



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

**AVALIAÇÃO DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE  
CAJU E QUITOSANA COMO ADITIVO PARA RUMINANTES**

ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA

Dourados – MS

2017



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

**AVALIAÇÃO DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU E  
QUITOSANA COMO ADITIVO PARA RUMINANTES**

ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA  
ZOOTECNISTA

Orientador: Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes  
Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA. Área de Concentração: Produção animal

Dourados – MS

2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

V657a Vieira, Elis Regina De Queiroz

Avaliação do líquido da casca da castanha de caju e quitosana como aditivos para ruminantes / Elis Regina De Queiroz Vieira -- Dourados: UFGD, 2017.  
41f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias,  
Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Nutrição de ruminantes. 2. Aditivo natural. 3. Dietas de alto concentrado.  
4. Digestibilidade. 5. Parâmetros ruminais. I. 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.

**AVALIAÇÃO DO LIQUIDO DA CASTANHA DE CAJU E DA QUITOSANA  
COMO ADITIVOS PARA RUMINANTES**

por

**ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA**

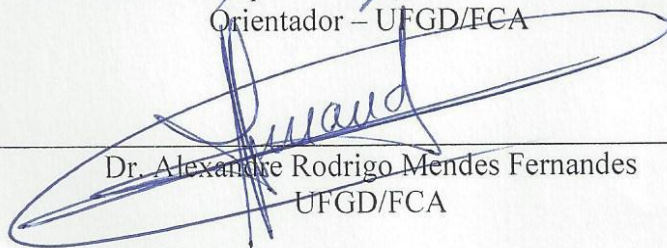
Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título  
de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovada em: 20/02/2017



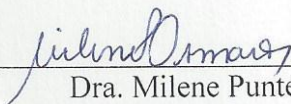
---

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



---

Dr. Alexandre Rodrigo Mendes Fernandes  
UFGD/FCA



---

Dra. Milene Puntel Osmari  
UEM-PNPD/DZO

Tudo posso naquele que me fortalece (Filipenses 4.13)

“Se as cidades forem destruídas e os campos forem conservados,  
as cidades ressurgirão, mas se queimarem os campos e  
conservarem as cidades, estas não sobreviverão.”

(Benjamin Franklin)

## **BIOGRAFIA**

ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA, filha de Edivan Dias Vieira e Aila de Queiroz Vieira, nasceu 23 de novembro de 1990, na cidade de Porangatu-Go.

Em fevereiro de 2009 ingressou no curso de Zootecnia pela Faculdade Federal do Tocantins na cidade de Araguaína - TO. Desenvolveu atividades no Programa Bolsa Permanência, na modalidade acadêmica (2009-2011). Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) na modalidade ITI- Iniciação Tecnológica e Industrial (2011-2012).

Em março de 2015, iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD - MS), na área de concentração Produção Animal, submetendo-se à defesa da dissertação em 20 de fevereiro de 2017.

## DEDICATÓRIA

À Deus,  
Aos meus pais (Edivan Dias Vieira e Aila de Queiroz Vieira),  
Aos meus irmãos (Klebio de Queiroz Vieira e Klebiana de Queiroz Vieira) e  
Aos meus mestres,  
DEDICO...

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus por tudo que vivi durante esta trajetória de vida, pela graça, pelo amor, pela minha profissão e pelas minhas realizações diárias.

Agradeço a Faculdade Federal da Grande Dourados (UFGD) por abrirem as portas para mim e proporcionar a realização deste sonho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Agradeço imensamente do fundo do meu coração ao meu pai, Edivan Dias Vieira, à minha mãe, Aila de Queiroz Vieira, pela educação, amor e por abdicarem seus tempos e projetos pessoais para que eu estivesse a oportunidade de estudar e ter uma boa formação profissional. A vocês o meu eterno amor e minha eterna gratidão.

Agradeço ao meu irmão, Klebio de Queiroz Vieira, à minha irmã, Klebiana de Queiroz Vieira, aos meus sobrinhos, Henrique Vieira Barbosa, Anna Júlia Dias Vieira e Enzo Henrique Guimarães Vieira, bem como os demais familiares por todo o apoio, carinho e palavras de incentivo durante o período que estive fora. Muito obrigada!

Agradeço ao Adnilson Franklin, pelas palavras de carinho, companheirismo, amizade, por estar presente em todos os momentos e ajudar quando eu mais precisei. Obrigada por dividir comigo as minhas angústias, ansiedades, alegrias, tristezas. A você minha eterna gratidão.

Agradeço à Dona Cleide, pelas orações, carinho, amizade, por ter me acolhido tão bem desde o primeiro dia em que a vi. Muito obrigada!

Agradeço ao meu orientador professor Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes pela oportunidade, pela confiança, atenção, ensinamento, discussões acadêmicas, pela disponibilidade em auxiliar todas as vezes que eu precisei. Só tenho agradecer a sua pessoa e ao seu profissionalismo. Ao senhor a minha eterna gratidão.

Aos professores da Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pelos ensinamentos, orientações, amizade e por não medirem esforços ao passar seus conhecimentos. Muito obrigada!

Aos professores Dr. Leonardo de Oliveira Seno (Coordenador do curso) e professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra por toda colaboração, dedicação e auxílio durante a tabulação e análise estatística dos dados.



A professora Dra. Cláudia da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) pela ajuda nas análises bioquímicas.

Aos professores Dr. Alexandre Rodrigo M. Fernandes e Dra. Milene Puntel Osmari por comporem a minha banca e enriquecerem meu trabalho com suas valiosas contribuições.

Aos professores Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo (UFMS) e Dr. Eduardo Leal (UFMS) por contribuírem nas análises de produção de gás. Muito obrigada aos senhores!

Ao professor Dr. Antônio Ferriani Branco (UEM) por fornecer o líquido da casca castanha de caju utilizado nos experimentos.

Agradeço a todos os amigos e alunos participantes do grupode pesquisa NERU, em especial ao Charles Jhonathan, Raquel Tenório, Amanna Jacaúna, Luíz Henrique pela amizade, dedicação e por colaborarem com a minha pesquisa. Muito obrigada!

Aos meus colegas do mestrado, pela amizade e pelos momentos que passamos juntos, em especial, a Laura Ferreira. Sou grata a você e sua família pela amizade e por me acolherem nos primeiros meses de faculdade. Vocês foram de grande valia para mim. Levarei para a vida toda.

Agradeço todos os técnicos do laboratório de solos, laboratório de plantas medicinais e laboratório de nutrição animal, em especial Giza Gressler, Phaena Moraes e Suzana Heim, pela amizade, por toda dedicação e atenção durante a realização das análises.

A todos os funcionários da UFGD, em especial ao Ronaldo por toda paciência, atenção, carisma. Obrigada pela colaboração, pelo trabalho prestado e por me auxiliar todas as vezes que precisei. Grata!

Aos amigos que construí durante este período deixo aqui os meus agradecimentos.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização desde trabalho, deixo aqui os meus Agradecimentos.

**MUITO OBRIGADA!**

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS.....	x
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I.....	3
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	3
1.1 Introdução.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Aditivos alimentares parabovinos.....	5
2.2 Líquido da casca castanha de caju e sua utilização na nutrição animal.....	7
2.3 Uso da Quitosana na alimentação de ruminantes.....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo geral.....	17
3.2 Objetivos específicos.....	17
CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU ASSOCIADO COM QUITOSANA, SOBRE A DIGESTÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i> E FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE VOLUMOSO:CONCENTRADO.....	18
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1.1 Local.....	21
2.1.2 Animais e instalações.....	21
2.1.3 Tratamentos e composição dos alimentos.....	21
2.1.4 Determinação da digestibilidade <i>in vitro</i> da MO, MS, PB, FDN, FDA e HCEL (ensaio1).....	23
2.1.5 Determinação do pH, amônia e ácidos graxos de cadeia curta (ensaio 2) .....	24
2.1.7 Determinação da Produção total de gás e os parâmetros da cinética da fermentação ruminal (ensaio 3) .....	25
3. RESULTADOS.....	28

4. DISCUSSÃO.....	34
5. CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Composição química das dietas experimentais.....	22
Tabela 2	Coeficiente de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) das diferentes dietas experimentais.....	29
Tabela 3	Coeficiente de digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DIVFDN), digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente ácido (DIVFDA) e digestibilidade <i>in vitro</i> da hemicelulose das diferentes dietas experimentais.....	30
Tabela 4	Efeito dos aditivos e das diferentes relações volumoso :concentrado sobre os parâmetros de pH e concentrações de NH.....	31
Tabela 5	Concentrações de acetato, proprionato e butirato (mmol/100ml) no líquido ruminal de bovinos com diferentes relações volumoso concentrado com a inclusão de aditivos.....	32
Tabela 6	Parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com diferentes dietas experimentais.....	33

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 1 Principais constituintes do LCCC.....	11
Figura 2 Estimativas de concentrações de amônia (N-NH <sub>3</sub> mg/dl) do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta.....	38

**LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS**

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
CONT	Controle positivo (Monensina)
DHCEL	Digestibilidade <i>in vitro</i> da hemicelulose
DIVFDA	Digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente ácido
DIVFDN	Digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro
DIVMO	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DIVPB	Digestibilidade <i>in vitro</i> da proteína bruta
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
LCCC	Líquido da casca da castanha de caju técnico
LCCCQ	Líquido da casca da castanha de caju associado com Quitosana
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
QUI	Quitosana
V:C	Volumoso com concentrado

## RESUMO

### LIQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU ASSOCIADO À QUITOSANA COMO ADITIVO PARA RUMINANTES

VIEIRA, Elis Regina de Queiroz, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, fevereiro de 2017. **Avaliação *in vitro* da associação do líquido da casca da castanha de caju e quitosana como aditivo para ruminantes.** Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

Objetivou-se avaliar o efeito isolado ou a associação do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) e da quitosana como aditivos naturais moduladores da fermentação ruminal de bovinos. Foi coletado, via cânula, líquido ruminal de dois bovinos mestiços de aptidão leiteira, adultos, machos castrados, com peso médio de 350kg  $\pm$ , distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado. A dieta formulada foi composta de feno de Tifton 85 (*Cynodon spp*), representando a fração volumosa e milho (49,72%), farelo de soja (40,05%) e suplemento mineral (10,23%) como concentrado, sendo fornecidas nas seguintes relações volumoso:concentrado (V:C): 20:80; 35:65; 50:50; 65:35 e 100:00. Os aditivos foram adicionados nas proporções: 500mg/kg de MS de LCCC; 500 mg/kg de MS de quitosana; 200 mg/kg de MS de monensina (controle positivo) e associação entre quitosana e o LCCC(500 + 500 mg/kg de MS, respectivamente), distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado. Foram avaliados a digestibilidade *in vitro* da MO, MS, PB, FDN, FDA e DHCEL. Observou-se efeito linear das relações V:C sobre DIVMO e DIVMS e efeito quadrático sobre DIVPB. Foi verificado efeito do aditivo e da relação V:C para DIVMO; DIVMS e DIVPB. Foi observada interação entre relação V:C e o aditivo sobre a DIVFDN, DIVFDA e DHCEL. Foram realizadas coletas do líquido ruminal *in vitro* em intervalos de 2 horas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 ha pós a incubação (“hora 0”) para análise de pH e nitrogênio amoniacal e, nos tempos 0,2,4,8 de AGCCC. A inclusão dos aditivos naturais manteve o pH acima de 6,0 e a concentração de amônia mínima de 10,67 mg/dL, respectivamente. Foi verificada interação entre a relação V:C e o aditivo sobre a concentração da produção de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico. A relação C2:C3 foi maior com a inclusão do antibiótico monensina. Foi avaliada a acinética da produção de gases para os parâmetros A (produção de gás da fração rápida/mL gás/g), parâmetro B (taxa de produção da fração A/h<sup>-1</sup>), parâmetro C (lag time/horas), parâmetro D (produção de gás da fração lenta/mL gás/g), parâmetro E (taxa de produção da fração D/h<sup>-1</sup>) e produção cumulativa de gases (A+D). Foi verificado efeito significativo dos aditivos no parâmetro C; da relação V:C para os parâmetros A, C, D e A+D; e interação significativa dos fatores principais relação V:C e aditivo no parâmetro A+D. A inclusão do líquido da casca da castanha de caju e quitosana como aditivos moduladores da fermentação do líquido do ruminal apresentaram resultados positivos possibilitando a sua utilização como alternativa ao uso dos antibióticos ionóforo na alimentação de ruminantes. No entanto, a inclusão do líquido da casca da castanha de caju associado com a quitosana não proporcionaram efeito satisfatórios sobre a digestibilidade dos nutrientes. A redução na digestibilidade pode estar relacionado a quantidade da dose e/ou a atividade de inibição destes compostos. Desta forma, é necessário que novos estudos sejam realizados para identificar a dose ótima da associação destes dois aditivos na alimentação de bovinos.

**Palavras-Chave:** ácidos graxos de cadeia curta, fermentação ruminal, digestibilidade *in vitro*, parâmetros ruminais, produção de gás.

## CASHEW NUT SHELL LIQUID ASSOCIATED WITH CHITOSAN AS AN ADDITIVE FOR RUMINANTS

VIEIRA, Elis Regina de Queiroz, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, fevereiro de 2017. In vitro evaluation of the association of cashew nut liquid and chitosan as additive for ruminants. Adviser: Rafael Henrique de Tonissi and Buschinelli de Goes ; Co-adviser: Jefferson Rodrigues Gandra.

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the isolated effect or the association of cashew nut liquid (CNSL) and chitosan as natural additives modulators of bovine ruminal fermentation. Ruminal fluid was collected from two lactating dairy cows, adults, castrated males, with a mean weight of 350 kg  $\pm$ , distributed in a completely randomized design. The formulated diet was composed of Tifton 85 hay (*Cynodon* spp), representing the forage fraction and maize (49.72%), soybean meal (40.05%) and mineral supplement (10.23%) as concentrate. Supplied in the following relation forage: concentrated (V: C): 20:80; 35:65; 50:50; 65:35 and 100: 00. The additives were added in the proportions: 500 mg/kg CNSL DM; 500 mg/kg of chitosan DM; 200 mg monensin kg/DM (positive control) and association between chitosan and CNSL (500 + 500 mg/kg DM, respectively), randomly distributed in a completely randomized design. The in vitro digestibility of the OM, DM, CP, NDF, ADF and DHCEL were evaluated. The linear effect of the relations forage:Concentrated hips on IVDMD and IVDMD and quadratic effect on IVDF was observed. The effect of the additive and the F: C was verified for IVDMD; IVDOM and IVDCP. Interaction between V: C and the additive on IVDNDF, IVDADF and DHCEL was observed. In vitro samples were collected at intervals of 2 hours at 0, 2, 4, 6, 8 and 10 h after incubation ("hour 0") for analysis of pH and ammoniacal nitrogen and at 0.2 times , 4.8 of AGCCC. The inclusion of the natural additives maintained the pH above 6.0 and the minimum ammonium concentration of 10.67 mg/dL, respectively. The interaction between the V: C ratio and the additive on the concentration of the production of acetic acid, propionic acid and butyric acid was verified. The C2: C3 ratio was higher with the inclusion of the monensin antibiotic. The gas production kinetics were evaluated for parameters A (fast gas / g / g gas production), parameter B (rate of production of the fraction A / h-1), parameter C (lag time / hours), (D / h-1 fraction) and cumulative gas production (A + D), parameter D (gas production of the slow fraction / mL gas / g). Significant effect of the additives was verified in parameter C; Of the relation V: C for the parameters A, C, D and A + D; And significant interaction of the main factors V: C and additive in the parameter A + D. The inclusion of cashew nut liquid and chitosan as additive modulators of ruminal liquid fermentation showed positive results allowing its use as an alternative to the use of ionophore antibiotics in ruminant feed. However, the inclusion of cashew nut liquid associated with chitosan did not provide satisfactory effects on nutrient digestibility. The reduction in digestibility may be related to the amount of the dose and / or the inhibitory activity of these compounds. Therefore, it is necessary that further studies be performed to identify the optimum dose of the association of these two additives in bovine feed.

**Key words:** gas production, in vitro digestibility, ruminal fermentation, ruminal parameters, short chain fatty acids.



## CAPÍTULO 1

### CONSIDERAÇÕES INICIAIS

#### 1.1 INTRODUÇÃO

As dietas de ruminantes com alto teor de concentrado são frequentemente utilizadas por produtores como forma de maximizar o desempenho produtivo dos bovinos. No entanto, essas dietas podem afetar a fermentação ruminal ao reduzir o pH do rúmen, diminuindo a digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes o que pode proporcionar distúrbios metabólicos graves como acidose ruminal. Desta forma, para melhorar os padrões da fermentação ruminal e garantir a saúde do animal, surge à necessidade do uso de aditivos na alimentação de bovinos.

A inclusão dos aditivos na alimentação de bovinos parece ter efeito satisfatório sobre o ambiente ruminal, demonstrando que a sua utilização na dieta destes animais melhora os padrões da fermentação ruminal, aumenta a digestibilidade e o aproveitamento dos nutrientes reduzindo os custos com alimentação, já que os animais conseguem aproveitar de forma mais eficiente o alimento consumido.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2004) define os aditivos ou promotores de crescimento como substâncias, microrganismos ou produtos formulados, que contém ou não valor nutritivo, que são adicionados na alimentação animal para melhorar o aproveitamento do alimento, desempenho dos animais sadios e atender as necessidades nutricionais.

Quando os ionóforos são adicionados em dietas de bovinos, promovem alterações na população de microrganismos ruminais, reduzindo as perdas energéticas, através do excesso de formação do gás de metano (MORAIS et al., 2011), pois selecionam as bactérias Gram-negativas que são produtoras de proprionato e inibem o crescimento das bactérias Gram-positivas que são responsáveis pela produção de metano e ácido lático, produtos indesejáveis na fermentação ruminal (RUSSELL & STROBEL, 1989; SHINKAI et al., 2012).

Embora a monensina sódica e a lasalocida sódica tenham apresentado efeitos satisfatórios na alimentação de ruminantes como aditivos moduladores da fermentação do rúmen, o aparecimento de bactérias resistentes e a toxicidade destes antibióticos tem sido evitados por alguns países da União Europeia por causar prejuízos à saúde humana (GUSTAFSON & BOWEN, 1997).

Neste contexto, os produtos naturais como extratos vegetais, em especial os óleos funcionais, surgem como alternativas para substituição dos antibióticos ionóforos, visto que melhoram o metabolismo microbiano, aumentam as concentrações de propionato no rúmen e podem melhorar a digestibilidade total da dieta (VAN SOEST, 1991; MAIA et al., 2006; HESS et al., 2008).

Dentre os óleos estudados, o líquido da casca de castanha de caju (LCCC) não tóxico, extraído a partir do processamento da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L) é considerado como fonte natural de lipídios fenólicos, por possuir ácido anacárdico, cardol e cardanol, os quais apresentam comprovadas atividades antimicrobianas e antioxidantes, o que tem incentivado os nutricionistas estudar o LCCC como possível aditivo na dieta de ruminantes (BENCHAAR et al., 2008; BURT, 2004).

A quitosana (N-acetil-D polímero glucosamina) também é um produto natural, derivada da desacetilação da quitina que é o principal componente do exoesqueleto de insetos e crustáceos que podem ser utilizados como substituto dos aditivos químicos ou antibióticos. O nome "quitosana" não significa um único produto, mas sim uma família de produtos, diferenciando entre si pelo peso molecular e grau de acetilação (TERBOJEVICH et al., 1993). Ela pode ser utilizada como modulador da fermentação ruminal e no processo digestivo por ser atóxica e biodegradável (GOIRI et al., 2009), e por possuir propriedade antimicrobiana vem sendo muito utilizada pela medicina, indústrias de alimento e cosméticos (JEON et al., 2002).

Desta forma, o objetivo da pesquisa foi avaliar *in vitro* a digestibilidade de nutrientes, o comportamento de parâmetros metabólicos (pH, N-NH<sub>3</sub> e AGCC do líquido ruminal) e a cinética da produção de gases de dietas para ruminantes contendo líquido da casca da castanha de caju e/ou quitosana.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aditivos alimentares para bovinos

A produção do líquido da casca da castanha de caju (LCCC), tem demonstrado ser economicamente viável na indústria do agronegócio brasileiro, por ser uma fonte renovável, biodegradável, por promover o desenvolvimento sustentável e apresentar um elevado percentual de cardanol resultante do processo industrial do LCCC (MAZZETTO & LOMONACO, 2009).

O aumento dos custos com alimentação de bovinos tem estimulado os produtores a buscar estratégias que possam melhorar a digestibilidade e o aproveitamento dos nutrientes, sem que este afete o valor nutritivo dos alimentos. O fornecimento de aditivos na dieta surge como alternativa por atuar como modulador da fermentação ruminal, promover uma melhor eficiência de utilização do alimento e proporcionar maiores retornos econômicos.

Os aditivos quando acrescentados a dieta de alto concentrado na alimentação de bovinos, podem manipular o ambiente ruminal, melhorando a conversão alimentar dos animais e prevenindo distúrbios metabólicos como acidose ruminal e laminite (MORRIS et al., 1990; OWENS et al., 1991). Os aditivos interferem na multiplicação das bactérias Gram-positivas e intensificam a atividade das bactérias Gram-negativas. As bactérias Gram negativa possuem uma camada lipídica que contém a purina (canais de proteína) o que a torna mais resistente que as bactérias Gram positiva. Desta forma, quando o aditivo entra em contato com as bactérias Gram positivas, iniciam um processo de translocação de íons provocando um rompimento da membrana (NAGAJARA et al., 1997). As bactérias Gram negativas são responsáveis pelo aumento da produção de propionato ruminal e pela redução na produção de metano, que é o principal responsável pelas perdas de energia pelo animal, ao contrário, as bactérias Gram positivas favorecem a produção de metano e a queda do pH ruminal (RUSSEL&STROBEL, 1989).

Segundo a normativa nº13, de 30 de novembro de 2004, os aditivos são substâncias ou microrganismos, adicionados à alimentação animal e tem por finalidade melhorar o aproveitamento da dieta consumida, sem afetar as características do alimento, podendo conter ou não valor nutritivo. De acordo com a categoria, os aditivos podem ser classificados como aditivos tecnológicos (substâncias adicionada na alimentação animal com fins tecnológicos), aditivos sensoriais (substâncias utilizadas para manter ou melhorar o sabor, odor ou até mesmo a cor do produto), aditivos nutricionais (substâncias utilizadas para manter ou melhorar o valor nutritivo dos alimentos), aditivos zootécnicos (qualquer substância utilizada para

melhorar o desempenho dos animais) e anticoccidiano (toda substância utilizada para eliminar ou inibir protozoários)(MAPA, 2004).

Os principais aditivos utilizados na alimentação de bovinos são: antibióticos ionóforo,probióticos e prebióticos,extratos vegetais de plantas (taninos, saponinas, óleos essenciais, óleos funcionais) entre outros.

Os antibióticos iónóforos são produtos químicos que tem como finalidade aumentar o ganho de peso dos animais, aumentar a eficiência alimentar, diminuir o tempo de abate, manter a qualidade do ambiente do trato digestório, além de prevenir agentes patogênicos e melhorar o desempenho dos animais sadios (GONZALES et al., 2012). Nesta classe, os mais conhecidos são a monensina sódica e lasalocida sódica, composto mais utilizado na nutrição animal como promotor de crescimento, sendo altamente lipofílico e tóxico a muitos microrganismos(HANEY & HOEHN, 1967). No entanto, em 1999, a União Europeia (UE) decidiu proibir, na ausência de dados científicos, a utilização de antióticos promotores de crescimento na alimentação animal como uma “forma de prevenção”, devido possível aparecimento de bactérias resistes responsáveis por prejudicar a saúde humana (IPHARRAGUERRE, 2003; LOYOLA &PAILE, 2006; BENCHAAAR et al., 2008).No entanto, o embargo começou somente em 2006.

Segundo Dicostanzo et al. (1996), a adição de ionóforo em dietas de bovinos de corte, apontam melhoria de 6% na conversão alimentar com resultado na redução do consumo de matéria seca sem afetar o ganho de peso diário.

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2004) os prebióticos são definidos como ingredientes que ao serem fornecidos na dieta não são digeridos por enzimas digestivas do hospedeiro, mas são hidrolisadas pelos microrganismos presentes no trato gastrointestinal (TGI). Os probióticos são aditivos alimentares a base de cultura de microrganismos vivos que ao serem adicionados a dieta favorecem o hospedeiro Alguns trabalhos apontam que estes microrganismos são capazes de colonizar o ambiente ruminal aumentando o aproveitamento do alimento, resultando em uma maior digestão e menor proliferação de agentes patogênicos.

Os probióticos e prebióticos são aditivos que quando adicionados a dieta favorecem o crescimento do número de células, tamanho dos vilos e absorção dos nutrientes pelo epitélio ruminal, tendem a inibir proliferação de bactérias patogênicas, responsável pela produção de compostos tóxicos que afetam o epitélio ruminal e, contribuem com o desenvolvimento de microrganismos benéficos no TGI (PELICANO et al., 2002). Os prebióticos podem melhorar a produtividade dos animais ruminantes 7% a 8%(WALLACE, 1994), e quando utilizados como aditivos prebióticos no leite podem auxiliar na prevenção de doenças provocadas por

agentes patógenos fúngicos, diminuindo o número de ovos de helmintos por grama de fezes produzida (BRUM, 2006).

Os aditivos naturais tais como os extratos de plantas, possuem substâncias lipofílicas, líquidas e voláteis e estão presentes nos variados tecidos dos vegetais onde conferem cor, odor e proteção contra predadores. Dentre os extratos de plantas estão os óleos funcionais que podem atuar sobre a atividade das bactérias, modificando o perfil de AGCC e reduzindo a produção de gás de metano e perdas metabólicas. Estes desempenham função antimicrobianas, antioxidantes, e até anti- inflamatórias. Os óleos essenciais possuem o papel antimicrobiana, antifúngica, inseticida, antiparasitária, antiprotozoários e antioxidante. Os óleos funcionais (OF) diferem dos óleos essenciais (OE). Todavia, Os são compostos lipofílicos e voláteis que contém o cheiro marcante da planta, são utilizados em perfumaria. Já os OE são lipofílicos não voláteis que possuem funções. Em conclusão, todos os OE são OF, mas nem todos os OF são OE (COWAN, 1999; BURT, 2004; TORRENT, 2012).

Segundo Segabinazzi (2008), os aditivos quando adicionados a dieta de ruminantes podem alterar a composição do ambiente ruminal, tornando mais eficaz e menos dispendioso energeticamente, pois melhoram a fermentação, potencializa a eficiência de produção e aproveitamento dos alimentos, além de prevenir certas doenças, como a acidose ruminal causada pelo elevado teor de concentrado na dieta.

Beauchemin & McGinn (2006) demonstraram que a utilização de óleo de canola (4,6% da MSI) em dietas com 75% volumoso para bovinos, possibilitou uma redução na produção de metano, associado à diminuição da ingestão da ração e menor digestibilidade da MS e fibra.

De forma geral, os aditivos oriundos de extratos de plantas, por serem naturais e não causarem danos à saúde humana tem sido cada vez mais estudado com a finalidade de substituírem os aditivos químicos, já que em alguns países, como a União Européia, estes são proibidos devido ao suposto aparecimento de bactérias resistentes responsáveis pela intoxicação dos seres humanos (MORAIS et al., 2006).

## **2.2 Líquido da casca da castanha de caju sua utilização na nutrição animal**

O líquido do pericarpo ou líquido da casca da castanha de caju, como é comumente conhecido, é extraído do mesocarpo esponjoso da castanha do caju. É um óleo funcional e um composto fenólico natural, considerado uma fonte melhor e mais barata de fenóis insaturados, por possuir na sua composição 10% cardol (dicarboxipentadeca-dienilbenzeno), 50% de cardanol e 30% de ácido anacárdico (carbopenta-dica dienilfenol) (Figura 1) os quais possuem na sua estrutura uma cadeia lateral acíclica, contendo até três insaturações a partir de C-8. Estas características fazem com que desempenhe

importante atividade antibactericida e, por possuir um grupo aromático e alifático, desempenha comportamento hidrofílico e lipofílico capaz de atravessar a membrana celular, principalmente das bactérias Gram-positivas, produtoras de metano, que são menos resistentes por não possuir uma camada lipídica que contém a porina (canais de proteína) presente nas bactérias Gram negativas (HIMEJIMA&KUBO, 1991; NAGAJARA et al., 1997; CORREIA et al., 2006; DÍAZ et al., 2015).

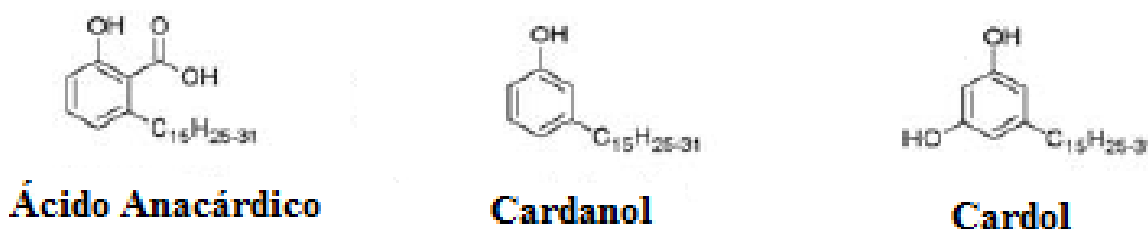


Figura 1 - Principais constituintes do LCCC.

Fonte: Adaptado de Mazzetto & Lomonaco (2009).

O processo de extração do LCCC proporciona a modificação do perfil de princípios ativos, diminuindo a concentração de ácido anacárdico, que é o que apresenta maior atividade antimicrobiana. No Brasil a maior proporção de LCCC produzido é o considerado LCCC técnico, pois passa por esse processo de extração e modificação, obtendo uma maior proporção de cardanol. O método se baseia no aquecimento da castanha (fruto) a uma temperatura de 140°C para retirada da umidade e CO<sub>2</sub>.

O líquido da casca da castanha de caju é considerado uma alternativa na alimentação dos ruminantes, pois age como aditivo, melhorando o metabolismo microbiano e favorecendo o aumento das concentrações de proprionato no rúmen e, a digestibilidade total da dieta (MAIA et al., 2006; HESS et al., 2008). Sua atividade permite que ocorra o rompimento dos lipídios da membrana celular das bactérias e mitocôndrias, desorganizando as estruturas, tornando mais permeável o ambiente celular. Nesse processo a célula passa a gastar energia para tentar resistir ao ataque, mecanismo chamado de hidrofobicidade, o que leva ao extravasamento de íons, a translocação de proteínas, a fosforilação e outras reações pelas enzimas dependentes, causando a morte da bactéria (AMORATI et al., 2001; BURT, 2004; MAZZETTO et al., 2009).

O líquido da casca da castanha de caju pode ser fornecido na dieta para bovinos tranquilamente por ser uma substância segura e que não causa nenhum dano à saúde humana sendo aprovada pela *Food and Drug Administration* (BAKKALI et al., 2008).

Watanabe et al. (2010) ao utilizarem 500 µg / mL do líquido da casca da castanha de caju em dietas contendo 30% de feno verificaram uma redução da produção de metano, acetato

e butirato, contudo, perceberam um aumento na concentração de propionato. Ao utilizarem a dose de 200 µg / mL do líquido da castanha de caju estes autores verificaram inibição da metanogênese, aumento de 44,4% na produção do propionato e redução de 70% na produção de metano.

Díaz et al. (2014) avaliando *in vitro* quatro níveis de LCCC (0; 0,3; 0,6 e 1,2 g/kg) e cinco níveis de concentrado (200, 400, 600, 800 e 1000 g/kg) sobre os parâmetros da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), a cinética da produção cumulativa de gases, e parâmetros da fermentação ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e pH *in vitro*, encontraram a dose ótima de 0,5 g/kg do LCCC. Neste nível, verificaram aumento DIVMS, favorecendo o melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, sem prejudicar a produção total de gás e os parâmetros cinéticos da fermentação ruminal. Quando avaliado o pH verificaram um aumento independentemente da dieta e concentração máxima de produção de amônia no líquido ruminal de 21,74 mg N-NH<sub>3</sub>/dL, favorecendo a atividade dos microrganismos ruminais

De acordo com Silva (2014), a adição do líquido da casca de caju associado com a mamona (OF) em dietas de bovinos Nelore confinados na dose de 400 mg/kg de MS, proporcionou aumento no consumo de matéria seca e redução do pH sanguíneo, por outro lado, apesar da queda do pH verificou que manteve-se superior ao tratamento com monensina (30 mg/kg de MS). Este autor ainda observou aumento na digestibilidade da MS e matéria orgânica com a adição da glicerina em associação com os óleos funcionais (líquido da casca da castanha de caju e mamona, 3 g animal dia<sup>-1</sup>) em substituição do milho na dieta de bovinos nelore em confinamento.

Coutinho et al. (2014) ao avaliarem o consumo e digestibilidade dos nutrientes da dieta, produção e composição de leite de vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo LCCC, verificaram que até de 7g diã<sup>-1</sup> não influenciou a consumo de MS e dos nutrientes, assim como, não foi verificado efeito para digestibilidade aparente, composição e a produção do leite corrigido para gordura, por outro lado, foi verificado diminuição linear da concentração de ácido caprótico e aumento do ácido palmítico.

Pimentel et al. (2012) avaliaram diferentes níveis da castanha de caju moída (0; 8; 16 e 24%) em dietas de vacas leiteiras sobre a fermentação ruminal e a concentração de purinas na urina, observaram concentração média de nitrogênio amoniacal de 12,70mg/100mL de líquido ruminal, e as concentrações de purinas e os parâmetros da fermentação ruminal não variaram com a adição da castanha de caju, demonstrando dessa forma potencial substituição dos ingredientes convencionais, como milho e farelo de soja nos concentrados para vacas leiteiras em lactação.

De acordo com Osmari (2013), a utilização do LCCC associado a fontes de nitrogênio não protéico na alimentação de bovinos pode ser considerada uma alternativa de aditivo alimentar capaz de controlar o pH ruminal, podendo evitar problemas metabólicos como acidose ruminal, mesmo sem alterar a digestibilidade dos nutrientes.

### **2.3 Uso da Quitosana na alimentação de ruminantes**

A quitosana é um composto solúvel com bioatividade, predominantemente por unidades 2-amino-2- desoxi-D-glicopiranosose (GlcN) unidas por ligações glicosídicas (1-4) (ROBERTS, 1992). É um polissacarídeo natural, não tóxico, renovável, biodegradável (HIRANO et al., 1990; KEAN & THANOU, 2010), obtido a partir da desacetilação da quitina do exoesqueleto de insetos e crustáceos, algas, parede celular de fungos entre outros.

Este polissacarídeo natural foi isolado pela primeira vez em 1811, pelo francês Henri Braconnot, extraída de fungos superiores e por isso denominada “fungina” (SKAUGRUD & SARGENT, 1990). Em 1823, essa substância recebeu o nome de “quitina”, composto insolúvel, derivada da palavra “chiton”, que quer dizer envelope ou cobertura. Em 1859, a partir da desacetilação da quitina em solução concentrada de hidróxido de potássio, resultou a formação da quitosana.

A quitosana vem apresentando funcionalidade nas aplicações tecnológicas nas indústrias farmacêuticas, alimentícios e cosméticos o que representa uma grande oportunidade para a comunidade científica e industrial (AJUN et al., 2009; LARANJEIRA & FÁVERE, 2009).

Em dietas para bovinos tem demonstrando eficiência sobre o ambiente ruminal durante a produção de leite ou carne (GOIRI et al., 2010; ARAÚJO, 2010; MINGOTI, 2013).

A quitosana quando fornecida na alimentação de bovinos pode modificar o ambiente ruminal, por possuir potencial antimicrobiano contra as bactérias, fungos e protozoários (KONG et al., 2010).

Jacaúna (2016) analisando os parâmetros de fermentação e digestibilidade *in vitro* ao utilizar quatro níveis de quitosana (0, 1625, 3500 e 7500 mg/kg de MS) e cinco relações de volumoso: concentrado (100:0, 65:35, 50:50, 35:65, 20:80) verificou aumento da digestibilidade da matéria seca para todas as dietas na dose 371 mg/L, associado a redução da digestibilidade *in vitro* da proteína. Por outro lado, com a dose máxima de 7500 mg/kg de MS de quitosana a DIVPB aumentou. Os valores de pH mantiveram acima de 6,2 favorecendo desta forma a atividade dos microrganismos ruminais. O mesmo autor analisando a cinética de fermentação pela técnica de produção de gases com cinco níveis de quitosana (0, 400, 800, 1200 e 1600 mg/kg MS) e seis relações volumoso:concentrado (100:0; 80:20;



65:35; 50:50; 35:65; 20:80) verificou que o aumento da quitosana na dieta proporcionou um aumento da produção de gás e redução no tempo de fermentação da dieta com alto concentrado, resultando em uma melhor eficiência da degradabilidade da dieta, confirmando desta forma que a quitosana tem alto potencial sobre dietas mais energéticas.

Segundo Mingoti et al.(2012), suplementando vacas leiteiras com doses crescente de quitosana, verificaram que até o nível de 150 mg/kg de peso corporal do aditivo na dieta, não houve influência no consumo de matéria seca e produção de leite, porém houve variação nas concentrações de uréia no leite.

De acordo com Goiri et al. (2009) utilizando seis diferentes tipos de quitosana “*in vitro*”, observaram que o grau de desacetilação >95% do composto, reduziu a produção de metano e aumentou a produção de proprionato em relação ao acetato. Estes mesmos autores avaliando a digestão e fermentação ruminal *in vitro* (DIVMO), com diferentes quantidades de volumoso com concentrado e variáveis doses de quitosana, não verificaram em dietas com alta proporção de forragem (80%),variação na concentração total de AGCC na proporção molar de acetato, mas observaram redução da digestibilidade da matéria orgânica *in vitro*(DIVMO), concentração de butirato e ácidos graxos de cadeia ramificada(AGCR).

Goiri et al. (2009) trabalhando *in vitro* verificaram que a quitosana influencia a fermentação microbiana ruminal e que a dose ótima depende da natureza do substrato e da especificação da quitosana utilizada durante a incubação. Estes autores verificaram que o aumento da dose de quitosana proporcionou aumento da concentração de proprionato, além de redução na relação C2:C3.

Goiri et al.(2010) utilizando quatro ovelhas não lactantes canuladas no rúmen, alimentadas com dietas compostas de 50% de feno de alfafa, com e sem quitosana, avaliando a quitosana como modulador da fermentação ruminal e cecal e a digestibilidade aparente das dietas, verificaram que a adição de quitosana não influenciou a proporção de acetato, porém apresentou aumento da proporção molar de proprionato e a redução da relação acetato e da concentração de N-NH<sub>3</sub> quando comparada a dieta controle (sem quitosana).

A quitosana quando adicionada a dieta de novilhos nelore aumentou a digestibilidade aparente da matéria secas (MS) total, proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN). Por outro lado, não influenciou o consumo de MS, quer seja em valor absoluto (kg/d) ou em relação ao peso corporal (g/100g de peso vivo). Quanto aos parâmetros fermentativos com a adição de níveis crescentes de quitosana na dieta de novilhos nelore, não foi verificado efeito significativo quanto aos valores de pH, no entanto, a inclusão causou efeito quadrático quanto a quantidade de NH<sub>3</sub> no fluido ruminal, apresentado valores superior ao nível de 50 mg/kg de peso corporal de quitosana (ARAÚJO et al.,2015).

A adição de QUI aumentou progressivamente a concentração total de AGV 8 horas após o fornecimento em dieta de novilhos, todavia, proporcionou maiores concentrações de lactato, L-lactato total e proporção molar de acetato 2 h após a alimentação. No entanto, as proporções de propionato e butirato tiveram menores proporções. A produção de metano diminuiu com a inclusão de quitosana na dieta. Para emissões de metano a dose eficaz foi de 1 g L<sup>-1</sup> de quitosana e para propionato, butirato e fermentação da matéria orgânica a dose ótima foi de 2 g L<sup>-1</sup> (BELANCHE et al., 2015).

Paiva et al. (2016) avaliando os efeitos do fornecimento de níveis crescentes de quitosana na digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, parâmetros sanguíneos, a utilização do nitrogênio, síntese de proteína microbiana e produção e composição do leite de vacas leiteiras em lactação, verificaram que a adição de quitosana não afetou a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo e fibra em detergente neutro, porém, aumentou linearmente a digestibilidade da proteína bruta, apresentando maiores valores em vacas suplementadas com 150 e 225 mg/kg PV da quitosana. Estes mesmos autores, não verificaram modificação no pH ruminal, concentrações de NH<sub>3</sub>, concentrações total de AGV, acetato, isobutirato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJUN, W.; YAN, S; LI, G; HUILI, L. Preparation of aspirin and probucol in combination loaded chitosan nano particles and *in vitro* release study. *Carbohydrate Polymers*, v. 75, n.4, p. 566-574, 2009.
- AMORATI, R., PEDULLI, G. F., VALGIMIGLI, L., ATTANASI, O. A., FILIPPONE, P., FIORUCCI, C. & SALADINO, R. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, n.11, p.2142-2146. 2001.
- ARAÚJO, A.P.C., VENTURELLI, B.C., SANTOS, M.C.B., GARDINAL, R., CÔNSOLO, N.R.B., CALOMENI, G.D., FREITAS, J.E., BARLETTA, R.V., GANDRA, J.R., PAIVA, P.G., RENNÓ, F.P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nelore steers. *Animal Feed Science and Technology*, v. 206, p.114-118, 29 jun. 2015.
- ARAÚJO, R. C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro*. 2010. 178 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oil: a review. *Food and Chemical Toxicology*, v.46, n.2, p.446-75, 2008.
- BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 84, p. 1489-1496, 2006.
- BELANCHE, A., RAMOS-MORALES, E., NEWBOLD, C.J., *In vitro* screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Journal Science Food Agriculture*, v.96, n.9, p.3069-3078, 2015.
- BENCHAAR C, CALSAMIGLIA S, CHAVES AV, FRASER GR, COLOMBATTO D, MCALLISTER TA, BEAUCHEMIN KA. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science Technology*. v. 145, p.209–228, 2008.
- BRUM, R.P. Efeito de um aditivo prebiótico no leite e no concentrado sobre o desempenho e aspectos sanitários de bezerros de rebanhos leiteiros. Dissertação (Pós Graduação em Zootecnia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 36p, 2006.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, p.223-253, aug.2004.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J M. Metabólitos secundários de espécies de anacar diaceae. *Química Nova*, v.29, p.1287-1300, 2006.
- COUTINHO, D. A.; BRANCO, A.F.; SANTOS, G.T.; OSMARI, M.P.; TEODORO, A.L.; DIAZ, T. G. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 36, n. 3, p. 311-316, July-Sept., 2014.
- COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

- DÍAZ, T.G., SALAB, B.L., OSMARI, M.P., MATTOS, F.M., GIOTTO, F.M., TEODORO, A.L., BRANCO, A.F. Líquido da casca da castanha de caju como aditivo para bovinos confinados: digestibilidade de nutrientes. *VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal – “Trabalhos Científicos BOVINOS”*, Estância de São Pedro, SP. 2014.
- DIAZ, T.G.; TEODORO, A.L.; OSMARI, M.P.; SALAB, B.L; MATOS, L.F.; GIOTTO, F.M. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. *Campo Digit@l: Revista de Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, v. 10, n. 1, p. 1-10, Ago, 2015.
- DICOSTANZO, A.; CASSADY, J.M.; ZEHNDER, C.M. Utilization of approved feed additives in growing, finishing and replacement beef cattle diets. In: *57 th Minnesota Nutrition Conference, 1996, Minnesota, Proceedings...Minnesota: Protiva Technical Symposium*, p. 81–96, 1996.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. *Journal of Animal Science*. 88: 749-755, 2010.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose-response effects of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of mixtures differing in forage-to-concentrate ratios. *Journal Animal Feed Science and Technology*, v.151, p. 215-227, may.2009.
- GONZALES, E.; MELLO, H. H. C.; CAFÉ, M.B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. *Revista UFG*, v.13, p. 1-6, dez. 2012.
- GUSTAFSON, R. H.; BOWEN, R. E. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal Applied Microbiology*, v. 83, p. 531–541, 1997.
- HANEY, Jr. M.E.; HOEHN, M.M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. *Antimicrobial Agents Chemother*, v.7, p.349-352, 1967.
- HESS, B.W.; MOSS, G.E.; HULE, D.C. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, v.86, p.188-204, 2008.
- HIMEJIMA, M.; KUBO I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (A nacardiaceae) Nut Shell Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.39, p.418-421, 1991.
- HIRANO, S. et al. Chitosan as an ingredient for domestic animal feeds. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 38, n. 5, p. 1214-1221, 1990.
- IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK. J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. *Animal Feed Science and Technology*. v. 106, p.39-57, 2003.
- JACAÚNA, A. G. Avaliação *in vitro* da quitosana como aditivo em dietas para ruminantes. 2016.53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourado, Dourados-MS.
- JEON, Y. L; KAMIL, J. Y. V. A; SHAHIDI, F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 20, p. 5167-5178, 2002.
- KEAN, T; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.62, n.1, p.3-11, jan.2010.
- KONG, M; CHEN, X, G; XING, K; PARK, H,J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of art review. *International Journal of Food Microbiology*, v.144, p.51-63, 2010.

- LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. *Química Nova*, v.32, n.3, p.672-678, 2009.
- LOYOLA, V.R.; PAILE, B.J.A. Utilização de aditivos em rações de bovinos: Aspectos regulatórios e de segurança alimentar. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS – MINERAIS E ADITIVOS PARA BOVINOS, FEALQ. Piracicaba. p. 213-224, 8, 2006.
- MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G. F.; CONEGLIAN, S.M.; SANTOS, G.T.dos.; MINELLA, T.F.; MACEDO, F. A.F. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: Digestibilidades dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. *Revista Brasileira da Zootecnia*, v.35 n.4, Viçosa, p. 1496-1503, Jul/Aug.2006.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília. 13 p: MAPA/ARC, 2004. 13 p.
- MAZZETTO, S. E; LOMONACO, D; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32, 732-741. 2009.
- MINGOTI, R. D. Desempenho produtivo, digestão e metabolismo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes concentrações de quitosana nas dietas. Dissertação Mestrado, Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Pirassununga, 2013.
- MINGOTI, R. D.; GARDINAL, R.; CALOMENI, G. D.; FREITASJR, J. E.; GANDRA, R. J.; BARLETTA, R. V.; VENTURELLI, B. C.; TAKIYA, C. S.; GHILAR, V. Consumo de matéria seca, produção e composição do leite de vacas em lactação suplementadas com doses crescentes de quitosana. In: VI Simpósio de Pós-Graduação e Pesquisa em Nutrição e Produção Animal – VNP – FMVZ – USP – 2012.
- MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.
- MORAIS, J. A. S.; BERCHIELL, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: *Nutrição de ruminantes*. ED. BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V; OLIVEIRA, S. G. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP p.565, 2011.
- MORRIS, F.E.; BRANINE, M.E.; GALYEAN, M.L; HUBBERT, M.E.; FREEMAN, A.S.; LOFGREEN, G.P. Effect of rotating monensina plus tylosin and lasolocial on performance ruminal fermentation, and site and extent of digestion in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.3069-3078, 1990.
- NAGARAJA, T. G; NEWBOLD, C. J; VAN NEVEL, C. J. Manipulation of ruminal fermentation, In: Hobson , P.N.; Stewart, C.S. (Eds). The rumen microbial ecosystem. *Blackie Academy & professional*, London. P. 523, 1997.
- OWENS, F. N.; ZOORRILLA-RIOS, J.; DUBESKI, P. Effect of ionophores on metabolismo, grows, body, composition and meat quality. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. *Growth Regulation in Farm Animals: Advances in Meat Research*. London. ELSEVIER, p. 321-342. 1991.

- PAIVA, P. G., JESUS, E.F., VALLE, T.A. D., ALMEIDA, G.F., COSTA, A.G.B.V.B., CONSENTINI, C.E.C., ZANFERARI, F., TAKIYA, C.S., BUEN, I. C.S., RENNÓ, F.P. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows. *Animal Production Science*, 2016.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. Prebióticos e probióticos na nutrição de aves. *Ciência Agrárias e da Saúde*, v.2, n.1, p.59-64, 2002.
- PIMENTEL, P.G.; REIS, R.B.; LEITE, L.A.; CAMPOS, W.E.; NEIVA, J.N.M.; SATURNINO, H.M.; COELHO, S.G. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. vol.64, n.4, Belo Horizonte, Aug. 2012.
- ROBERTS, G. A. F. ROBERTS, G. A. F., Em *Chitin Chemistry*; ed.; MacMillan Press Ltd: London.1992, cap. 1.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, v.55, n.1, p.1-6, jan. 1989.
- SEGABINAZZI, L.R. *Aditivo a base de extratos vegetais como alternativa à monensina sódica na dieta de vacas de corte terminadas em confinamento*. 84 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,2008.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M. HIGUCHI K, KOBAYASHI Y, TAKENAKA A, NAGASHIMA K, MOCHIZUKI M, KOBAYASHI Y. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *Journal of Dairy Science*, v. 95, p 5308–531, 2012.
- SILVA, A.P.S. *Efeito da monensina, virginiamicina e dos óleos funcionais de mamona e caju em bovinos nelore submetidos a mudança abrupta para dietas com elevado teor de concentrado*. 103 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) –Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- SKAUGRUD, O; SARGENT, G. Chitin and Chitosan: Crustacen biopolymers with potential. In *Making Profits out of Seafood Wastes*. Ed. S. Keller, pp. 61-69. Alaska: Alaska Sea Grant College Program AK- SG-, 90, 07. 1990.
- TERBOJEVICH, M.; COSANI, A.; FOCHER, B.; MARSANO, E. High-performance gelpermeation chromatography of chitosan samples. *Carbohydrate Research*, v. 250, n.2, p.301–314, Dec.1993
- TORRENT, J. Óleos funcionais: Uma alternativa como promotor de crescimento. *Boletim Apamvet*, 2012.
- VAN SOEST, P. J.; MASON, V.C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v.32, n.1-3, p.45-53, jan.1991.
- WALLACE, R. J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *Journal of Animal Science*, v.72, p. 2992-3003, 1994.
- WATANABE, Y., SUZUKI, R., KOIKE, S., NAGASHIMA, K., MOCHIZUKI, M., FORSTER, R.; KOBAYASHI, Y. *In vitro* evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. *Journal of Dairy Science*, v.93, n.11, p. 5258-5267, nov.2010.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral:

Avaliar o efeito da inclusão dolíquido da casca da castanha de caju e da quitosana, isoladamente e em associação, sobre os parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* e a digestibilidade *in vitro* dos nutrientes em dietas para ruminantes.

#### 3.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIVPB), digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIVFDN), digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente ácido (DIVFDA), digestibilidade *in vitro* da hemicelulose (DHCEL) do líquido ruminal, de diferentes dietas para ruminantes;

- Avaliar a concentração de nitrogênio-amoniaco (N-NH<sub>3</sub>), pH e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do líquido ruminal *in vitro* com diferentes proporções Volumoso: Concentrado

- Avaliar a cinética de fermentação ruminal pela técnica da produção de gases *in vitro*.

## CAPÍTULO II

### **Avaliação do líquido da casca da castanha de caju associado com quitosana, sobre a digestão ruminal *in vitro* e fermentação ruminal de dietas com diferentes proporções de volumoso:concentrado**

**RESUMO:** Foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros metabólicos e produção de gases do líquido ruminal de bovinos com diferentes dietas com adição da quitosana e/ou líquido da casca da castanha de caju como aditivos para ruminantes. As dietas foram compostas de cinco proporções de volume:concentrado (100:00, 65:35, 50:50, 35:65, 20:80). A dose dos aditivos foi adicionada nas proporções: 500mg/kg de MS do líquido da casca da castanha de caju; 500 mg/kg de MS de quitosana; 200 mg/kg de MS de monensina; e associação da quitosana com o líquido da casca da castanha de caju (500 mg/kg de MS cada). Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado. Foram avaliados os efeitos dos aditivos sobre a DIVMO, DIVMS, DIVPB, DIVFDN, DIVFDA e DHCEL. Observou-se efeito linear sobre a DIVMO e DIVMS e efeito quadrático sobre a DIVPB. A quitosana aumentou a DIVMS, associado a redução da DIVFDN e DIVPB. Foi verificado efeito do aditivo e da relação V:C para DIVMO; DIVMS e DIVPB. Foi observada interação entre relação V:C e o aditivo sobre a DIVFDN, DIVFDA e DHCEL. Foram realizadas coletas do líquido ruminal *in vitro* em intervalos de 2 horas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 após a incubação (“hora 0”) para análise de pH e nitrogênio amoniacal e, nos tempos 0,2,4,8 de AGCCC. A inclusão dos aditivos naturais manteve o pH acima de 6,0 e a concentração de amônia mínima de 10,67 mg/dL, respectivamente. Foi verificada interação entre a relação V:C e o aditivo sobre a concentração da produção de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico. A relação C2:C3 foi maior com a inclusão do antibiótico monensina. Foi avaliada a acinética da produção de gases para os parâmetros A (produção de gás da fração rápida/mL gás/g), parâmetro B (taxa de produção da fração A/h<sup>-1</sup>), parâmetro C (lag time/horas), parâmetro D (produção de gás da fração lenta/mL gás/g), parâmetro E (taxa de produção da fração D/h<sup>-1</sup>) e produção cumulativa de gases (A+D). Foi verificado efeito significativo dos aditivos no parâmetro C; da relação V:C para os parâmetros A, C, D e A+D; e interação significativa dos fatores principais relação V:C e aditivo no parâmetro A+D. A inclusão do líquido da casca da castanha de caju e quitosana como aditivos moduladores da fermentação do líquido do ruminal apresentaram resultados positivos possibilitando a sua utilização como alternativa ao uso dos antibióticos ionóforo na alimentação de ruminantes. No entanto, a inclusão do líquido da casca da castanha de caju associado com a quitosana não proporcionaram efeitos satisfatórios sobre a digestibilidade dos nutrientes. A redução na digestibilidade pode estar relacionado a quantidade da dose e/ou a atividade de inibição destes compostos. Desta forma, é necessário que novos estudos sejam realizados para identificar a dose ótima da associação destes dois aditivos na alimentação de bovinos.

**Palavras-Chave:** ácidos graxos de cadeia curta, digestibilidade *in vitro*, fermentação ruminal, parâmetros ruminais, produção de gás.



**EVALUATION OF THE CASHEW NUT LIQUID ASSOCIATED WITH CHITOSAN,  
ON RUMINAL DIGESTION IN VITRO AND RUMINAL FERMENTATION OF  
DIETS WITH DIFFERENT RATIOS OF FORAGE: CONCENTRATE**

**ABSTRACT:** Three experiments were carried out to evaluate the nutrient digestibility, metabolic parameters and gas production of rumen liquid of cattle with different diets with chitosan addition, liquid of cashew nuts and both associated as additives for ruminants. The diets were composed of five volumetric proportions: concentrate (100:00, 65:35, 50:50, 35:65, 20:80). The doses of the additives were added in the proportions: 500mg/kg DM of the cashew liquid; 500 mg/kg of chitosan DM; 200mg monensin kg/DM; And association of chitosan with cashew liquid (500 mg/kg DM each). The treatments were randomly distributed in a completely randomized design. In the first experiment, the objective of this study was to evaluate the effects of the additives alone or in combination on IVDDM, IVDCP, IVDNDF, IVADF and DHCEL. There was a quadratic effect of the additives in the diets on the IVDCP and linear effect ( $p < 0.05$ ) on the IVDDM and IVDOM. The QUI increased the IVDDM, associated with the reduction of DIVNDF and IVCP. LCCC reduced IVDDM, DIVPB, but increased the digestibility of NDF in diets with 50:50 bulky: concentrate. CNSLQ reduced IVDDM, increased IVDDM in a 50:50 and 20:80 bulky: concentrate diet and behaved similarly to a control diet when compared to IVDDM. The DIVMO of the natural additives was similar to the antibiotic ionophore treatment. Quadratic effect was verified with the inclusion of QUI, CNSL and the positive control over DHCEL and linear effect with the addition of LCCCQ. In the second experiment, the values of pH, ammonia (N-NH<sub>3</sub>) and Short-chain fatty acids (SCFAs) of rumen liquid were determined at 0, 2, 4, 6, 8 and 10 hours after each in vitro incubation. The inclusion of the natural additives kept the pH above 6.0 and the minimum and maximum ammoniacal nitrogen concentration (N-NH<sub>3</sub>) in ruminal liquid of 4.995 mg / dl and 22.374 mg / dl, respectively. Acetic acid production ( $p < 0.0001$ ), propionic acid ( $p < 0.0001$ ) and butyric acid ( $p = 0.0200$ ) were observed on the concentration. The C2: C3 ratio was higher with the inclusion of the monensin antibiotic. In the third test, the gas production kinetics were evaluated for the parameters A (fast gas production / mL gas / g), parameter B (rate of production of the fraction A / h<sup>-1</sup>), parameter C (lag Time / hours), parameter D (gas production of the slow fraction / mL gas / g), parameter E (Production rate of the fraction D / h<sup>-1</sup>) and cumulative gas production (A + D). Significant effect of the additives was verified in parameter C; Significant effect of the V: C ratio for parameters A, C, D and A + D; Significant effect of the interaction of the main factors for the parameter A + D. The inclusion of the natural additives as fermentation modulators of the ruminal fluid presented positive results allowing its use as an alternative to the use of ionophore antibiotics in ruminant feed.

**Key words:** fatty acids, in vitro digestibility, ruminal fermentation, ruminal parameters, gas production.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos na alimentação bovina, tem se tornado cada vez mais comum entre as práticas de manejo como estratégia para aumentar a eficiência alimentar do rebanho e intensificar a produtividade.

Dentre os aditivos antibiótico ionóforo o mais utilizado é a monensina sódica. No entanto, órgãos oficiais da União Europeia, através da Regulamentação 1831/2003/EC, proibiram o consumo deste produto como medida preventiva, devido o possível aparecimento de bactérias resistentes e o risco a saúde humana (GUSTAFSON & BOWEN, 1997; MORAIS et al., 2006). Na busca por produtos saudáveis e naturais que possam substituir estes aditivos químicos, cientistas cada vez mais têm estudado o uso de produtos oriundos de óleos vegetais e outras alternativas naturais e os seus possíveis benefícios na alimentação de bovinos.

O líquido extraído da casca da castanha de caju (LCCC) é um óleo funcional, fonte natural de lipídios fenólicos, que contém ácido anarcárdico, cardol e cardanol, que possui atividade antimicrobiana e antioxidante (BENCHAAR et al., 2008). O uso do LCCC tem sido estudado *in vitro* como aditivo modulador da fermentação ruminal por melhorar a digestibilidade dos nutrientes e selecionar bactérias Gram-negativas em detrimento das Gram-positivas (SHINKAI et al., 2012).

A quitosana é um polissacarídeo natural, não tóxico, biodegradável que pode ser utilizado como aditivo modulador da fermentação ruminal por possuir potencial antimicrobiano, demonstrando resultados satisfatórios nos processos digestivos dos ruminantes (GOIRI et al., 2009). É obtida pelo processo de desacetilação da quitina do exoesqueleto de insetos, crustáceos, da parede de fungos, algas entre outros (SENEL et al., 2004). Quando utilizada em dietas de novilhos Nelore, tem efeito sobre a digestibilidade aparente total da MS, PB, FDN porém, reduz linearmente a produção de acetato, apresentando efeito quadrático sobre o propionato e butirato, e na relação acetato: propionato (ARAÚJO et al., 2015)

Apesar do líquido da casca da castanha de caju e a quitosana já terem demonstrado resultados satisfatórios sobre a alimentação de ruminantes ainda há poucos trabalhos sobre este assunto. Assim, este trabalho foi delineado para avaliar a inclusão do líquido da casca da castanha de caju, quitosana e, associação dos dois componentes como aditivos moduladores da fermentação ruminal sobre a digestibilidade *in vitro* dos nutrientes, cinética de acumulação de gases e parâmetros da fermentação ruminal (pH, N-NH<sub>3</sub> e AGCC) do líquido ruminal *in vitro* contendo diferentes proporções volumoso: concentrado.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em quatro ensaios *in vitro*, sendo que no primeiro ensaio (ensaio 1) foram analisadas a digestibilidade *in vitro* dos da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB); no segundo ensaio (ensaio 2) foram avaliados os parâmetros metabólicos quanto as concentrações de amônia (N-NH<sub>3</sub>), pH e AGCC (acetato, propionato, butirato e relação C<sub>2</sub>:C<sub>3</sub>); e no terceiro ensaio (ensaio 3) foram submetidos a análise cinética da produção de gases.

### 2.1.1 Local

O ensaios 1 e 2 foram realizados no Laboratório de Avaliação de Coprodutos, do Instituto de Pesquisa em Agroenergia e Conservação Ambiental (IMPAC) e Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Estado do Mato Grosso do Sul, localizada a 22° 14' S de Latitude Sul, 54° 49' W de Longitude Oeste, e 450 m altitude, campus Universitário Dourados; ensaio 3 no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Jaboticabal; eo ensaio 3 no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus Campo Grande- MS.

### 2.1.2 Animais e instalações

Como doadores de inóculo ruminal foram utilizados dois bovinos mestiços provenientes do cruzamento entre raças de aptidão leiteira, castrados, com peso médio de 350 kg±, providos de cânula ruminal. Os animais foram alojados em piquetes de capim *U. brizantha* cv Marandu, contendo bebedouros e comedouros, recebendo suplementação.

### 2.1.3 Tratamentos e composição dos alimentos

Para todos os ensaios foram utilizadas cinco relações volumoso com concentrado (100:00, 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80) e quatro tipos de aditivos: monensina (controle positivo); líquido da casca da castanha de caju (LCCC); quitosana em pó (solúvel) (Q); e líquido da casca da castanha de caju quitosana (LCCCQ).

A monensina foi utilizada na proporção de 200 mg/kg de MS. O LCCC foi utilizado na dose de 500 mg/kg de MS. Os níveis de garantia do LCCC técnico foram fornecidos pelo laboratório de química da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), sendo

analisado em cromatógrafo líquido de Alta Eficiência (modelo Varian 210) detector de arranjo de diodos (DAD) e o software Star WS (Workstation 2.0). Os dados da análise química do LCCC foram obtidos por CLAE-DAD, e o LCCC testado apresentou ácido anarcádio (10,03 mg/g); cardanol (102,34%) e 2-metilcardol (19, 17%). A dose utilizada da quitosana foi de 500 mg/kg de MS. A quitosana continha as seguintes especificações: grau de desacetilação > 86,30 %; viscosidade < 200 cPs; pH 7,9; cinzas 1,35% e densidade aparente 0,32 g/ml (Polymar Indústria e Com. Imp. e Exp. LTDA, Fortaleza, Ceará, Brasil).

As dietas formuladas foram compostas de feno de Tifton 85 (*Cynodon spp*) como volumoso e, milho (49,72%), farelo de soja (40,05%) e suplemento mineral (10,23%) como concentrado, fornecidos nas proporções volumoso:concentrado 100:00; 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80 (Tabela 1). Os mesmos ingredientes foram fornecidos em todas as relações V:C.

As amostras dos alimentos utilizados foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h, moídas em moinho de Willey dotado de peneira com cobertura de malha de 1 mm de diâmetro e analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MO) e cinzas (MM) conforme a metodologia da AOAC (2000). Os conteúdos de FDA foram obtidos seguindo o método descrito por Van Soest (1963; 1991). Para a análise de FDN, as amostras foram tratadas com alfa-amilase estável ao calor com sulfato de sódio e a matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença: 100-cinzas. Na tabela 1 encontram-se a composição química das dietas utilizadas nos experimentos.

Tabela 1. Composição química das dietas experimentais.

Variáveis	Níveis de volumoso: concentrado <sup>1</sup> (g/kg de MS)				
	100:0	65:35	50:50	35:65	20:80
MS%	0,899	0,883	0,866	0,848	0,845
MM%	0,101	0,983	0,975	0,966	0,956
PB%	0,129	0,163	0,178	0,193	0,207
FDN%	0,762	0,535	0,438	0,342	0,244
FDA%	0,306	0,229	0,197	0,164	0,132

Quantidade de PB, FDN, FDA, MM em relação a %MS. <sup>1</sup>Quantidade de volumoso e concentrado em 100%.

### 2.1.4 Determinação da digestibilidade *in vitro* da MO, MS, PB, FDN, FDA e HCEL (ensaio 1)

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com aditivos (monensina, LCC e LCCQ), combinados nas relações volumoso com concentrado (100:00; 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80), totalizando 20 tratamentos.

Para determinar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), proteína bruta (DIVPB), fibra em detergente neutro (DIVFDN), fibra em detergente ácido (DIVFDA), matéria orgânica (DIVMO) e hemicelulose (DHCEL) foi utilizando o rúmen artificial (incubador *in vitro* TE – 150 - Tecnal®), onde foi acrescentado inóculo ruminal e solução tampão de acordo com a metodologia descrita por Tilley & Terry (1963) modificada por Holden et al. (1999) numa digestão realizada em dois estágios: 1º etapa- 48h em temperatura controlada à 39°C com agitação suave e 2º etapa- 24 h com pepsina (8 g/ amostra) (Sigma 1:10000) e ácido clorídrico (HCL) 6 N, simulando a fase química. A pepsina utilizada foi dissolvida em 34 ml de H<sub>2</sub>O destilada a 35°C durante cinco minutos em agitador, e regulado o pH da solução entre 2,0 a 3,5 (HOLDEN, 1999).

Foram pesadas em balança analítica de precisão 0,5g de amostra em saquinhos TNT-100 g/cm<sup>2</sup> tratados e cortados no tamanho de 5,0 x 5,0 cm, segundo a metodologia utilizada por Casali et al. (2008), sendo quatro saquinhos por tratamento. Foram utilizados 2 saquinhos brancos em cada jarro da incubadora para correções dos dados.

Foi separa um jarro da incubadora para cada aditivo utilizado, sendo que, cada jarro recebeu 22 saquinhos (20 saquinhos contendo diferentes relações volumoso com concentrado e dois saquinhos brancos sem amostra para correção dos dados). Os saquinhos com as amostras foram distribuídos aleatoriamente e uniformemente nas duas divisões dos jarros. Os aditivos foram pesados de acordo com as quantidades descritas acima e adicionados diretamente nos jarros da incubadora *in vitro* TE – 150 (Tecnal ®), misturando aos saquinhos contendo as dietas.

A quantidade de líquido ruminal e solução tampão para cada saquinho com amostra foi adicionada na proporção 1:4, sendo 1 parte de inóculo ruminal e 4 partes da solução tampão obtida da mistura da solução A e B preparadas nas proporções: Solução A- dihidrogenofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Anidro) (10 g/l), sulfato de magnésio (Mg SO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O) (0,5 G/L), cloreto de sódio (0,5 g/l), cloreto de cálcio di-hidratado (0,1 g/l), ureia (0,5 g/l); Solução B- carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (15 g/l) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S. 9H<sub>2</sub>O) (1,0 g/l).

As coletas do líquido ruminal dos animais foram realizadas sempre pela manhã (8 horas). O material coletado foi coado em tecido de algodão e armazenado em garrafas previamente aquecidas e mantidas a 39°C com fusão de CO<sub>2</sub> e vedadas para serem

transportados até o laboratório. No laboratório, o líquido ruminal coletado foi medido de acordo com as proporções necessárias e transferidos para os jarros com a solução tampão e com os tratamentos, com o recipiente purgado rapidamente com CO<sub>2</sub>. Ao final, os saquinhos foram retirados dos jarros e lavados em água corrente, retirando cuidadosamente o gás produzido no interior dos saquinhos e colocados em estufa de circulação forçada a 55° C por 12 horas para secagem. No dia seguinte, as amostras foram retiradas da estufa e colocados no dessecador por 30 min e pesados para posterior análises dos nutrientes.

Foram utilizados 4 saquinhos para análise da DIVMS, sendo o valor determinado pela diferença entre a quantidade de matéria seca incubada (MSI) e o resíduo da amostra (MSRes) dividido pela matéria seca incubada, conforme a equação:  $DIVMS = (MSI - MSRes) / MSI$ .

Outros 4 saquinhos foram utilizados para avaliar a DIVFDN e a DIVFDA, seguindo a fórmula:  $DIVFDN = (FDNi - FDNRes) / FDNi$ ;  $DIVFDA = FDAf - (T \times B) / FDAi$ , em que: FDNi=fibra em detergente neutro inicial; FDNRes=fibra em detergente neutro residual; FDAf=fibra em detergente ácido final; T=tara do saquinho; B=correção do saquinho branco; FDAi=fibra em detergente ácido inicial. Para a DIVMO foram recortados outros 4 saquinhos, retirado a amostra e pesado, sendo o resíduo calculado de acordo com a formula:  $DIVMO = (MOI - MORes) / MOI$ , em que, MOI=matéria orgânica inicial e MORes=matéria orgânica residual.

A DIVPB foi analisada utilizando 4 saquinhos de cada tratamento, os quais foram recortados e transferido a amostra para um tubo de digestão e submetido ao procedimento de Kjeldhal de destilação, calculado conforme a formula:  $DIVPB = (PBI - (PBRes - B)) / PBI$ , em que: PBI=proteína bruta inicial; PBRes=proteína bruta residual e B= correção do saquinho branco.

### **2.1.5 Determinação do pH, amônia e ácidos graxos de cadeia curta do líquido ruminal (ensaio 2)**

Nos ensaios 2 foi realizado o delineamento inteiramente casualizado, com aditivos (monensina, LCC e LCCQ), combinados nas relações volumoso com concentrado (100:00; 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80), totalizando 20 tratamentos.

A coleta do líquido ruminal de bovinos mestiços de aptidão leiteira foi realizada logo pela manhã, filtrado em pano de algodão e armazenado em garrafas pré-aquecidas com água morna para manter a temperatura próxima ao ambiente ruminal, purgada com CO<sub>2</sub> para conservar o ambiente anaeróbio para o transporte.

A solução tampão utilizada para simular a saliva do animal foi preparada nas seguintes proporções: Solução A- dihidrogenofosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Anidro) (10 g/l), sulfato de magnésio ( $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (0,5 G/L), cloreto de sódio (0,5 g/l), cloreto de cálcio di-hidratado (0,1 g/l), ureia (0,5 g/l); Solução B- carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (15 g/l) esulfeto de sódio ( $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) (1,0 g/l).

No laboratório, as incubações *in vitro* foram realizadas isoladamente, em que, cada jarro recebeu uma combinação da relação volumoso com concentrado (100:00; 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80) e um aditivo (monensina, LCCC, quitosana e LCCCQ). Foram pesadas para cada jarro 5000 mg da relação volumoso com concentrado. A quantidade do líquido ruminal e a solução tampão utilizada na incubação foi calculada com base na quantidade total de amostra a ser coletadas ao longo do tempo.

As coletas diárias foram realizadas em intervalos de 2 horas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 h após a incubação (“hora 0”) para análise de pH e nitrogênio amoniacal e, nos tempos 0,2,4,8 após a incubação para análise de ácido graxo de cadeia curta (AGCC). Em cada horário, foram coletados 80 ml do líquido ruminal tamponado, utilizando uma seringa e a torneira de três vias instalada na tampa dos jarros. O pH foi determinado imediatamente após a coleta. Aproximadamente 40 ml foram acidificadas com 1 mL de ácido clorídrico (HCL 1:1) para análise de nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) e o restante utilizado para análise de AGCC, o material coletado foi armazenado em freezer para posterior análise.

Ao final do experimento, as amostras para  $\text{N-NH}_3$  foram descongeladas e colocadas em tubos de eppendorf, centrifugadas por 10 min a 3000 rpm. Em seguida, foi coletado uma alíquota de 2ml do sobrenadante, sendo colocado em tubos de ensaio para determinação do nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) pelo método da destilação de Kjealdhl com a adição de hidróxido de potássio (método INCT-CA N-007/1), segundo metodologia descrita por Detmann et al. (2012).

### **2.1.7 Determinação da produção total de gás e os parâmetros da cinética da fermentação ruminal (ensaio 3)**

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com os aditivos (monensina, LCC e LCCQ), combinados nas relações volumoso com concentrado (100:00; 65:35; 50:50; 35:65 e 20:80), totalizando 20 tratamentos.

Para análise da produção de gás foram utilizados 8 frascos de vidro (6 para análise dos tratamentos e 2 para correção dos dados e ajustados valores da pressão) com capacidade para 250 ml. Foram adicionados, em duplicata, de cada tratamento, 1,0 grama de

cada relação volumoso: concentrado com seus respectivos aditivos. Nos frascos para correção de dados foram adicionados apenas a solução tampão e líquido ruminal. Em cada frasco, foram adicionados 100 ml da solução tampão, 25 ml de inóculo ruminal purgado com CO<sub>2</sub>. Os frascos permaneceram em temperatura a 39°C com agitação constante. Para cada incubação foi utilizado dois frascos como brancos, contendo apenas inóculo ruminal e solução tampão, como o objetivo de ajustar os valores de pressão.

A pressão de gás produzida dentro dos frascos durante a incubação foi registrada por sensores de pressão localizados nas tampas dos frascos ou módulos, os quais transferiram as informações de cada frasco por meio de uma base coordenadora conectada a um computador, a intervalos de 5 minutos, totalizando 288 leituras durante 24 horas de incubação. O aumento da pressão produzido dentro dos frascos foi mensurado em libras por polegada quadrada (psi) utilizando sistema automático RF: Gás Production System® (ANKOM).

Os dados mensurados em psi, foram transformados para moles de gás por meio da equação:

$$N = \frac{VP}{RT}$$

em que: N= quantidade de gás em moles; V= volume de gás ocupado em litros; P= pressão em pascal (KPa); T= temperatura em Kelvin (°K); R= constante dos gases (8.314472 kPa·L·K<sup>-1</sup>mol<sup>-1</sup>).

Os moles foram convertidos em mL de gás produzido em condições normais de temperatura e pressão (STP) utilizando a seguinte equação:

$$V = \frac{nRT}{P}$$

Foram utilizados os seguintes valores de referência das condições de STP: 273,15°K (0°C) e 101 325 Pa (1 atm = 760 mmHg).

A produção de gás em mL foi calculada utilizando a pressão corrigida dos frascos, a pressão atmosférica da região (96,538 kPa) e a pressão atmosférica em condições normais (101,325 kPa), sendo este o valor de P.

Na determinação da extensão e a taxa de produção de gás decorrente da degradação do alimento, utilizou um modelo logístico bicompartimental exponencial proposto por Pell & Schofield et al. (1994):



$$y = \left[ \frac{A}{\{1 + \text{Exp}.[2+4*B*(C-T)]\}} + \frac{D}{\{1 + \text{Exp}.[2+4*E*(C-T)]\}} \right]$$

Sendo,  $y$  = volume total de gás no tempo  $T$  (extensão da degradação);  $A$  e  $D$  = volume de gás (mL) das frações de degradação rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose e hemicelulose) respectivamente;  $B$  e  $E$  = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta (/h), respectivamente; e  $C$  = tempo de colonização das bactérias.

### *Análises estatísticas*

Os dados obtidos para às variáveis dos ensaios 1, 2 e 3 foram submetidos a análises exploratórias preliminares, para eliminar dados discrepantes ("outliers") e obedecer às premissas básicas da análise de variância (linearidade, homoscedasticidade e normalidade dos erros). As análises preliminares, o processamento e análise dos dados experimentais foram realizados com o auxílio do software estatístico SAS University Edition® (SAS INSTITUTE, 2015).

Inicialmente, para os dados de digestibilidade *in vitro* da MS, FDN, FDA, PB e HCEL (1º ensaio), aplicou-se teste de Dunnet com o auxílio do Proc GLM com a finalidade de comparar o tratamento testemunha (controle positivo, Monensina) com os demais aditivados, ao nível de 5% de probabilidade. Em seguida, os dados foram analisados no PROC GLM, seguida de contrastes por polinômios ortogonais e obtidas as equações de regressão pelo método dos quadrados mínimos.

Para os dados referentes aos parâmetros ruminais (pH e concentração de amônia no líquido ruminal), seguindo uma sequência de medidas ao longo do tempo, foram verificadas as pressuposições do uso da MANOVA por meio do teste de esfericidade de Mauchly, em que se a matriz de covariâncias atende à condição H-F (teste de esfericidade não-significativo), conclui-se que a matriz de covariâncias é do tipo esférica podendo-se o experimento ser analisado na forma de parcela subdividida; caso o teste resultar significativo, recomenda-se o uso da análise multivariada de perfis. A estatística utilizada para testar a esfericidade do modelo da matriz foi a do teste  $W$  de Mauchly (1940), bem como as correções do número de graus de liberdade, GG de Geisser e Greenhouse (1958) e HF Huynh e Feldt (1970). As estatísticas para testar a hipótese de ausência dos efeitos dos níveis de aditivos, níveis da relação volumoso:concentrado, tempo e suas interações, para o caso multivariado foram Lambda de Wilks, Traço de Pillai, Traço de Lawley-Hotelling e Maior Raiz característica de

Roy. Todos as análises descritas acima foram realizadas com o auxílio de comando REPEATED incluído no PROC GLM do SAS.

Os resultados de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato, butirato e relação C<sub>2</sub>:C<sub>3</sub>) foram submetidos ao PROC MIXED, considerando efeito de medida repetida pelo comando REPEATED, indicando a combinação dos efeitos de aditivo e relação volumoso concentrado (id) como sujeito (via comando SUBJECT = id) e definindo a estrutura de covariância entre as medidas repetidas (neste caso, escolhemos não estruturada via comando TYPE = UN).

As estimativas dos parâmetros de interesse biológico e o ajuste das curvas da produção de gases foram realizados utilizando-se o processo iterativo de Gauss-Newton por meio do procedimento para modelos não lineares do programa SAEG (UFV, 2000). Em seguida, os dados foram submetidos ao PROC GLM.

### 3. RESULTADOS

Não foi verificada interação significativa entre a relação V:Ce aditivo para a digestibilidade da MO, MS e PB, porém, os efeitos individuais foram significativos. De acordo com a análise de regressão, observou-se efeito quadrático da relação volumoso com concentrado (P=0,00061) sobre a digestibilidade *in vitro* da PB e efeito linear sobre a digestibilidade *in vitro* da MO (P<0,001) e MS (P<0,001) (Tabela 2).

Não foi verificada efeito de interação sobre a DIVMO, DIVMS e DIVPB. Foi verificada efeito significativo do aditivo para DIVMO (P=0,0024), DIVMS (P<0,0001), DIVPB (P=0,0024) e efeito significativo para relação V:C sobre a DIVMO (P<0,001), DIVMS (P<0,0001) e DIVPB (P<0,001).

Os maiores valores de DIVMO e DIVMS foram verificados com a inclusão da quitosana e os menores valores com a adição do LCCC. A DIVPB aumentou com a inclusão do LCCCQ e reduziu com a adição do LCCC.

Tabela 2. Coeficiente de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) das diferentes dietas experimentais.

Rel. V:C	Aditivos				Média	EPM	P-valores		
	CONT	Q	LCCC	LCCCQ			Aditivo	Rel. V:C	Interação
DIVMS (g/kg de MS)									
20	0,762	0,775	0,686	0,716	0,735				
35	0,684	0,736	0,654	0,650	0,681				
50	0,618	0,667	0,605	0,580	0,618	0,008	<0,0001	<0,0001	0,8025
65	0,541	0,616	0,533	0,541	0,571				
100	0,413	0,475	0,357	0,358	0,401				
Média	0,604B	0,654A	0,567C	0,569C					
DIVMO (g/kg de MS)									
20	0,859	0,842	0,759	0,785	0,809				
35	0,759	0,828	0,687	0,727	0,751				
50	0,744	0,746	0,625	0,668	0,695	0,017 <sup>2</sup>	0,0024	<0,001	0,1436
65	0,595	0,662	0,547	0,599	0,589				
100	0,433	0,479	0,385	0,629	0,482				
Média	0,666AB	0,712A	0,601B	0,682A					
DIVPB (g/kg de MS)									
20	0,756	0,693	0,489	0,876	0,704				
35	0,750	0,714	0,671	0,729	0,716				
50	0,814	0,759	0,695	0,818	0,771	0,016	0,0024	<0,001	0,1436
65	0,758	0,754	0,655	0,825	0,748				
100	0,698	0,625	0,366	0,758	0,612				
Média	0,755AB	0,709B	0,575C	0,801A					

Médias com letras diferentes dentro da mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Regressão relativas aos níveis de Volumoso com concentrado:  $^1\hat{Y}=0,893552-0,00422977x$  (R<sup>2</sup>=0,98)(P<0,001);  $^2\hat{Y}=0,825427-0,004159x$  (R<sup>2</sup>=0,99) (P<0,001);  $^3\hat{Y}=0,589255+0,00647997x-0,00006240x^2$  (R<sup>2</sup>=0,94) (P=0,00061).

A utilização do aditivo não influenciou (P=0,1518) aDIVFDN, porémfoi verificado variação significativo na relação V:C (P<0,0001) e efeito de interação entre V:C e aditivos (P<0,0001) (Tabela 3).De acordo com a análise de regressão,observou-se efeito quadrático(P<0,05) sobre a DIVFDN das dietascom a inclusão doLCCC, LCCCQ e CONT(controle positivo), com ponto máximo de digestibilidade de 65,99%; 67,38% e 45,84%de volumoso, respectivamente. No entanto, com a inclusão da quitosana as dietas apresentaram o mesmo comportamento.

Foi verificado efeito com a adição do aditivo (P=0,0457), relação V:C (P<0,0001) e interação (P<0,0001) sobre a DIVFDA. A análise de regressão, mostroucomportamentoquadrático com a inclusão da monensina (controle positivo)

( $P < 0,001$ ), sendo o ponto máximo de digestibilidade com a adição de 60,75 % de volumoso. Foi verificado efeito linear decrescente com o aumento do concentrado para dietas com inclusão do LCCC ( $P = 0,00083$ ). Contudo, não foi observando diferença significativa com a inclusão da Q e LCCCQ.

Para a digestibilidade DHCEL, a análise de variância demonstrou efeito significativo do aditivo ( $P = 0,0321$ ), relação V:C ( $P < 0,0001$ ) e da interação entre a relação V:C e o aditivo ( $P = 0,0002$ ). Houve efeito quadrático significativo para o tratamento CONT ( $P < 0,0001$ ), quitosana ( $P = 0,00003$ ) e LCCC ( $P = 0,044$ ) com ponto máximo de 56,43%; 69,88% e 97,25% da relação V:C respectivamente. Para a inclusão do LCCCQ foi verificado efeito linear ( $P = 0,00003$ ) decrescente com o aumento do concentrado na dieta.

Tabela 3. Coeficiente de digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIVFDN), digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente ácido (DIVFDA), digestibilidade *in vitro* da hemicelulose (DHCEL) das diferentes dietas experimentais.

Rel. V:C	Aditivos				Média	EPM	P-valores		
	CONT <sup>1</sup>	Q	LCCC <sup>2</sup>	LCCCQ <sup>3</sup>			Aditivo	Rel. V:C	Interação
DIVFDN (g/kg de MS)									
20	0,323B	0,399AB	0,404A	0,417A	0,386	0,0083 02	0,1518	<0,0001	<0,0001
35	0,389AB	0,345B	0,338B	0,423A	0,374				
50	0,289C	0,370B	0,459A	0,421AB	0,385				
65	0,604A	0,387B	0,451B	0,433B	0,469				
100	0,346B	0,425A	0,403AB	0,341B	0,379				
Média	0,391	0,385	0,411	0,407					
DIVFDA (g/kg de MS)									
	CONT <sup>4</sup>	Q	LCCC <sup>5</sup>	LCCQ					
20	0,216A	0,195A	0,185A	0,250A	0,211	0,0102	0,0457	<0,0001	<0,0001
35	0,213A	0,235A	0,159A	0,194A	0,200				
50	0,188A	0,225A	0,288A	0,208A	0,227				
65	0,506A	0,224B	0,243B	0,236B	0,302				
100	0,302A	0,139B	0,191B	14,120B	0,193				
Média	0,252	0,216	0,235	0,204					
DHCEL (g/kg de MS)									
	CONT <sup>6</sup>	Q <sup>7</sup>	LCCC <sup>8</sup>	LCCQ <sup>9</sup>					
20	0,196A	0,157A	0,182A	0,210A	0,187	0,0151 5	0,0321	<0,0001	0,0002
35	0,347A	0,321A	0,288A	0,322A	0,322				
50	0,328A	0,442A	0,429A	0,303A	0,376				
65	0,452A	0,451A	0,442A	0,402A	0,437				
100	0,147C	0,363B	0,531A	0,479AB	0,380				
Média	0,295	0,347	0,376	0,343					

Médias com letras diferentes dentro da mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Regressão relativa aos níveis de Volumoso com concentrado:  $^1\hat{Y} = 0,11489426 + 0,01052664x - 0,00007975x^2$  ( $R^2 = 0,28$ ) ( $P < 0,001$ );  $^2\hat{Y} = 0,30751073 + 0,00383294x - 0,00002819x^2$  ( $R^2 = 0,26$ ) ( $P = 0,0394$ );  $^3\hat{Y} = 0,37046957 + 0,00267497x -$

$0,00002945x^2$  ( $R^2=0,94$ );  $^4 \hat{Y}=-0,06826875+0,01347575x-0,00011094x^2$  ( $R^2=0,34$ ) ( $P<0,001$ );  $^5 \hat{Y} =0,14727944+0,00162799x$  ( $R^2=0,63$ ) ( $P=0,00083$ );  $^6 \hat{Y} =-0,08783743+0,01692518x-0,00014497x^2$  ( $R^2=0,86$ ) ( $P<0,001$ );  $^7 \hat{Y} =-0,13774682+0,01746953x-0,00012498x^2$  ( $R^2=0,98$ ) ( $P=0,00003$ );  $^8 \hat{Y} =-0,01593519+0,01116731x-0,00005741x^2$  ( $R^2=0,97$ ) ( $P=0,044$ );  $^9 \hat{Y} =0,17114725+0,00318893x$  ( $R^2=0,91$ ) ( $0,00003$ ).

Após análise de variância, não foi verificado efeito do aditivo e da interação aditivo\*relação para as variáveis pH e  $NH_3$  no líquido ruminal. O líquido da casca da castanha de caju associado ou não com a quitosana, tiveram o mesmo comportamento que a monensina. Independente do aditivo utilizado nas dietas o pH manteve acima de 6,0 e o  $N-NH_3$  manteve-se acima de 10mmol/dl, faixa ótima para atividade dos microrganismos presente no rúmen. Foi verificado efeito significativo da relação volumoso:concentrado para os valores de pH ( $P=0,0029$ ) e  $N-NH_3$  ( $P=0,0019$ ), onde constatou que o aumento de [ ] o  $N-NH_3$  diminuiu e o pH houve uma leve variação (Tabela 4 e Figura 2).

Tabela 4. Efeito dos aditivos e das diferentes relações volumoso :concentrado sobre os parâmetros de pH e concentrações de  $NH_3$  .

Variáveis	Relação V:C					EPM	P-Valores		
	100	65	50	35	20		Aditivo	Rel. V:C	Interação
pH	6,68	6,58	6,55	6,56	6,66	0,01	0,8509	0,0029	0,687
$NH_3$	16,04	17,42	13,71	17,56	10,67	1,43	0,5758	0,0019	1

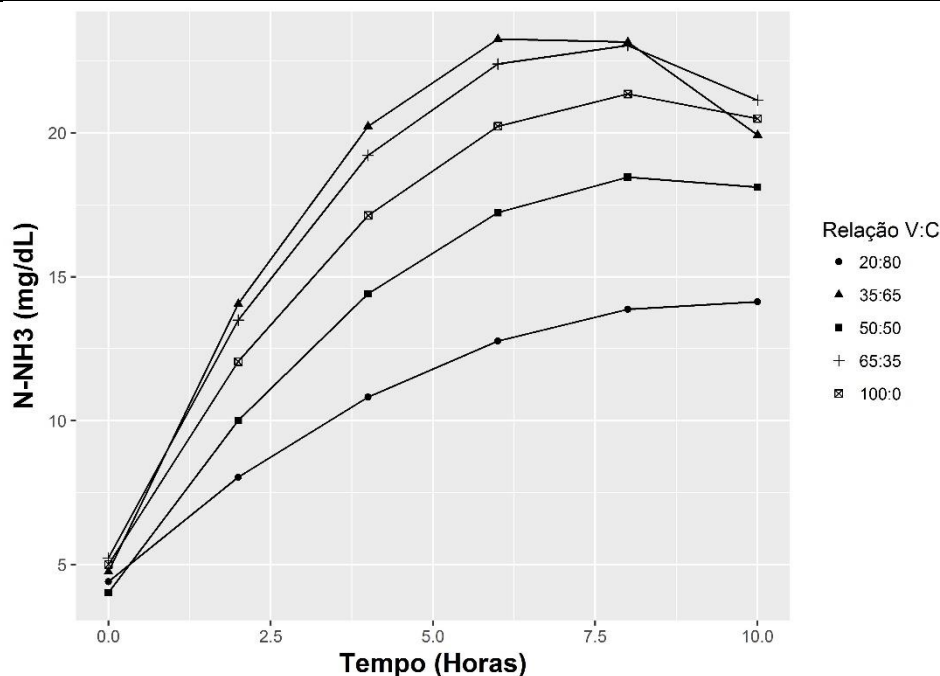


Figura 2. Estimativas de concentrações de amônia ( $N-NH_3$  mg/dl) do líquido ruminal, em função dos tempos de coleta.

Foi verificado efeito de interação da relação volumoso com concentrado *versus* inclusão do aditivo ( $P<0,05$ ) sobre os AGCC estudados. Foi verificado efeito significativo da

relação V:C para as concentrações de acetato ( $P<0,001$ ), propionato ( $P<0,0001$ ) e butirato ( $P=0,0098$ ). Foi verificado efeito do aditivo na relação C2:C3 ( $P<0,001$ ). Os aditivos naturais (LCCC, Q e LCCCQ) proporcionaram um aumento do propionato e redução da relação C2:C3 (Tabela 5)

Tabela 5. Concentrações de ácido acético, ácido propiônico e ácido (mmol/100ml) no líquido ruminal de bovinos com diferentes relações volumoso: concentrado com a inclusão de aditivos.

Rel. V:C	Aditivos				EPM	P-valores		
	M	LCCC	Q	LCCCQ		Aditivo	Rel. V:C	Interação
Ácido acético								
20	9,29Abc	8,344Ac	8,999Ab	8,981Ab				
35	10,21Babc	11,681Aab	9,865Bab	7,605Cc				
50	9,35ABbc 11,21ABa	6,874Cd	8,18ABCb	6,952BCc	0,1918	0,3773	<0,0001	<0,0001
65	b	11,08ABab	10,1818Bab	11,421ABab				
100	8,813Bc	10,132Ab	10,027Aab	10,205Aab				
Ácido propiônico								
20	5,814Ba	7,984ABcd	7,921ABbc	8,715ABbc				
35	7,167Ca	14,729Aa	11,644Bab	10,106Babc				
50	5,328Aa	5,651Ac	6,070Ac	6,064Ac	0,3137	0,4214	<0,0001	<0,0001
65	7,465Ba	10,231Abcd	9,811Aabc	11,982Aab				
100	7,081Ba	10,831Aabc	11,470Aab	9,933Aabc				
Ácido butírico								
20	0,913Aab 0,940ABa	0,691Aab	0,779Aa	0,768Aa				
35	b	0,861ABab	0,729ABa	0,583Ba				
50	0,961Aab	0,571Bb	0,600Ba	0,578Ba	0,0205	0,5322	0,0098	0,0200
65	1,095Aab	0,820Bab	0,713Ba	0,814Ba				
100	0,789Ab	0,749Aab	0,664Aa	0,804Aa				
C2:C3								
20	2,147	1,105	1,260	1,085				
35	2,797	0,861	0,923	0,795				
50	2,407	1,316	1,350	1,180	0,0957	<0,0001	0,9839	0,9962
65	2,384	1,116	1,040	0,993				
100	2,796	0,978	0,880	1,058				
Média	2,506A	1,0755B	1,092B	1,022B				

Médias com letras diferentes dentro da mesma linha diferem entre si pelo teste de tukey. Médias com letras minúscula dentro da mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey ( $p<0,05$ ).

Para a produção de gases, foi verificado efeito da relação V:C ( $P<0,001$ ) para os parâmetros A, C, D e AD; dos aditivos ( $P<0,05$ ) para o parâmetro C e da interação dos fatores principais ( $P<0,05$ ) para o parâmetro AD (tabela6).

Tabela 6. Parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com diferentes dietas experimentais.

Rel. V:C	Aditivos				Médias	EPM	P-valores		
	M	LCCC	Q	LCCCQ			Aditivo	Rel.V:C	Interação
Parâmetro A – Produção de gás da fração rápida (mL gás/g)									
20	0,288	4,873	0,425	0,123	1,43B				
35	9,972	5,882	0,425	2,628	6,59A				
50	6,486	3,963	9,104	6,408	6,49A	0,4822	0,5834	0,0002	0,1053
65	4,797	5,393	3,591	6,264	5,01A				
100	3,222	3,449	3,538	3,657	3,47AB				
Médias	4,95	4,71	4,91	3,82					
Parâmetro B – Taxa de produção da fração A (/h-1)									
20	0,153	0,183	0,066	0,109	0,12				
35	0,055	0,097	0,150	0,237	0,13				
50	0,145	0,119	0,047	0,143	0,11	0,0104	0,6986	0,8487	0,3425
65	0,093	0,106	0,141	0,098	0,11				
100	0,153	0,148	0,138	0,123	0,14				
Médias	0,12	0,13	0,11	0,14					
Parâmetro C – Lag time (horas)									
20	3,240	9,320	6,442	5,242	6,06AB				
35	3,463	5,162	2,904	3,018	3,63BC				
50	0,182	8,188	0,002	0,002	2,09C	0,5082	0,0105	<0,0001	0,0914
65	8,775	6,073	8,483	5,931	7,32A				
100	7,569	7,463	7,014	6,168	7,05A				
Médias	4,65AB	7,24A	4,97AB	4,07AB					
Parâmetro D – Produção de gás da fração lenta (mL gás/g)									
20	1,086	7,453	0,958	0,548	2,51B				
35	5,920	7,689	6,998	6,998	6,90A				
50	6,995	4,549	9,999	9,999	7,87A	0,4753	0,5995	0,0007	0,0884
65	7,112	7,079	8,290	6,746	7,31A				
100	5,425	5,936	5,867	6,040	5,82AB				
Médias	5,31	6,56	6,42	6,06					
Parâmetro E - Taxa de produção da fração D (/h-1)									
20	0,001	0,050	0,003	0,047	0,03				
35	0,031	0,024	0,034	0,028	0,03				
50	0,026	0,037	0,006	0,044	0,03	0,0026	0,0514	0,2721	0,0795
65	0,035	0,034	0,033	0,032	0,03				
100	0,042	0,039	0,039	0,038	0,03				
Médias	0,03	0,03	0,02	0,04					
Produção cumulativa (A + D) de gases									
20	1,37Bb	12,32Aa	1,383BBc	0,67Bb	3,94				
35	15,89Aab	13,57Aa	14,89Aab	9,63Aa	13,49				
50	13,48ABa b	8,512Ba	19,10ABab	16,41ABa	14,37	0,808	0,5161	<0,0001	0,0007
65	11,91Aab	12,47Aa	11,88Aab	13,01Aa	12,32				
100	8,65Aab	9,39Aa	9,41Ab	9,69Aa	9,28				
Médias	10,26	11,25	11,33	9,88					

A=Parâmetro A – Produção de gás da fração rápida (mL gás/g); B= Parâmetro B – Taxa de produção da fração A (/h-1); C=Parâmetro C – Lag time (horas); D= Parâmetro D – Produção de gás da fração lenta (mL gás/g); E= Parâmetro E - Taxa de produção da fração D (/h-1); AD= Produção cumulativa (A+D) de gases.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que independente da relação volumoso com concentrado na dieta, a inclusão da quitosana associada ou não ao LCCC aumentou a DIVMO. Quando avaliado sobre a DIVMS e a DIVFDN, a quitosana aumentou a digestibilidade da FDN, porém reduziu a DIVPB. Esse resultado pode ser explicado pelas alterações nos padrões de fermentação ruminal, em que a utilização da quitosana (>85% de desacetilação) tende a reduzir a atividade dos protozoários em até 56%, o que favorece a produção das bactérias no rúmen e, conseqüentemente, a digestão dos nutrientes (BELANCHER et al., 2015).

Jacaúna (2016) analisando a inclusão de diferentes níveis de quitosana *in vitro* encontrou aumento da digestibilidade da MS para todas as dietas na dose 371 mg/L, associado a redução da digestibilidade *in vitro* da PB, como observado neste trabalho em que a inclusão da quitosana reduziu a DIVPB. Estes dados corroboram com os dados apresentados neste trabalho.

A PB é um fator limitante para o crescimento dos microrganismos, desta forma, à medida que há aumento em sua digestibilidade, há um maior fornecimento de nitrogênio para a síntese microbiana os quais são responsáveis pela degradação dos compostos fibrosos (DETMANN et al., 2009). Da mesma forma, o aumento na degradabilidade da proteína da dieta pode não ser tão interessante, pois resulta em maior produção de amônia no líquido ruminal e possivelmente, maiores serão as perdas de compostos nitrogenados via sistema urinário na forma de ureia (RUSSEL et al., 1992).

A inclusão do LCCC associado ou não com a quitosana, proporcionou redução da DIVMS. Contudo, a adição do LCCC e o aumento do volumoso na dieta proporcionaram maior DIVFDN e DHCEL, disponibilizando maior quantidade de energia para o animal. Quando avaliado sobre a DIVPB apresentou menor digestibilidade. A redução da DIVPB promove maior retenção do nitrogênio e aumenta a quantidade de aminoácidos no intestino delgado, resultando em maiores quantidades de aminoácidos para reprodução, músculo e a proteína do leite (VAN DER WERF et al., 1996). No entanto Díaz (2013), observou até o nível de inclusão de 0,5 g/kg de MS de LCCC aumento na DIVMS, verificando uma queda acima deste valor.

A digestibilidade *in vitro* da fibra em detergente ácido reduziu com o aumento do concentrado na dieta. Tal fato era esperado, uma vez que as dietas com alto concentrado apresentou menor percentagem de FDA.

OLCCC e seus subprodutos possuem em sua composição lipídios fenólicos (anacárdico, cardol e cardanol) que quando adicionado em dietas para ruminante exercem papel antimicrobiano, provocando mudança no ecossistema ruminal, já que por



possuir propriedades anfipáticas permite interagir com os lipídios presentes nas membranas bacterianas, provocando o aumento da permeabilidade da membrana e, conseqüente fuga dos componentes citoplasmáticos resultando na morte da célula microbiana. Esses aditivos agem principalmente nas bactérias Gram-positiva, responsáveis pela produção de metano, melhorando assim a utilização da energia e proteína dos alimentos pelas bactérias Gram-negativas (KUBO et al., 1991; BURT et al., 2004).

O consumo, digestibilidade, taxa de passagem, estado corporal do animal ruminação e alimentação e a produtividade pode ser influenciado pelo tipo de alimentação ao qual o animal recebeu, neste caso, o conteúdo de fibra dos alimentos é altamente correlacionado com estes fatores e podendo ser utilizada para estabelecer limites máximos de ingredientes nas rações fazendo o controle de alimento (MERTENS, 1992), no entanto, quando fornecida em alta proporção pode limitar o consumo do animal (MINSON, 1990).

A inclusão do LCCC e LCCCQ apresentou ponto máximo de digestibilidade com a inclusão de 65% e 67,38% respectivamente de volumoso na dieta, mas superior ao constatado por Osmari (2013) que foi de 63,86%. Os aumentos verificados na digestibilidade da fibra com o uso do LCCC e LCCCQ parecem estar relacionados à melhor atividade das bactérias celulolíticas.

O pH ruminal manteve-se acima de 6,0 e as concentrações de  $N-NH_3$  acima de 10(mg/dL), dentro da faixa ótima de atuação da atividade dos microrganismos (STROBEL & RUSSEL, 1986). Para os parâmetros de  $N-NH_3$  foi observado um aumento na quantidade de amônia com o tempo de coleta, em que, os valores máximos obtidos foram menores para dietas com maior proporção de concentrado, o que sugere que teve uma maior utilização da amônia para o crescimento dos microrganismos. Isto era esperado, já que a maior quantidade de concentrado reduz as concentrações de amônia no rúmen (CHAPAVAL et al., 2008).

De acordo com Strobel & Russel (1986), valores de pH abaixo de 6,0 podem inibir a atividades dos microrganismos ruminais, afetando a eficiência da síntese de proteína bruta microbiana. Chapaval et al. (2008) também observaram uma redução na concentração de  $N-NH_3$  ruminal com o aumento do concentrado na dieta.

Desta forma, pode-se observar que LCCC e/ou quitosana, atuam como aditivo e desempenham um papel importante na manutenção do pH e do nitrogênio do líquido ruminal de bovinos, podendo ser substituídos pelos antibióticos ionóforo.

Osmari (2013), avaliando líquido da casca da castanha de caju associado a fontes de nitrogênio não proteico na alimentação de bovinos confinados com a inclusão LCCC nas quantias de 300 (0,03%), 600 (0,06%) e 1200 (0,12%) mg/kg, verificou que com exceção do

pH e da digestibilidade ruminal do EE, nenhuma outra variável sofreu variação significativa com o aumento das doses de LCCC.

Neste trabalho, foi verificado que o líquido da casca da castanha de caju e/ou a quitosana proporcionaram aumento na concentração do propionato e redução da relação acetato:propionato. O aumento na concentração do propionato demonstra que a inclusão dos aditivos naturais modifica o ambiente ruminal favorecendo a maior produção de energia para o animal. Segundo Seal & Reynolds (1993), o aumento do propionato implica em maior concentração de glicose no sangue, resultado do estímulo e liberação da insulina no sangue pelo propionato, o que gera maior quantidade de energia para o animal.

O aumento do concentrado na dieta proporcionou uma maior digestibilidade dos nutrientes, resultando em uma maior produção de gás da fração rápida (parâmetro A ml/gás/g). A maior produção da fração rápida está relacionada ao menor tempo de fermentação do concentrado. O aumento do volumoso na dieta proporcionou uma maior produção de gás da fração lenta (parâmetro D ml/gás/g). A produção cumulativa de gases (A+D) quando comparada entre os aditivos verificou efeito similar, no entanto, o aumento do concentrado na dieta proporcionou um maior acúmulo de gás.

A produção de gases está diretamente relacionada com a atividade dos microorganismos ruminais e o tipo de alimento, podendo ser medida a intervalos curtos, permitindo dessa forma, verificar passo a passo a atividade dos microorganismos ruminais sobre o alimento consumido (NEIVA JUNIOR et al., 2010). Quanto maior a quantidade de amido na dieta maior será a degradação do alimento, desta forma, a maior produção de gases está relacionada a uma maior fermentação dos carboidratos (LUZ et al., 2014).

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados observados nos experimentos demonstraram que a quitosana e LCCC, isoladamente, adicionados a dieta de ruminantes como aditivos moduladores da fermentação ruminal favorecem o aproveitamento dos nutrientes da dieta e resulta em efeitos positivos na digestibilidade dos nutrientes, possibilitando substituir os antibióticos ionóforos. No entanto, quando trabalhado em conjunto reduz a digestibilidade, podendo comprometer o desempenho dos animais.

A adição o LCC, Q e do LCCQ em dietas para ruminantes mantém o pH acima de 6,0 e as concentrações de N-NH<sub>3</sub> acima de 10 mg/dL o que favorece a atividade dos microorganismos ruminais. A inclusão do aditivo quitosana e/ouLCCC aumenta a produção de ácido propiônico e reduz a relação C2:C3, ocasionado o aumento da produção de energia para o animal. O líquido da casca da castanha de castanha associado ou não a quitosana não afeta a cinética da fermentação ruminal, no entanto, o aumento do concentrado resulta em maior produção de gás da fração rápida, ao contrário, o aumento do volumoso aumenta a produção de gás da fração lenta.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 'Official methods of analysis.' 17th edn. **Association of Official Analytical Chemists**: Arlington, VA, 2000.
- ARAÚJO, A.P.C., VENTURELLI, B.C., SANTOS, M.C.B., GARDINAL, R., CÔNSOLO, N.R.B., CALOMENI, G.D., FREITAS, J.E., BARLETTA, R.V., GANDRA, J.R., PAIVA, P.G., RENNÓ, F.P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. *Animal Feed Science Technology*, v.206, p.114-118, Aug.2015.
- BELANCHER, A., RAMOS-MORALES, E., NEWBOLD, C.J., *In vitro* screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Journal Science Food Agriculture*, v.96, n.9, p.3069-3078, 2015.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; FRASER, G. R.; COLOMBATTO, D.; MCALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K. A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science Technology*. v. 145, p.209–228, 2008
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, p.223-253, aug.2004.
- CHAPAVAL, L.; MELOTTI, L.; ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVINDO, C.S.; REGO, J.P.A. Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*., v. 9, n.1, p. 18-28, jan/mar, 2008.
- DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; MANTOVANI, H. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SAMPAIO, C. B.; SOUZA, M. A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K. S. C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. *Livestock Science*, v. 126, n. 1-3, p. 136-146, 2009.
- DIAZ, T.G. Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da casca da castanha do caju em dietas para ruminantes. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose-response effects of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of mixtures differing in forage-to-concentrate ratios. *Journal Animal Feed Science and Technology*, v.151, p. 215-227, may.2009.
- GUSTAFSON, R. H.; BOWEN, R. E. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal Applied Microbiology*, v. 83, p. 531–541, 1997.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* matter digestibility for ten feeds. *Journal Dairy Science*, 2(8):1791-1794, 1999.
- JACAÚNA, A. G. Avaliação *in vitro* da quitosana como aditivo em dietas para ruminantes. 2016. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourado, Dourados-MS.
- KUBO, I.; HIMEJIMA, M. Anethole, a synergist of polygodial against filamentous microorganisms. *Journal Agriculture Food Chemistry*, vol.39, p.2290-2292, 1991.

LUZ, Y.S.; FIGUEIREDO, M.P.; OLIVEIRA, F.M.; BERNARDINO, F.S.; NOVAES, E.J.; ROSEIRA, J.P.S. Cinética da fermentação ruminal in vitro de dietas contendo palma forrageira enriquecida com ureia e suplementadas com diferentes fontes de amido. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1501-1514, maio/jun. 2014.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. *Anais...* Lavras: UFLA, SBZ, v.29, p.188-219, 1992

MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. Academic Press, Inc., New York, 1990. MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

NEIVA JÚNIOR, A. P.; SILVA FILHO, J.C.; VAN CLEEF, E.H.C.B.; PINTO, J.C.; LUIZ, A.A.; TAVARES, V. B; Avaliação das silagens de capim-elefante aditivadas com nabo forrageiro, pinhão manso e tremoço, pela técnica de produção de gases. *Ciência e Agrotecnologia*, V.34, n.4, p. 1024-1030, 2010.

OSMARI, M.P. Líquido da casca da castanha de caju associado a fontes de nitrogênio não proteico na alimentação de bovinos. 2013.73f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) - Universidade estadual de Maringá, Maringá-PR.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, D.J.; FOX, D.G. VAN SOEST, P. J., SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, v.70, n.12, p.3551-3581, 1992.

SEAL, C. J.; REYNOLDS, C. K. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutr. Res.Rev.*, v.6, p.185, 1993.

SENEL, S.; MCCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Review*, v. 56, p. 1467-1480, 2004.

SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M; Higuchi K, Kobayashi Y, Takenaka A, Nagashima K, Mochizuki M, Kobayashi Y. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *Journal of Dairy Science*, v. 95, p 5308-531, 2012.

STROBEL, H.J.; RUSSELL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science*. v.69, n.11, p.2941-2947, 1986.

TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal British Grassland Society*, v.18, p.104-111, 1963.

VAN DER WERF. H. M.G.; MATHIJSEN, E, W.J.M.; HAVERKORT, A.J. The potencial of hemp (*Cannabis sativa* L.) For sustainable fibre production: a crop physiological appraisal. *Ann. Appl. Biol.*, 129, 109-123, 1996.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A monensina, apesar de apresentar resultados satisfatórios na alimentação de ruminantes, alguns países têm optado por utilizar aditivos naturais na alimentação destes animais, devido o possível aparecimento de bactérias resistentes capazes de provocar danos à saúde humana.

A utilização de quitosana e do líquido da casca da castanha de caju como aditivos naturais na alimentação de bovinos tem demonstrado efeitos satisfatórios sobre o ambiente ruminal, porém até o momento poucos estudos foram realizados com a utilização destes aditivos. Contudo, vale ressaltar as dificuldades na obtenção, fornecimento e o valor comercial destes produtos.

A quitosana é composto natural, não tóxico, biodegradável e encontra-se disponível no mercado apresentando um aspecto de um pó de tonalidade amarelo-claro. Ao manusear o produto é necessário bastante cautela quanto a quantidade a ser fornecida.

O líquido da casca da castanha de caju apresenta na sua composição o cardol, cardanol e ácido anacárdio que destaca por possui potencial antimicrobiano e não ser tóxico aos animais. No entanto, por ser um produto líquido a necessidade de recipiente para seu transporte e armazenamento. Deve ser armazenado em local seco com temperatura ambiente e longe da luz.

Durante o experimento, quando avaliado o líquido da casca da castanha de caju em conjunto com a quitosana, foi verificado redução na digestibilidade dos nutrientes da dieta. A redução na digestibilidade pode estar relacionado a quantidade da dose ou a atividade de inibição destes compostos. Desta forma, é necessário que novos estudos sejam realizados para identificar a dose ótima da associação destes dois aditivos na alimentação de ruminantes.

Sugestões gerais: