P.R., 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>

Chikwanha, O.C., Vahmani, P., Muchenje, V., Dugan, M.E.R., Mapiye, C., 2018. Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. **Food Research International** 104, 25-38. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.005>

Dewanckele, L., Toral, P.G., Vlaeminck, B., Fievez, V., 2020. Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. **Journal of dairy science** 103, 7655-7681.

Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., Scollan, N.D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Anim. Feed Sci. Technol** 131 68-206.

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. **Journal Animal Feed Science and Technology** 225, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015>

Doreau, M., Fievez, V., Troegeler-Meynadier, A., Glasser, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant: le point des connaissances récentes. **Prod. Anim** 25, 361-373.

Doreau, M., Meynadier, A., Fievez, V., Ferlay, A., 2016. Ruminal metabolism of fatty acids: Modulation of polyunsaturated, conjugated, and trans fatty acids in meat and milk. R. R. Watson and F. Meester, ed. Handbook of Lipids in Humane Function. AOCS Press, San Diego, CA.

Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M., 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science and Technology** 109, 710-732.

Fellner, V., Sauer, F.D., Kramer, J.K.G., 1997. Effect of nigericin, monensin and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. **J. Dairy Sci** 80, 921–928.

Ferlay, A., Chilliard, Y., 2020. Effect of linseed, sunflower, or fish oil added to hay-, or corn silage-based diets on milk fat yield and trans-C18: 1 and conjugated linoleic fatty acid content in bovine milk fat. **Livestock Science** 235, 104005.

Ferreira, A.V.P., Cominotte, A., Ladeira, M.M., Casagrande, D.R., Teixeira, P.D., Van Cleef, E., Ezequiel, J., Castagnino, P., Machado Neto, O.R, 2019. Feedlot diets with soybean oil, selenium and vitamin E alters rumen metabolism and fatty acids content in steers. **Journal Animal Feed Science and Technology** 260, 114362. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114362>

Folch, J., Lees, M., Stanley G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Biol Chem** 226 497-509. doi:10.1016/s00219258(18)64849-5

Freitas Jr. J.E., Takiya, C.S., Del Valle, T.A., Barletta, R.V., Venturelli, T.H.A., Vendramini, B.C., Mingoti, R.D., Calomeni, G.D., Gardinal, R., Gandra, J.R., Bettero, V.P., Ferreira de Jesus, E., Oliveira, M.D.S., Rennó F.P., 2018. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. *J. Dairy Sci* 101, 7881-7891. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13666>

Goiri, I., Rodriguez, A.G., Oregui, L.M., 2009. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **Journal Animal Feed Science and Technology** 148, 276-287. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007>

Goiri, I., Oregui, L.M., Garcia-Rodriguez, A., 2010. Use of chitosan to modulate ruminal fermentation of 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Animal Science** 88, 749-755. [10.2527/jas.2009-2377](https://doi.org/10.2527/jas.2009-2377)

Gomez-Insuasti, A.S., Granja-Salcedo, Y.T., Castagnino, P.S., Vieira, B.R., Malhieros, E.B., Berchielli, T.T., 2014. The effect of lipid sources on intake, rumen fermentation parameters and microbial protein synthesis in Nellore steers supplemented with glycerol. **Animal Production Science** 54, 1871-1876. <https://doi.org/10.1071/AN14394>.

Griinari, J.M., D.A. Dwyer, M.A. McGuire, D.E. Bauman, D.L. Palmquist, and K.V. Nurmela., 1998. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci** 81, 1251-1261. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75686-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75686-3)

Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1988. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson, P.N. (Ed.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. Elsevier Appl. Sci., London, UK, 285–322

Harvatine, K.J., Allen, M.S., 2006. Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 89 1092-1103.

Helander, I.M., Nurmiäho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S., 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. **Int. J. Food Microbiol** 71, 235–244. Doi: 10.1016/s0168-1605(01)00609-2.

Hervás. G., Boussalia, Y., Labbouz, Y., Della Badia, A., Toral P.G., Frutos, P, 2022. Insect oils and chitosan in sheep feeding: Effects on in vitro ruminal biohydrogenation and fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 285, 115222. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115222>

Ibrahim. N.A., Alimon, A.R., Yaakub, H., Samsudin, A.A., Candyrine, S.C.L., Mohamed, W.N.A., Noh, A.M., Fuat, M.A., Mookiah, S., 2021. Effects of vegetable oil supplementation on rumen fermentation and microbial population in ruminant: a review. *Tropical Animal Health and Production* 53, 422. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02863-4>

Jenkins, T.C., Bridges W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *Europe Journal Lipid Science technology* 109, 778-789. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700022>.

Jumaa, M., Müller, B.W., 1999. Physicochemical properties of chitosan–lipid emulsions and their stability during the autoclaving process. **Int. J. Pharm** 183, 175-184.

Loor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., Doreau, M., 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. **J. Dairy Sci** 87, 2472–2485.

Matra, M., Wanapat, M., 2022. Role of Chitin and Chitosan in Ruminant Diets and Their Impact on Digestibility, Microbiota and Performance of Ruminants. **Fermentation** 8, 549. <https://doi.org/10.3390/fermentation810054>

Matsushashi, S., Kume, T., 1997. Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. **Journal Science Food Agricultural** 73, 237–241. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199702\)73:2<237::AID-JSFA711>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199702)73:2<237::AID-JSFA711>3.0.CO;2-4)

Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles. Collaborative study. **Journal of AOAC International** 85, 1212-1240.

National Research Council (NRC), 2016. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th edition. National Academy of Science, Washington, DC, USA.

Noci, F., Monahan, F.J., Moloney, A.P., 2011. The fatty acid profile of muscle and adipose tissue of lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. **Animal** 5, 134-147.

Oldick, B.S., and J.L., Firkins. 2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. **J. Anim Sci** 78, 2412–2420.

Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim Sci* 81, 3250-3264.

Polan, C.E., McNeill, J.J., & Tove, S. B., 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *Journal of Bacteriology*, 88(4), 1056-1064. Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press.

Ponnampalam, E.N., Lewandowski, P.A., Fahri, F.T., Burnett, V. F., Dunshea, F.R., Plozza, T., Jacobs, J.L., 2015. Forms of n-3 (ALA, C18: 3n-3 or DHA, C22: 6n-3) fatty acids affect carcass yield, blood lipids, muscle n-3 fatty acids and liver gene expression in lambs. **Lipids** 50, 1133-1143.

Rennó, F.P., Cônsolo, N.R.B., Barletta, R.V., Ventureli, B., Gardinal, R., Takiya, C.S., Gandra, J.R., Pereira, A.S.C., 2015. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. **Archivos de Zootecnia** 64, 332.

Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y., 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. **Animal** 4, 1140-1166.

Shingfield, K. J., M. Bonnet, and N. D. Scollan., 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. **Animal** 7, 132-162.

Shingfield, K.J., Wallace, R.J., 2014. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. B. Sels, A. Philippaerts (Eds.), *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1-65.

Souza, J.G., Ribeiro, C.V.D.M., 2021. Ruminant biohydrogenation and main impact on the fatty acid profile: a review. **Research, Society and Development** 10, 13. doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21039>

Takenaka, A. and Itabashi, H., 1995. Changes in the population of some functional groups of rumen bacteria including methanogenic bacteria by changing the rumen ciliates in calves. **Journal of General and Applied Microbiology** 41, 377-387

Van Nevel, C., Demeyer, D.I., 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. **Reprod. Nutr. Dev** 36, 53–65

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., 1999. Analysis of forages and fibrous foods. A Laboratory Manual, Cornell University, Ithaca, NY.

Zubiria, I., Garcia-Rodriguez, A., Atxaerandio, R., Ruiz, R., Benhissi, H., Mandaluniz, N., Lavín, J.V., Abecia, L., Goiri, I., 2019. Effect of Feeding Cold-Pressed Sunflower Cake on Ruminant Fermentation, Lipid Metabolism and Bacterial Community in Dairy Cows. **Animals** 9, 755. doi:10.3390/ani9100755

Tabela 1. Ingredientes e composição química dos suplementos fornecidos aos animais.

Ingrediente (%)	CON	CT	SJ
Milho	86,16	73,38	81,50
Soja grão	-	-	10,03
Cártamo grão	-	13,82	-
Farelo de Soja	5,06	5,0	-
Ureia protegida	3,8	3,8	3,8
*Mistura mineral	4,97	4,67	4,0
Composição			
MS (% da MS)	88,98	77,13	80,24
PB (% da MS)	21,44	21,48	22,82
FDN (% da MS)	17,02	23,92	17,19
EE (% da MS)	1,35	4,75	3,07
NDT ((% da MS)	80,69	77,81	80,62

CON = controle, CT = cártamo e SJ = soja. *Níveis de garantia: fósforo: 40,00g; cálcio: 199,50g; enxofre: 10,00g; sódio: 125,00g; zinco: 2.260,00 mg; cobre: 619,50mg; cobalto: 22,00mg; 42,00mg; selênio: 14,00mg; flúor: 400mg. MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, EE = extrato etéreo, NDT = nutrientes digestíveis totais.

Tabela 2. Composição bromatológica do pasto *Urochola brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha* cv Marandu.

Disponibilidade do pasto	Média
MO %	93,83
PB %	5,80
FDN %	81,60
FDA %	44,47
*NDT%	53,75
NDT:PB	9,26

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

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos dos ingredientes componentes da dieta de novilhos suplementados a pasto.

(%) do total de AG	CT	SJ	Farelo Soja	Milho	Braquiária Marandu
C12:0	0,02	0,06	0,04	0,30	0,97
C14:0	0,11	0,09	0,05	0,33	1,04
C16:0	5,90	11,70	17,31	16,49	24,79
C17:0	0,04	0,10	0,15	0,26	0,67
C18:0	3,42	5,72	7,47	12,33	9,66
C18:1c9	13,27	22,72	19,15	26,10	9,53
C18:1c11	0,56	0,99	1,26	0,85	0,70
C18:2n-6	75,15	51,53	48,34	39,14	15,05
C20:0	0,35	0,48	0,33	0,50	1,68
C18:3n-3	0,10	5,56	5,16	2,10	22,84
C22:0	0,85	0,61	0,38	0,51	2,10
C23:0	0,01	0,07	0,02	0,54	0,94
C24:0	0,18	0,31	0,33	0,49	9,96
Saturados	10,90	19,18	26,06	31,78	51,86
Monoinsaturados-cis	13,84	23,71	20,42	26,96	10,23
Poliinsaturados	75,25	57,10	53,51	41,24	37,89

AG = Ácidos graxos, CT = cártamo e SJ = soja.

Tabela 4. Efeito dos grãos de oleaginosas, associados com quitosana na concentração dos ácidos graxos no líquido ruminal de novilhos.

Variável	Suplementos							p-valor			
	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ	EPM	SUPL	CONxOLEO ^{C1}	CTxSJ ^{C2}	CTxCTQ ^{C3}	SJxSJQ ^{C4}
Ácidos graxos saturados (AGS) do total de AG (%)											
Total AGS	39.816	51.500	40.437	51.256	44.453	2.205	0.174	0.152	0.390	0.083	0.459
AGS cadeia curta e média											
12:0	0.137	0.148	0.147	0.145	0.126	0.004	0.524	0.628	0.123	0.929	0.439
14:0	0.456	0.507	0.487	0.478	0.446	0.013	0.609	0.908	0.121	0.646	0.817
16:0	8.298	9.070	7.198	8.943	7.937	0.328	0.305	0.293	0.981	0.059	0.709
AGS de cadeia longa											
18:0	29.213	39.729	30.843	39.705	34.090	1.816	0.124	0.125	0.313	0.085	0.336
20:0	0.354	0.430	0.341	0.429	0.377	0.017	0.299	0.206	0.598	0.095	0.657
22:0	0.180	0.270	0.227	0.253	0.229	0.010	0.075	0.310	0.059	0.197	0.134
24:0	0.296	0.349	0.290	0.323	0.318	0.014	0.708	0.774	0.701	0.198	0.632
26:0	0.098	0.116	0.090	0.115	0.108	0.006	0.575	0.414	0.997	0.167	0.588
28:0	0.115	0.128	0.099	0.119	0.134	0.007	0.568	0.983	0.477	0.193	0.390
AGS de cadeia ímpar											
13:0	0.024	0.025	0.028	0.023	0.030	0.001	0.298	0.250	0.874	0.506	0.077
15:0	0.379	0.447	0.434	0.422	0.401	0.007	0.346	0.802	0.050	0.723	0.544
17:0	0.198	0.222	0.213	0.235	0.198	0.007	0.471	0.158	0.243	0.690	0.992
23:0	0.048	0.054	0.047	0.057	0.056	0.002	0.517	0.348	0.758	0.334	0.250
Ácidos graxos cadeia ramificada (AGCR) iso e antiso (%)											
Total BCFA	1.305	1.458	1.518	1.372	1.255	0.038	0.126	0.895	0.010	0.594	0.659
i14:0	0.122	0.144	0.138	0.132	0.130	0.003	0.256	0.874	0.039	0.538	0.452

<i>i</i> 15:0	0.254	0.283	0.283	0.275	0.300	0.007	0.391	0.801	0.746	0.999	0.049
<i>a</i> 15:0	0.496	0.503	0.570	0.516	0.489	0.014	0.344	0.965	0.182	0.127	0.889
<i>i</i> 16:0	0.220	0.295	0.226	0.206	0.211	0.009	0.001	0.085	0.007	0.003	0.691
<i>i</i> 17:0	0.083	0.077	0.077	0.067	0.067	0.003	0.350	0.221	0.813	0.982	0.091
<i>a</i> 17:0	0.177	0.177	0.183	0.166	0.152	0.006	0.346	0.624	0.184	0.680	0.124
<i>i</i> 18:0	0.030	0.046	0.034	0.041	0.032	0.002	0.107	0.325	0.060	0.078	0.830
Monoinsaturados <i>cis</i> (%)											
<i>Total cis-AGMI</i>	2.591	2.713	2.356	2.524	2.444	0.081	0.639	0.992	0.920	0.145	0.542
<i>c</i> 9-18:1	2.280	2.391	2.058	2.224	2.144	0.074	0.616	0.975	0.934	0.135	0.536
<i>c</i> 11-18:1	0.191	0.188	0.175	0.185	0.168	0.005	0.554	0.725	0.863	0.421	0.137
<i>c</i> 12-18:1	0.060	0.068	0.071	0.059	0.064	0.002	0.532	0.276	0.192	0.767	0.686
<i>c</i> 13-18:1	0.020	0.014	0.007	0.010	0.020	0.002	0.103	0.244	0.029	0.208	0.895
<i>c</i> 15-18:1	0.009	0.010	0.008	0.011	0.012	0.001	0.303	0.662	0.333	0.316	0.096
<i>c</i> 16-18:1	0.021	0.030	0.023	0.024	0.023	0.001	0.432	0.901	0.189	0.174	0.664
Monoinsaturados <i>trans</i> (%)											
<i>Total trans-AGMI</i>	1.788	2.521	2.067	1.807	1.812	0.092	0.039	0.269	0.011	0.101	0.930
<i>t</i> 6,7,8-18:1	0.110	0.156	0.128	0.118	0.108	0.010	0.042	0.597	0.007	0.107	0.880
<i>t</i> 9-18:1	0.066	0.095	0.082	0.070	0.069	0.004	0.123	0.403	0.018	0.321	0.829
<i>t</i> 10-18:1	0.175	0.232	0.199	0.183	0.172	0.008	0.098	0.566	0.017	0.178	0.884
<i>t</i> 11-18:1	1.019	1.455	1.163	0.925	1.015	0.055	0.012	0.012	0.011	0.070	0.981
<i>t</i> 12-18:1	0.116	0.159	0.135	0.130	0.113	0.006	0.129	0.996	0.018	0.215	0.870
<i>t</i> 15-18:1	0.120	0.168	0.144	0.149	0.130	0.007	0.212	0.628	0.042	0.274	0.653
Poliinsaturados											
<i>Total AGPI</i>	0.964	1.038	0.924	1.014	1.048	0.034	0.676	0.790	0.711	0.245	0.386

<i>t</i> 16,c14-18:2	0.179	0.252	0.210	0.229	0.201	0.010	0.172	0.465	0.062	0.177	0.472
<i>t</i> 11,c15-18:2	0.024	0.018	0.014	0.021	0.024	0.001	0.013	0.826	0.001	0.242	0.947
<i>t</i> 9c11-18:2	0.209	0.160	0.125	0.094	0.093	0.013	0.003	0.048	0.717	0.294	0.001
18:3 n-3	0.112	0.108	0.113	0.129	0.124	0.004	0.384	0.135	0.399	0.684	0.301
Outros											
c-16:1	0.007	0.008	0.009	0.007	0.009	0.006	0.592	0.393	0.973	0.364	0.266
oxo-18:0	0.002	0.003	0.003	0.001	0.002	0.002	0.374	0.073	0.338	0.921	0.773
CLA dimetilester	0.175	0.140	0.139	0.191	0.155	0.005	0.001	0.001	0.010	0.940	0.146

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana, SUPL= suplemento, OLE = cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana);

Contrastes ortogonais: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.

Tabela 5. Concentração fecal de ácidos graxos do suplemento proteico/energético fornecido aos novilhos de acordo com as dietas experimentais.

Variável	Suplementos							p-valor			
	CON	CT	CTQ	SJ	SJQ	EPM	SUPL	CONxOLE ^{C1}	CTxSJ ^{C2}	CTxCTQ ^{C3}	SJxSJQ ^{C4}
EE (%)	5,65	6,24	4,31	6,54	5,58	1,44	0,536	0,135	0,907	0,670	0,486
C12:0 (%)	2,07	2,10	2,17	1,32	1,34	0,081	<,001	<,001	<,001	0,294	0,719
C14:0 (%)	10,27	2,67	2,72	1,49	1,51	0,677	<,001	<,001	<,001	0,706	0,864
C16:0 (%)	45,66	5,41	5,36	24,57	24,31	3,055	<,001	<,001	<,001	0,893	0,453
C18:0 (%)	34,11	47,54	48,07	65,15	66,85	2,456	<,001	<,001	<,001	0,278	0,143
C18:1 (%)	5,05	4,69	4,72	5,59	5,27	0,099	0,0136	0,936	0,001	0,895	0,215
C18:2w6 (%)	1,59	37,59	36,89	1,49	1,35	3,586	<,001	<,001	<,001	0,156	0,769
C18:3w3 (%)	-	-	-	0,37	0,33	0,026	-	-	-	-	-

CON = controle, CT = cártamo, CTQ = cártamo e quitosana, SJ = soja, SJQ = soja e quitosana, SUPL= suplemento, OLE = cártamo; cártamo e quitosana; soja; soja e quitosana), EE = extrato etéreo.

Contrastes ortogonais: C1 = suplemento controle x suplemento com oleaginosas (CT; CTQ, SJ, SJQ), C2 = suplemento com CT x suplemento com SJ; C3 = suplemento com CT x suplemento com CT e Q; e C4 = suplemento com SJ x suplemento com SJ e Q.