



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

**QUITOSANA EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS EM PASTEJO**

ALINE ORTEGA CAMACHO DIAS

Dourados - MS

2016



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

## **QUITOSANA EM SUPLEMENTO PARA BOVINOS EM PASTEJO**

ALINE ORTEGA CAMACHO DIAS

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e  
Buschinelli de Goes

Co-orientador: Jefferson Rodrigues  
Gandra

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

Dourados - MS

2016

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

|       |  |
|-------|--|
| D541q | <p>Dias, Aline Ortega Camacho.</p> <p>Quitosana em suplementos para bovinos em pastejo. / Aline Ortega Camacho Dias. – Dourados, MS : UFGD, 2016.</p> <p>38f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Parâmetros ruminais. 2. Consumo. 3. Suplementação. I. Título.</p> |
|-------|--|

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

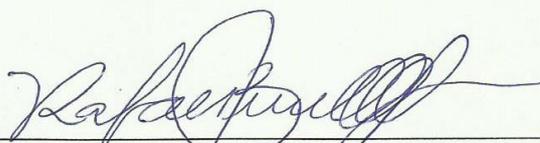
**“QUITOSANA EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS EM PASTEJO”**

por

**ALINE ORTEGA CAMACHO DIAS**

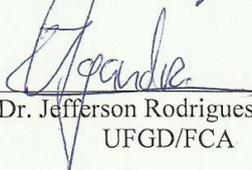
Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título  
de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovada em: 25/02/2016



---

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



---

Dr. Jefferson Rodrigues Gandra  
UFGD/FCA



---

Dr. Luetano da Silva Cabral  
UFMS/DZER

"Defeitos podem ser sementes de virtudes, se bem cuidados. A beleza de um jardim depende da qualidade do solo. Estercos são realidades precárias, mas são eles que potencializam as plantações. O precário que não vemos é o que impulsiona o crescimento da rosa que admiramos." (Padre Fabio de Melo)

## AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar meus passos e minhas decisões, por ser a força que me motiva a viver e lutar por meus sonhos e ideais.

À minha família, meus pais (Sipriano e Marlei) e minhas irmãs (Anielli e Gabrielli) por me apoiarem, incentivarem financeiramente e me aconselharem em todas as decisões. Sou privilegiada por te vocês como alicerce.

Ao Thiago (meu noivo) por dividir comigo minhas angústias, decepções e pelo companheirismo, obrigada por dedicar seu tempo de descanso para me fazer companhia no desenvolvimento deste trabalho.

Aos todos meus amigos que são minha fonte inesgotável de motivação e incentivo.

Ao meu orientador, Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes e sua família, primeiramente pela oportunidade de me aceitar como orientada e de realizar esse projeto, por toda paciência e pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os professores envolvidos no programa de pós-graduação em Zootecnia, pela formação e oportunidade de realização deste curso, que só vem a acrescentar nas profissões das ciências agrárias. Meu agradecimento em especial ao Dr Jefferson Rodrigues Gandra, que sempre se demonstrou disponível para me auxiliar, tirando dúvidas e me aconselhando a não desistir.

Aos funcionários e colaboradores dos laboratórios da universidade, por toda dedicação e atenção durante as análises realizadas.

Aos alunos da graduação do curso de zootecnia (integrantes do grupo de pesquisa NERU), obrigada por todo auxílio e dedicação, sem vocês o desenvolvimento deste trabalho não possível, em especial a Raquel, Charles e Heitor pela pró atividade de estarem presentes durante todo o período experimento e durante as análises laboratoriais.

A suplementar Nutrição animal, pela doação do suplemento utilizado no experimento.

Obrigada a todos, pois à sua maneira, todos contribuíram.

## **BIOGRAFIA**

Aline Ortega Camacho Dias, filha de Sipriano Moreno Dias e Marlei Ortega Camacho Morello Dias, nasceu em 16 de Fevereiro de 1991, na cidade de Dourados-MS.

Em fevereiro de 2008 ingressou no curso de Medicina Veterinária pela Faculdade Anhanguera de Dourados, graduando-se em Julho de 2012 e exercendo suas funções como veterinária autônoma com ênfase em gestão agropecuária e reprodução animal em parceria com a Coimbra Consultoria Pecuária até Janeiro de 2014.

Em março de 2014 iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 25 de fevereiro de 2016.

## SUMÁRIO

|  | páginas    |
|--|------------|
| <b>RESUMO</b> .....                              | <b>VI</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                            | <b>VII</b> |
| <b>CAPITULO 1</b>                                |            |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                       | <b>1</b>   |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....            | <b>3</b>   |
| 2.1. Suplementação proteica na seca.....         | <b>3</b>   |
| 2.2. Aditivos na alimentação de ruminantes ..... | <b>4</b>   |
| 2.3. Quitosana .....                             | <b>5</b>   |
| <b>3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>             | <b>10</b>  |
| <b>4. OBJETIVOS</b> .....                        | <b>12</b>  |
| 4.1. Objetivos Gerais.....                       | <b>12</b>  |
| 4.2. Objetivos Específicos.....                  | <b>12</b>  |
| <b>CAPITULO 2</b>                                |            |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....                          | <b>15</b>  |
| <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                  | <b>16</b>  |
| <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....              | <b>21</b>  |
| <b>CONCLUSÃO</b> .....                           | <b>31</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....          | <b>32</b>  |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....                | <b>38</b>  |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> Disponibilidade de forragem de matéria seca verde (Ton MSVerde/ha), colmo (%), folha (%), material senescente (%) e matéria seca potencialmente digestível (MSpd %).....  | 21 |
| <b>Tabela 2.</b> Composição bromatológica da extrusa, na base da matéria seca (%MS) <i>Urochloa brizantha</i> (syn. <i>Brachiaria brizantha</i> ), ingerida pelos animais.....   | 22 |
| <b>Tabela 3.</b> Valores médios de consumo e digestibilidade aparente total da MS de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana.....  | 23 |
| <b>Tabela 4.</b> Valores médios de pH ruminal e N-NH <sub>3</sub> (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana.....  | 25 |
| <b>Tabela 5 -</b> Médias da eficiência de síntese Microbiana de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana.....   | 27 |
| <b>Tabela 6.</b> Balanço de Nitrogênio de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana.....   | 28 |
| <b>Tabela 7.</b> Valores médios para concentração de uréia e creatinina na urina, concentração de uréia e creatinina sanguínea, excreção de uréia e creatinina na urina, excreção de creatinina, uréia e creatinina plasmática, excreção fracional de uréia..... | 29 |
| <b>Tabela 8.</b> Estimativas de consumo, intervalos de confiança assintóticos e erro padrão assintótico dos parâmetros do modelo de “Brody” do consumo de suplemento concentrados com quitosana.....   | 30 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Estrutura química da quitosana.....   | 6  |
| <b>Figura 2.</b> Valores médios de pH ruminal de novilhos suplementados com quitosana e em função dos tempos de coleta. ( $Y= 11,0 + 0,007x - 0,000004x^2$ , $r^2=0,35$ )..... | 25 |
| <b>Figura 3.</b> Valores médios de N-NH <sub>3</sub> (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana em função do tempo de coleta.....                      | 26 |
| <b>Figura 4.</b> Padrões diários de consumo de suplementos proteicos com diferentes níveis de quitosana, fornecidos à bovinos em pastejo (g/min).....                          | 31 |

## RESUMO

DIAS, Aline Ortega Camacho, Universidade Federal da Grande Dourados, DouradosMS, Janeiro de 2016. **Quitosana em suplementos para bovinos em pastejo**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-orientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

Objetivou-se avaliar a adição de quitosana como modular da fermentação em suplementos para bovinos a pasto. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350 kg mantidos em piquetes individuais de *Urochloa brizantha* e distribuídos em quadrado latino 5x5. Os animais foram suplementados diariamente na proporção de 0,15% peso corporal (PC). A quitosana (85% desatilação) foi fornecida em associação a um suplemento mineral proteico 30% (43,5% de milho, 4% de farelo de soja, 8,5% ureia, 44% de mineral) balanceado segundo NRC (2000). As doses de quitosana utilizadas foram de 0; 400; 800; 1200 e 1600 mg / kg de MS. A disponibilidade total de forragem foi realizada no primeiro dia de cada período experimento. O consumo voluntário de matéria seca foi determinado por meio da relação entre a quantidade de matéria seca fecal excretada e com o uso do indicador interno (FDAi). A coleta do líquido ruminal para determinação do pH e da amônia (N-NH<sub>3</sub>) ruminal foi realizada diretamente no rúmen nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento do suplemento. A adição de quitosana nos suplementos proporcionou efeito quadrático para o consumo total de matéria seca dos animais, excreção de uréia e para a síntese de proteína microbiana. Não houve efeito da inclusão de quitosana sobre o pH ruminal dos animais, obtendo média entre os tratamentos de 6,5, porém houve efeito quadrático para as concentrações de N-NH<sub>3</sub>, onde o nível de inclusão ótimo foi de 875 mg/kg MS. A inclusão de quitosana proporcionou aumento na digestibilidade da MS e no incremento proteico dos animais, o que estaria de acordo com os teores de NNH<sub>3</sub>. A quitosana pode ser adicionada aos suplementos para animais a pasto em 900mg/kg de MS.

**Palavras-Chave:** parâmetros ruminais, consumo, suplementação

## ABSTRACT

DIAS, Aline Ortega Camacho, Dourados Federal University, DouradosMS, February 2016. **Chitosan supplements for cattle grazing.** Advisor: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-Advisor: Jefferson Rodrigues Gandra.

The objective was to evaluate the addition of chitosan as modular fermentation in supplements for grazing cattle. five (5) cannulated crossbred steers rumen with an average weight of 350 kg on individual paddocks *Urochloa brizantha* and distributed in Latin 5X5. Os square animals were supplemented daily at the rate of 0.15% body weight (BW) were used. Chitosan (85% desatilação) was provided in combination with a proteinaceous mineral supplement 30% (43,5% corn, 4% soybean meal, 8.5% urea, 44% mineral) second balanced NRC (2000) . The chitosan doses used were 0, 400, 800, 1200 and 1600mg of chitosan per kg DM. The total forage availability was held on the first day of each experiment period. Voluntary intake of dry matter was determined by the ratio between the amount of excreted faecal dry matter and the use of internal display (ADFi). The collection of rumen fluid to determine the pH and ammonia (NH<sub>3</sub>) rumen was carried directly into the rumen at times 0, 2, 4, 6 and 8 hours after delivery of the supplement via rumen cannula. The addition of chitosan in supplements provided quadratic effect on the total dry matter intake of the animal, urea excretion rate and microbial protein synthesis (P <0.05). There was no effect of the inclusion of chitosan on rumen pH of animals (P> 0.05), obtaining average between treatments of 6.5, but there was a quadratic effect (P <0.05) for N-NH<sub>3</sub> concentrations, where the level of great inclusion was 875 mg / kg DM. The inclusion of chitosan provided an increase in digestibility of the protein in DM and growth of animals, which estraria according to NNH<sub>3</sub> contents. Chitosan can be added to supplements for animals to pasture 900mg / kg DM.

**Keywords:** ruminal parameters, consumption, supplementation

## **CAPÍTULO 1**

## 1. INTRODUÇÃO

Os custos de alimentação é o principal gargalo na bovinocultura de corte intensiva hoje, sendo extremamente importante nos custos finais de produção, determinando na maioria das vezes a competitividade do sistema, sendo assim, a busca para reduzir custos com a alimentação tem sido um dos maiores objetivos na produção animal atual. Os aditivos começaram a ser utilizados na pecuária de corte intensiva com o objetivo de trazer melhoria no desempenho, pois os benefícios dos aditivos estão relacionados não somente as condições nutricionais, mas principalmente ao ponto de vista econômico.

Aditivo para produtos destinados à alimentação animal é definido como substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano (Instrução Normativa 15/2009/MAPA).

Há uma ampla lista de produtos classificados como aditivos como opções para o produtor e esses produtos atuam por diferentes mecanismos, alterando a fermentação ruminal, estabilizando o ambiente ruminal ou como uma proteção do trato gastrointestinal contra agentes patogênicos. Dentre os aditivos liberados para o uso no Brasil estão entre os principais os ionóforos, antibióticos não ionóforos, leveduras e os óleos/lipídeos.

Com base no “Princípio da Precaução”, a União Europeia (UE), em 1999, banuiu a utilização de antibióticos como promotores de crescimento e em 2006, proibiu o uso de ionóforos, baseado na “postura preventiva” das autoridades. Por este motivo, a substituição de antibióticos, por substâncias alternativas vêm de encontro às necessidades dos consumidores. É plausível admitir que exportadores mundiais de carne serão pressionados a seguir esta decisão, visto que, a União Europeia é uma grande formadora de opinião. Frente ao duelo entre questões econômicas e de saúde pública, há crescente interesse científico por alternativas que mimetizem os efeitos dos ionóforos, sendo seguras ao consumo humano e, ao mesmo tempo, aceitas pela sociedade consumidora. Hoje a comunidade científica ainda está buscando aditivos alternativos que possam melhorar a função ruminal e teoricamente para manipular o ecossistema microbiano.

Recentemente, foi proposto por Goiri et al. (2009) a utilização de quitosana para modular a fermentação e digestão ruminal, com resultados promissores. A utilização de quitosana na nutrição de ruminantes na literatura brasileira se resume em fazer comparações aos ionóforos

comerciais, pelas suas semelhanças na forma de ação. Esses resultados sugerem efeitos satisfatórios, demonstrando que quitosana possui potencial para ser utilizada na produção animal e ainda tem muito a ser explorada na nutrição de ruminantes.

Busca-se com este trabalho estudar a quitosana como um produto alternativo na nutrição animal, que traga melhorias nas condições de desempenho animal e que também influencie no fator econômico, pois para a produção do país atender a demanda de mercado se faz necessário aperfeiçoar a produção atendendo as exigências dos consumidores.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Suplementação Proteica na Seca**

O Brasil se apresenta como um dos países com grande capacidade para se produzir alimentos e atender as demandas de mercado, devido a sua extensão territorial, condições climáticas e solos férteis. As pastagens são à base da alimentação de ruminantes nos trópicos, sendo um recurso natural de baixo custo, mas que sofre variações tanto quantitativas como qualitativas no decorrer do ano, que pode interferir na produção pecuária.

A bovinocultura de corte brasileira tem sua produção concentrada em sistemas de pastejo e, portanto, dependente das variações climáticas e ambientais que determinarão à produção de forragem. Devido a esta realidade de produção sazonal, se faz necessário a suplementação dos bovinos, principalmente na estação seca, pois a qualidade das forrageiras decresce rapidamente em digestibilidade e em conteúdo total de nitrogênio (N), o que leva os animais a perda excessiva de peso, constituindo o principal fator limitante para a produção animal (LENG, 1984).

Na seca a produção das pastagens e sua qualidade são prejudicadas. A massa de forragem disponível neste momento do ano é insuficiente e de menor qualidade (baixo teor de proteína) para ganho de peso e serve mais para manter os animais, além de diminuir o suporte do pasto. Para conseguir ganho de peso nessa época, mesmo que pouco, recomenda-se a suplementação proteica do seu rebanho. Porém não se pode confundir suplementação com utilização de aditivos. Os aditivos são usados para um ajuste “fino”, quando a dieta já é suficiente para suprir suas necessidades nutricionais e se quer obter condições favoráveis a um maior ganho de peso como, por exemplo, selecionar microrganismos benéficos à atividade ruminal aumentando a digestibilidade de nutrientes.

A suplementação, por sua vez, serve para adicionar algum nutriente que está em falta na dieta, no caso da oferta de um alimento de menor qualidade nutricional. Nas pastagens, na época da seca, o teor de proteínas é baixo em relação ao teor de carboidratos disponíveis. Nesse caso, a recomendação é utilizar-se da suplementação protéica, que consiste em misturar uma fonte de proteína natural, como farelo de soja ou de algodão ou de nitrogênio não proteico, como a uréia, ao sal mineral comum, constituindo o sal proteinado ou proteico.

Para obter eficiência produtiva, também se justifica a suplementação nos períodos das águas, visto que, as pastagens tropicais não conseguem atender as exigências nutricionais (EUCLIDES, 2000) dos bovinos, visando elevados ganhos de peso. Nesse sentido, uma dieta

composta apenas por forragem e mistura mineral proporciona ganhos de peso que aperfeiçoam os sistemas extensivos.

## 2.2. Aditivos na Nutrição de Ruminantes

Em uma produção animal, a alimentação equivale de 60 a 70% dos custos, e para que aconteça o fornecimento de um alimento proporcionalmente balanceado e nutricionalmente completo, este deve diminuir o estresse, as deficiências e melhorar o desempenho imunológico, a fim de produzir uma carcaça de qualidade para que se obtenha uma maior lucratividade. Como forma de assegurar que os nutrientes sejam ingeridos, digeridos, protegidos da destruição, absorvidos e transportados até as células do organismo, inclui-se na dieta alguns aditivos e concentrações muito boas, com o propósito de um melhor balanceamento e aproveitamento dos nutrientes do alimento.

Visando o aumento da melhoria na produção animal, pesquisadores e produtores encontraram como forma de tornar isso possível, a opção de mudar o foco da pesquisa em nutrição animal, passando do estudo do valor nutritivo dos alimentos para o estudo de processos fisiológicos do animal, procurando manipular e aprimorar a fermentação e o metabolismo ruminal com adição ou não de aditivos na dieta (CHALUPA, 1977; JENKINS *et al.*, 1989; JENKINS, FOTOUHI, 1990; WALLACE, 1994).

A adição de produtos capazes de controlar ou mudar o padrão de fermentação no rúmen, de forma a se obter maior teor de produção e/ou manter a saúde animal, vem se mostrando uma estratégia relevante na alimentação de animais. Esse aumento na produtividade dos animais ruminantes tem acarretado a busca por incrementos na capacidade dos animais em utilizarem o alimento consumido, tanto por melhorias na capacidade de digestão quanto por aumento na eficiência metabólica do hospedeiro e da microbiota ruminal.

O controle dos ingredientes da dieta de forma a se aumentar esses parâmetros, através da combinação correta de nutrientes tem ocasionado resultados expressivos ao passar dos anos, tendo como acabamento sistemas nutricionais cada vez mais complexos. Contudo, a melhoria na eficiência da utilização das rações também pode ser obtida através de aditivos que alterem determinados processos metabólicos ou condições fermentativas e absorptivas ao longo do trato digestório dos animais.

Com a globalização da economia, as exigências dos consumidores têm sido ampliadas, visando à saúde humana. Assim sendo, no tocante às proibições e ou liberalidades que tratam de diretrizes para as trocas de mercadorias, determinadas regras têm sido estabelecidas nos

macro regulatórios (Mercosul, Nafta, Pacto Andino, Mercado Comum Europeu e grandes mercados consumidores Ásia e Japão), no qual um dos pontos mais contraditórios são as diretrizes estabelecidas quanto aos aditivos utilizados na alimentação animal (BUTOLO, 2002).

Os aditivos podem ser classificados de diversas formas, de acordo com os critérios estabelecidos pelos órgãos reguladores. A Autoridade Europeia da Segurança do Alimento (EFSA) agrupou os aditivos na alimentação animal em cinco categorias referentes à sua função: aditivos tecnológicos (conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, adsorventes, aglomerantes, antiaglomerantes, antiulectantes, ulectantes, gelificantes e espessantes); aditivos sensoriais (corantes, flavorizantes, aromatizantes e palatilizantes); aditivos nutricionais (vitaminas, micro minerais, aminoácidos e uréia); aditivos zootécnicos (melhoradores da digestibilidade – enzimas e ácidos orgânicos; equilibradores de floraintestinal – probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, nutracêuticos; melhoradores de desempenho – antibióticos, ionóforos, repartidores de nutrientes, hormônios; botânicos – ervas, especiarias, extratos vegetais e óleos essenciais) e aditivos anticoccidianos ou coccidiostáticos.

Entre os aditivos mais utilizados na produção intensiva de bovinos estão os ionofóros, que compreendem um tipo de antibiótico, produzido principalmente por linhagens de bactérias do gênero *Streptomyces*. Entre os vários tipos de ionofóros existentes, apenas três possuem o registro com a devida autorização do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) para sua utilização no Brasil: a monensina sódica, lasalocida e salinomycin sódica. Sendo a monensina o mais estudado e utilizado no território nacional como um promotor de crescimento para animais confinados.

### 2.3. Quitosana

A quitosana (N-acetil-D-glucosamina de polímero) é um biopolímero natural derivado da desacetilação da quitina, o componente principal do exoesqueleto de crustáceos, algas, insetos e na parede celular de alguns fungos e bactérias, possui estrutura semelhante a celulose podendo atuar como um alimento funcional (SENEL et al., 2004). Como polímero biodegradável, carboidratos, não tóxico, a quitosana tem recebido muita atenção para o potencial diversificado de aplicações na medicina e preservação de alimentos devido às suas propriedades antimicrobianas. O nome "quitosana" não indica um único composto, mas sim

uma família de compostos em que cada produto possui diferente peso molecular e grau de acetilação.

A desacetilação da quitosana aumenta a sua solubilidade e sua bioatividade. A desacetilação da quitina dá origem a quitosana, composta predominantemente por unidades 2-amino-2- desoxi-D-glicopirranose (GlcN) unidas por ligações glicosídicas (1-4) (ROBERTS, 1992) (Figura 1).

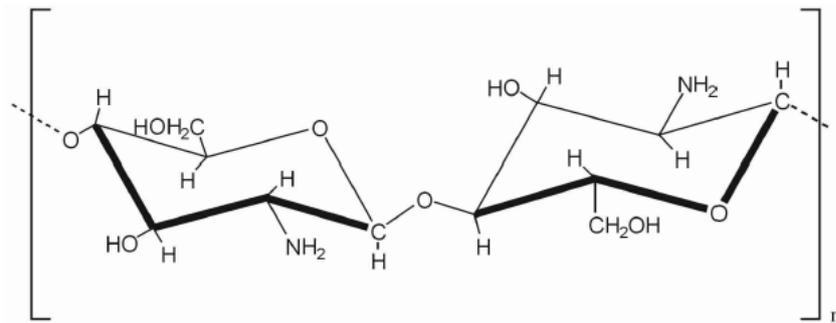


Figura 1: Estrutura química da quitosana

Não há muitos relatos quanto a descoberta dessa substância, segundo Roberts (1992), a quitina foi identificada pela primeira vez em 1811 em um estudo realizado com fungos. Inicialmente, observou-se que alguns fungos continham uma substancia distinta completamente das já encontradas nas paredes celulares vegetais. Já em 1823, essa substancia que se apresentava com caráter insolúvel recebeu o nome de “quitina”, 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 na formação da quitosana.

Quimicamente a quitina é um polissacarídeo com grupos acetil-laterais, com a desacetilação esses grupos laterais são modificados e a quitina torna-se quitosana. Com relação às propriedades físico-químicas, ela é um pó incolor, insolúvel em água, possui solventes orgânicos e se dissolve em ácidos minerais concentrados (ROBERTS, 1992).

Por se tratar de um biopolímero biodegradável, a quitosana tem recebido muita atenção, não apenas pelo seu grande potencial de aplicações nas diversas áreas, que ainda necessita de trabalhos que comprovem suas propriedades e características, mas também porque apresenta baixo custo de produção, por poder ser extraída a partir de matérias-primas abundantes e relativamente baratas como os subprodutos da indústria pesqueira.

Senel et al. (2004) menciona que a quitosana até o presente momento era apenas utilizada na medicina veterinária apenas como forma terapêutica, principalmente com ação antimicrobiana e uso tópico em curativos e bandagens. Devido sua atividade microbiana ser bem reconhecida contra diversas bactérias e fungos, GOIRI et al. (2009), propôs a utilização da quitosana como moduladora da fermentação ruminal de forma semelhante aos monogástricos, selecionando os microorganismos benéficos para o ecossistema ruminal, sendo o primeiro a avaliar a quitosana como modular ruminal em animais vivos, utilizou ovelhas não lactantes canuladas no rúmen, até então a literatura relatavam experimentos apenas “in vitro”.

A atividade antibacteriana da quitosana foi proposta pela primeira vez por Allan e Hardwiger (1979). De acordo com Tang et al. (2010), esse polissacarídeo possui amplo espectro de ação com doses mínimas inibitórias contra ambas bactérias, gram positivas e gram negativas. O mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana não é bem definido até o presente momento, mas têm sido sugeridas várias hipóteses, dentre a mais provável é a mudança na permeabilidade celular devido às interações entre a quitosana policatiônica e as cargas eletronegativas na superfície da célula. A quitosana interage com a superfície lipopolissacáridica (LPS) das bactérias gram negativas e da mesma forma com a fração peptidoglicana das bactérias gram positivas, ambas aniônicas. Entretanto, determinados estudos apontam que bactérias gram positivas são mais susceptíveis do que as bactérias gram negativas (WANG, 1992; NO et al., 2002; SENEL et al., 2004; KUMAR et al., 2005;).

A ligação da quitosana aos polímeros da parede celular causam efeitos secundários celulares por desestabilização e posterior interrupção da membrana. Além disso, quando ligada à membrana, a quitosana afeta as vias de geração de energia, provavelmente devido ao comprometimento da organização funcional da cadeia de transporte de elétrons, causando redução da oxigenação adequada e forçando as células à anaerobiose Raafat et al. (2009).

Devido a diversos relatos na literatura referentes ao uso da quitosana e seus benefícios, surgiram interesses específicos em utilizá-la como aditivo na nutrição de animais, naturalmente as pesquisas se voltaram para as classes de produção que geram maiores lucros na pecuária de corte e no comércio mundial, os ruminantes.

Primeiramente, a quitosana foi estudada como uma alternativa de fonte de nitrogênio para animais ruminantes, no entanto Fadel El-Seed et al., (2003), relataram que a quitosana não é degradada no rúmen indicando possível ação protetora contra a ação ruminal, possibilitando digestão no intestino delgado, conforme demonstrado por Hirano et al. (1990), em aves e coelhos.

Recentemente, a quitosana tem sido cogitada como possível moduladora da fermentação ruminal com finalidade de otimização da eficiência alimentar em ruminantes (GOIRI et al., 2009<sup>a</sup>; Belanche et al. 2015). No entanto o grau de desacetilação da quitosana pode alterar diretamente a sua atividade microbiana (Kong et al. 2008). Baseado nisso, Goiri et al. (2009c) utilizando seis diferentes graus de desacetilação da quitosana em ensaios “in vitro”, conferiu que a quitosana reduz a digestão e modifica o padrão de fermentação ruminal, tornando rotas energeticamente mais eficientes. O grau de desacetilação >95, reduziu a relação CH<sub>4</sub>:AGCC, sugerindo melhoras na fermentação ruminal pelo aumento da relação acetato: propionato, aumentando a quantidade de energia obtida por unidade de substrato fermentado.

Goiri et al., (2009b), ao avaliarem, dietas com alta proporção de foragem (80%), estes autores não observaram alterações na concentração total de AGCC e na proporção molar de acetato, redução da digestibilidade da matéria orgânica in vitro (DIVMO) e na concentração de butirato e de ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR). Já em relação a concentração de propionato, houve aumento em sua concentração para as maiores doses de quitosana, além de uma redução na relação C2:C3.

Na relação volumoso:concentrado na ordem de (50:50), Goiri et al., (2009c), relataram que o aumento da dose de quitosana não influenciou o total de AGCC e a proporção molar de acetato ou metano, porém diminuiu a DIVMO e a proporção molar de butirato e AGCR. Porém em dietas com alta proporção de volumosos, houve efeito da dose de quitosana com aumento da proporção molar de propionato e redução da relação C2:C3.

Goiri et al. (2010) avaliaram a utilização da quitosana em ovinos alimentados com 50% de feno de alfafa e 50% de concentrado, e não observaram efeito da quitosana na proporção molar de acetato, porém houve aumento da proporção molar de propionato e redução da relação acetato: propionato e da concentração de N-NH<sub>3</sub>.

Belanche et al. (2015), avaliando diferentes produtos naturais destacaram que uso de quitosana solúvel (>85% de desacetilação), alteraram os padrões de fermentação ruminal, e apresentaram um forte efeito anti protozoário, promovendo redução da atividade dos protozoários no rúmen em mais de 56%; alterando a produção de butirato e de propionato; reduzindo a metanogênese e a matéria orgânica fermentável.

Os padrões de fermentação apresentaram redução da concentração de H<sub>2</sub> o que reduziria a emissão de gás metano; possivelmente devido a menor atividade dos protozoários, e/ou alteração na população microbiana; produção de compostos não metanogênicos (ex:

Succinato, lactato e propionato) e ainda a atividade direta sobre as bactérias metanogênicas (Belanche et al., 2015).

Considerando os resultados obtidos com a utilização da quitosana, resultando em melhor padrão de fermentação e maior eficiência de utilização de energia no ecossistema ruminal, a utilização de tal composto na alimentação de bovinos deve ser explorada e melhor avaliada para que sejam estabelecidas as recomendações de sua utilização.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, C. R.; HADWIGER, L. A. The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying in cell wall composition. **Experimental Microbiology**, v.3, p.285-287,1979.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 15/2009 [acessado 2015 dez 15]. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>
- BELANCHE, A., MORALES, E.R., NEWBOLD, C. J., ***In vitro* screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation.** (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.7481, 2015.
- BUTOLO, J. E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal.** São Paulo: Campinas, 2002.
- CHALUPA, W. Manipulating Rumen Fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, vol. 45, p. 585-599,1977.
- DETMANN, E.; BARBOSA, A.M.;TEIXEIRA, R.M.A.; MARCONDES, M.I. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.905-911, 2007.
- EUCLIDES, V.P.B. Alternativas para a intensificação da produção de carne bovina em pastagem. Campo Grande: Embrapa gado de corte, 65p. 2000.
- EFSA, Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, **Relatório Anual 2009**, ISBN 978-92-9199-221-8, 70p. 2010.
- FADEL EL-SEED, A. N. M. A., KAMEL, H. E. M., SEKINE, J., HISHINUMA, M. AND HAMANA, K. Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. **Canadian Journal Animal Science**, v.83: 161–163, 2003.
- FURLAN, R. L; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. **Nutrição de ruminantes. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. 2 ed.** – Jaboticabal: Funep, 2011. 1- 25p.
- GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effects of chitosans on *in vitro* rumen digestion and fermentation of maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, p. 276-287, 2009a.
- GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effect of chitosan on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v. 152, p. 92-102, 2009b.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose response effects of chitosan on “in vitro” rumen digestion and fermentation mixtures differing in forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, n. 2, p. 215-227, 2009c.
- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 2, p. 749-755, 2010.
- HIRANO, S.; ITAKURA, C.; SEINO, H.; AKIYAMA, Y.; NONAKA, I.; KANBARA, N.; KAWAKAMI, T. Chitosan as an ingredient for domestic animal feeds. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1214–1221, 1990.

JENKINS, T. C. & FOTOUHI, N. Effects of lecithin and corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep. **Journal of Animal Science**. Champaign, v. 68, p. 460-466, 1990.

JENKINS, T. C.; GIMENEZ, T.; CROSS, D. L. Influence of phospholipids on ruminal fermentation in vitro and on nutrient digestion and serum lipids in sheep. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.67, p. 529-537, 1989.

KONG, M.; CHEN, X. G.; LIU, C. S.; YU, L. J.; JI, Q. X.; XUE, Y. P.; CHA, D. S.; PARK, H. J. Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. **Frontiers of Materials Science in China**, v. 2, p. 214–220, 2008.

KUMAR, A. B. V.; VARADARAJ, M. C.; GOWDA, L. R.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. **The Biochemical Journal**, v. 391, p. 167–175, 2005.

LIMA, H. L.; Parâmetros nutricionais em novilhos suplementados com torta de girassol em pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. MARANDU. Dourados MS; UFGD 2011. 76p. (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados, 2011.

NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 65–72, 2002.

OBEID, J.A.; **Desempenho e parâmetros nutricionais de bovinos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta**. Viscosa MG; UFV 2005. 60p. (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viscosa, 2005.

RAAFAT, D.; SAHL, H.G. Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey. **Microbial Biotechnology**, v.2, p.186–201, 2009.

RENNÓ, L.N.; **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa MG; UFV 2003. 252p. (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

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

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L.; Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

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

TANG, H.; ZHANG, P.; KIEFT, T. L.; RYAN, S. J.; BAKER, S. M.; WIESMANN, W. P.; ROGELJ, S. Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against gram-negative bacteria. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2562-2571, 2010.

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

WALLACE, R. J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2992-3003, 1994.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivos Gerais**

Avaliar a quitosana como modulador da fermentação ruminal de novilhos suplementados a pasto, a fim de se estabelecer o nível ideal de inclusão na dieta.

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar os parâmetros de fermentação ruminais, sanguíneos e a digestibilidade de nutrientes, de novilhos suplementados a pasto, com a inclusão de quitosana.
- Avaliar o consumo total de matéria seca, balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana de novilhos suplementados a pasto, com a inclusão de níveis crescentes de quitosana.

## Capítulo 2

### Quitosana em suplementos para bovinos em pastejo

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a adição de quitosana como modular da fermentação em suplementos para bovinos a pasto. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350 kg mantidos em piquetes individuais de *Urochloa brizantha* e distribuídos em quadrado latino 5x5. Os animais foram suplementados diariamente na proporção de 0,15% peso corporal (PC). As doses de quitosana utilizadas foram de 0; 400; 800; 1200 e 1600 mg / kg de MS. A quitosana (85% desatilação) foi fornecida em associação a um suplemento mineral proteico 30% (43,5% de milho, 4% de farelo de soja, 8,5% ureia, 44% de mineral). A avaliação total de forragem foi realizada no primeiro dia de cada período experimento. O consumo voluntário de matéria seca foi determinado por meio da relação entre a quantidade de matéria seca fecal excretada e com o uso do indicador interno (FDAi). A coleta do líquido ruminal para determinação do pH e da concentração de amônia (N-NH<sub>3</sub>) foi realizada diretamente no rúmen nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento do suplemento. A adição de quitosana nos suplementos proporcionou efeito quadrático no consumo total de matéria seca dos animais, excreção de uréia e na síntese de proteína microbiana. Não houve efeito da inclusão de quitosana sobre o pH ruminal dos animais, obtendo média entre os tratamentos de 6,5, porém houve efeito quadrático para as concentrações de N-NH<sub>3</sub>, onde o nível de inclusão ótimo foi de 875 mg/kg MS. A inclusão de quitosana proporcionou aumento na digestibilidade da MS e no incremento proteico dos animais, o que estaria de acordo com os teores amônia ruminal. A quitosana pode ser adicionada aos suplementos para animais a pasto em 900mg/kg de MS.

**Palavras-Chave:** parâmetros ruminais, consumo, suplementação

## **Chitosan in supplements for cattle grazed**

**Abstract:** The objective was to evaluate the addition of chitosan as modular fermentation in supplements for grazing cattle. Five (5) cannulated crossbred steers with an average weight of 350 kg on individual paddocks of *Urochloa brizantha* and distributed in 5x5 Latin square design. All the animals were supplemented daily at the rate of 0.15% body weight (BW) were used. Chitosan (85% desatilação) was provided in combination with a protein supplement with 30% CP (43,5% corn, 4% soybean meal, 8.5% urea, 44% mineral). The chitosan doses used were 0, 400, 800, 1200 and 1600mg.kg<sup>-1</sup> of DM. The total forage availability was held on the first day of each experiment period. Dry matter intake was determined by the ratio between the amount of dry matter excreted fecal and the internal marker (ADFi). The collection of rumen fluid to determine the pH and ammonia (NH<sub>3</sub>) rumen was carried directly into the rumen at times 0, 2, 4, 6 and 8 hours after supplement supply. The addition of chitosan in supplements provided quadratic effect on the total dry matter intake of the animal, urea excretion rate and microbial protein synthesis. There was no effect of the inclusion of chitosan on rumen pH of animals, obtaining average between treatments of 6.5, but there was a quadratic effect for N-NH<sub>3</sub> concentrations, where the level of great inclusion was 875 mg.kg<sup>-1</sup> DM. The inclusion of chitosan increased the dry matter intake and digestibility and protein microbial synthesis, which were according to NNH<sub>3</sub> contents. Chitosan can be added to supplements for animals at pasture in 900mg.kg<sup>-1</sup> DM.

**Keywords:** ruminal parameters, consumption, supplementation

## 1. INTRODUÇÃO

A globalização dos mercados e a maior exigência dos consumidores, em especial nos aspectos relativo à saúde humana, têm forçado os governos a normatizarem regras para o uso de aditivos na alimentação animal. Com base no “Princípio da Precaução”, a União Europeia (UE), em 1999, banuiu a utilização de antibióticos como promotores de crescimento; e em 2006, proibiu o uso de ionóforos, como a monensina e lasalocida sódica, baseado na “postura preventiva” das autoridades da UE. Por este motivo, a substituição de antibióticos, por substâncias ou compostos naturais alternativos vêm de encontro às necessidades dos consumidores, especialmente quando os produtos visam a exportação ao mercado comum europeu.

A quitosana é um polissacarídeo natural extremamente versátil e com promissoras propriedades para utilização em diversos produtos e aplicações. O ótimo perfil biológico apresentado pela sua molécula é uma vantagem decorrente de sua flexibilidade química (HEIN et al., 2008; KEAN; THANOU, 2010). Nas últimas décadas o uso deste polímero tem crescido significativamente em função de sua bioatividade e biocompatibilidade, e por ser uma fonte renovável e biodegradável, representando grande oportunidade para a comunidade científica e industrial (BELANCHE et al; 2016).

A quitosana é um polissacarídeo oriundo da quitina, um componente dos exoesqueletos de invertebrados (insetos, crustáceos e moluscos) e de paredes celulares de alguns fungos e algas (SENEL et al., 2004). A desacetilação da quitina dá origem a quitosana, a qual é formada majoritariamente por unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas<sub>(1\_4)</sub>, enquanto a quitosana é composta predominantemente por unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcN) unidas pelo mesmo tipo de ligação (ROBERTS, 1992).

A quitosana possui amplo espectro de ação com doses mínimas inibitórias contra bactérias, gram positivas e gram negativas (TANG et al. 2010). Várias hipóteses para o mecanismo de ação, referente a atividade antimicrobiana porém este mecanismo não é bem definido até o momento. A hipótese mais provável seria a mudança na permeabilidade celular devido às interações entre a quitosana policatiônica e as cargas eletronegativas na superfície da célula. A interação da quitosana com a superfície lipopolissacarídea das bactérias gram negativas e com a fração peptidoglicana das bactérias gram positivas, ambas aniônicas. Entretanto, determinados estudos apontam que bactérias gram positivas são mais susceptíveis

do que as bactérias gram negativas (WANG, 1992; NO et al., 2002; SENEL et al., 2004; KUMAR et al., 2005).

Recentemente, a quitosana tem sido cogitada como possível moduladora da fermentação ruminal com finalidade de otimização da eficiência alimentar em ruminantes (GOIRI et al., 2009a). Goiri et al. (2009c) por meio de ensaios “in vitro” com quitosana observou redução da digestão e modificação do padrão de fermentação ruminal, redução da relação CH<sub>4</sub>:AGCC, sugerindo melhoras na fermentação ruminal pelo aumento da relação acetato: propionato, aumentando a quantidade de energia obtida por unidade de substrato fermentado.

Baseado neste contexto e devido as limitações das informações referentes ao uso de quitosana em bovinos mantidos em pastagem, este trabalho teve como objetivo avaliar níveis de quitosana em suplemento para animais em pastejo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, nas dependências do setor de Nutrição de Ruminantes, Laboratório de Digestibilidade in vivo e Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, Estado do Mato Grosso do Sul, entre os meses de Julho a Setembro de 2014.

Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350 kg mantidos em piquetes individuais e distribuídos em quadrado latino 5x5. Os animais foram e suplementados diariamente na proporção de 0,15% do peso corporal (PC). O suplemento fornecido apresentava 300 g de Proteína Bruta (PB)/ kg de MS e era constituído de 435,0 g/kg de milho, 40,0 g/kg de farelo de soja, 85,0 g/kg de uréia e 440g/kg de núcleo mineral. A quitosana (produto comercial com 85% desatilação) foi adquirida da empresa Polymar®, foi adicionada ao suplemento nas quantidades de 0, 400, 800, 1200 e 1600mg por kg de MS. Ao final de cada período experimental os animais foram pesados e os suplementos ajustados de acordo com o peso obtido.

Os piquetes eram formados de *Urochloa brizantha* (syn. *Brachiaria brizantha*) com área de 0,3 ha, divididos por cerca elétrica de dois fios, com bebedouro e cocho. O curral para manejo dos animais era localizado próximo aos piquetes, e os animais eram conduzidos através de corredores.

No primeiro dia de cada período experimental, foi determinada a disponibilidade total de forragem, através do corte rente ao solo de 10 áreas delimitadas por quadrados metálicos (0,25 m<sup>2</sup>) aleatoriamente dentro de cada piquete. Posteriormente, as amostras foram uniformizadas por piquete onde se retiraram duas amostras, uma para a determinação da composição bromatológica e outra para a quantificação da composição botânica. Todas as amostras foram armazenadas em sacos plásticos previamente identificados e congeladas para posteriores análises laboratoriais.

Das amostras destinadas à estimativa da disponibilidade total de matéria seca de forragem, foi calculado o percentual de MS potencialmente digestível (MSpD) ofertada aos animais. Esse resultado foi obtido por intermédio da determinação da fibra insolúvel em detergente neutro, avaliado após incubação in situ das amostras por 288 horas, segundo a equação:  $MSpD = 0,98 \times (100 - FDN) + (FDN - FDNi)$ ; Em que: 0,98 = coeficiente de digestibilidade verdadeiro do conteúdo celular; FDN = Fibra em detergente neutro; FDNi = FDN indigestível.

Foram confeccionadas amostras compostas para cada piquete, as quais foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 mm). Posteriormente procedeu-se à quantificação do teor de MS (método INCT G-003-1; Detmann et al., 2012).

O consumo voluntário foi determinado por meio da relação entre a quantidade de matéria seca fecal excretada e com o uso do indicador interno (FDNi). Os animais foram submetidos ao fornecimento de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) por dez dias consecutivos, com adaptação ao indicador externo, de cinco dias e cinco dias de coleta (Ferreira, et al., 2009). No segundo dia experimental foi introduzido no rúmex dos animais, via cânula ruminal, 10g de dióxido de titânio/dia, as 08h00min, por um período de 10 dias. O dióxido de titânio era pesado diariamente em balança analítica e colocado em um envelope de papel de celulose, totalmente degradável.

As amostras de fezes foram coletadas diretamente no reto (ou na ampola retal) dos animais uma vez por dia em diferentes horários, 08h00min, 10h00min, 12h00min, 14h00min e 16h00min e acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificadas e mantidas em caixa de isolamento térmico, evitando assim a perda de umidade e a fermentação da mesma, e logo em seguida foram enviadas ao laboratório de nutrição animal e congeladas a -10°C. Ao fim de cada período foi realizado uma amostra composta por animal, retirando-se uma amostra de cada animal, em cada piquete por período.

As amostras fecais foram avaliadas quanto aos teores de dióxido de titânio através de espectrofotometria UV/Vis, segundo método colorimétrico INCT-CA M-007/1 (Detmann et

al., 2012). A excreção fecal foi estimada por intermédio da relação entre dose e concentração fecal do indicador externo ( $EF = OF/COF$ ; em que:  $EF =$  Excreção Fecal diária (g/dia);  $OF =$  dióxido de titânio fornecido (g/dia);  $COF =$  Concentração de dióxido de titânio nas fezes (g/g MS).

A FDN indigestível (FDNi) utilizada como indicador interno para a estimativa de consumo de forragem, foi determinada segundo método INCT-CA F-008/1 – FDNi (Detmann, et. al., 2012) através de incubação in situ por 288 horas nas amostras processadas a 2 mm utilizando-se sacos de TNT.

O consumo de matéria seca foi determinado empregando-se a equação:  $CMS = \{[(EF \times CIFZ) - IS] / CIFO\} + CMSS$ ; Onde,  $CMS =$  consumo de matéria seca (kg/dia);  $EF =$  excreção fecal (kg/dia);  $CIFZ =$  concentração do indicador presente nas fezes (kg/kg);  $IS =$  indicador presente no suplemento (kg/dia);  $CIFO =$  concentração do indicador presente na forragem (kg/kg),  $CMSS =$  consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia).

Os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), e extrato etéreo (EE), foram calculados de acordo com o consumo total de nutrientes e a excreção fecal dos mesmos.

Nos dias 9, 10, 11, 12 e 13 de cada período experimental, quatro horas após o fornecimento do suplemento foram realizadas coletas de sangue, por punção da veia cava caudal com o uso de tubos Vacutainer® e as amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas a  $2.700 \times g$  por 20 minutos e alíquotas de soro foram congeladas ( $-20^{\circ}C$ ) para posterior determinação da uréia e creatinina plasmática por colorimetria através do uso de kits comerciais (Gold Analisa®).

No 13º dia experimental foram coletadas manualmente amostras de conteúdo ruminal imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento do suplemento, na interface líquido/sólido do ambiente ruminal e filtradas por uma camada tripla de gaze, uma amostra de líquido ruminal para a determinação do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal ( $N-NH_3$ ). As determinações do pH foram realizadas imediatamente após a coleta por intermédio de peagâmetro digital portátil e para a determinação do nitrogênio amoniacal, separou-se uma alíquota de 40 mL, que foi fixada com 1 ml de HCl 1:1, sendo acondicionada em recipiente de vidro com tampa de polietileno, identificada para posterior análise. A determinação dos teores de  $N-NH_3$  foi realizada conforme o método INCT-CA N-007/1, descrito por DETMANN et al., (2012).

No 14º dia de cada período experimental foi realizada a coleta de urina, na forma “spot”, quatro horas após o fornecimento do suplemento, em micção espontânea dos animais,

sendo armazenadas duas alíquotas. A primeira de 10 mL foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), para à determinação da concentração de creatinina, uréia, ácido úrico e alantoína, segundo padronização de Valadares et al. (1999). A segunda alíquota de 100 ml foi conservada em 1 mL de ácido sulfúrico (36N) e utilizada para à determinação da concentração de N total urinário. As amostras foram imediatamente congeladas a -20°C para análise posterior.

As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para a determinação da concentração de creatinina e ácido úrico foram utilizados kits comerciais (Labtest® e Gold Analisa®).

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação:  $DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PC^{0,75}$ , em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,385  $PC^{0,75}$ , a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al., 1990).

O volume total urinário foi determinado por intermédio da relação entre concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se como padrão o valor de 27,36 mg/kg - PC:  $VU (l/dia) = (27,36 \times PC) / [creatinina]$ , obtido por Rennó et al. (2003) em novilhos cruzados e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina spot dos animais.

As excreções diárias de N-uréia e N-creatinina foram obtidas por meio do produto das concentrações de uréia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715, correspondente aos teores de N na uréia e creatinina, respectivamente. A partir da excreção média diária de creatinina, obtida no experimento em mg/kg PC/dia, e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra spot de urina.

No 15º dia de cada período experimental ocorreu a coleta da forrageira ingerida pelos animais (extrusa), através do esvaziamento ruminal. Anteriormente a coleta os animais foram submetidos a jejum por 12 horas, para se garantir o consumo total da forragem (Forbes, 1993), e evitar contaminação do material já presente no rúmen (Dubbs *et al.*, 2003). Os animais tiveram o rúmen esvaziado manualmente, seco com panos de algodão e limpo, todo material foi acondicionado em tambores de plástico. Após o esvaziamento ruminal os animais foram recolocados em seus respectivos piquetes e pastejaram por 30-40 minutos; após o pastejo foi retirado o material ingerido presente no rúmen. Coletou-se em média de 400 g de

amostra, que foi armazenada em sacos plásticos, identificada, e transportada dentro de uma caixa de isopor (para evitar fermentações indesejáveis e perda de umidade da amostra) até o Laboratório de Nutrição Animal/FCA/UFGD.

Estas amostras foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 e 2 mm). As amostras foram posteriormente compostas, com base no peso seco ao ar, por piquete e período experimental.

No 11º dia de cada período experimental realizou-se a avaliação de comportamento ingestivo dos animais, por meio do peso das sobras de suplemento nos cochos aos 20, 40, 60, 90, 120, 180, 300, 420, 540 e 1440 minutos após o fornecimento do concentrado (Brody, 1945).

As amostras de forragem obtidas por esvaziamento ruminal, fezes, e suplementos (processadas a 1 mm) foram avaliadas quanto aos teores de MS (método INCT-CA G-003/1), PB (método INCT-CA N-001/1) e FDN (FDN; utilizando-se a-amilase termoestável e omitindo-se o uso de sulfito de sódio; método INCT-CA F-002/1) de acordo com os métodos analíticos definidos pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). O teor de NDT da forragem foi calculado baseado no teor de FDA, conforme equação proposta por Capelle et al. (2001):  $\%NDT = 74,49 - 0,5635 * FDA$  ( $r^2=0,82$ ).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial pelo comando PROC MIXED do programa Statistical Analysis System versão 9.2 (SAS, 2009), seguindo o modelo:  $Y_{ijl} = \mu + D_i + P_j + A_l + e_{ijl}$ ; em que  $\mu$  = média geral,  $D_i$  = efeito fixo de dieta,  $P_j$  = efeito aleatório de período,  $A_l$  = efeito aleatório de animal e  $e_{ijl}$  = erro.

Os dados de fermentação ruminal submetidos ao comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, seguindo o modelo:  $Y_{ij} = \mu + D_i + t_j + D_i(t_j) + e_{ij}$ ; em que :  $\mu$  = média geral,  $D_i$  = efeito fixo de dieta,  $t_j$  = efeito fixo de tempo de coleta (0, 2 4, 6, 8 e 10 hs),  $D_i(t_j)$  = interação e  $e_{ij}$  = erro. Foi utilizado como efeito aleatório ao modelo o período e o animal. As análises de variância e de regressão dos dados foram realizadas a 5% de probabilidade.

Para a avaliação do comportamento ingestivo do suplemento pelos animais foi ajustado o modelo por Brody do tipo:

$$Y = a * (1 - e^{-k * X})$$

Onde  $a$  e  $k$  são os parâmetros do modelo,  $e$  é o algarismo neperiano, e  $Y$  e  $X$  as variáveis.

Este modelo foi ajustado de forma que descrevesse o padrão de consumo do suplemento concentrado (Y) em função do tempo (X), durante 24 horas, referente aquele tratamento. Os padrões de ingestão dos tratamentos foram comparados através do intervalo de 95 % de confiança dos parâmetros estimados do modelo Brody (KAPS; LAMBERSON, 2004).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Caracterização da Forragem

Durante todo o período experimental a disponibilidade total de matéria seca (MS) total e MS potencialmente disponível (MSpd) foi de 3.400,52 e 2.147,43 kg/ha; já a disponibilidade de MSVerde foi de 1998,15 kg (Tabela 1). Silva et. al (2009), descreve a disponibilidade adequada de forragem está entre 4.500 kg MS/ha e 1.200 kg MS verde /ha para que haja seletividade do animal. Apesar da disponibilidade total de matéria seca estar abaixo destes limites, os dados apresentados para a disponibilidade de MS potencialmente digestíveis e para MS verde indicam que os animais foram submetidos à oferta de folhas e caule uma oferta de forragem suficiente para garantir o pastejo seletivo, sem alterar o consumo dos animais.

**Tabela 1:** Disponibilidade de forragem de matéria seca verde (Ton MSVerde/ha), colmo (%), folha (%), material senescente (%) e matéria seca potencialmente digestível (MSpd %)

|                         | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) |       |       |       |       | Média |
|-------------------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|
|                         | 0  | 400   | 800   | 1200  | 1600  |       |
| TON MsVerde/há          | 1,95                                       | 2,23  | 1,85  | 1,77  | 2,2   | 1,99  |
| Folha (%)               | 23,34                                      | 25,7  | 20,58 | 25,07 | 25,84 | 24,11 |
| Colmo (%)               | 34,36                                      | 39,68 | 33,05 | 29,44 | 36,74 | 34,65 |
| Material Senescente (%) | 42,29                                      | 34,62 | 46,38 | 45,48 | 39,42 | 41,64 |
| MSpd(%)*                | 62,86                                      | 61,02 | 62,75 | 63,59 | 65,55 | 63,15 |

\*Matéria seca potencialmente digestível; MSpd=  $[0,98(100-FDN)+(FDN-FDNi)]$  - Paulino et al., (2008)

A forragem apresentou teores médios de proteína bruta de 8,53% (Tabela 2), estes valores são superiores a 7% PB, que Van Soest (1994), cita como limite para a redução do consumo.

Apesar dos teores de proteína apresentarem valores médios, a relação energia: proteína das forragens (NDT: PB); apresentou média de 5,99, o que estaria próximo dos valores propostos por Moore et al., (1999), indicando deficiência de proteína em relação à energia disponível, o que resulta em diminuição do consumo de forragens.

**Tabela 2** - Composição bromatológica (%MS) da forragem (*Urochloa brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha*), ingerida pelos animais

|          | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) |       |       |       |       | Média |
|----------|--|-------|-------|-------|-------|-------|
|          | 0  | 400   | 800   | 1200  | 1600  |       |
| MS       | 13,25                                      | 14,46 | 14,79 | 19,86 | 19,65 | 16,4  |
| PB       | 8,52                                       | 10,21 | 9,08  | 7,73  | 7,11  | 8,53  |
| FDN      | 62,4                                       | 67,5  | 69,86 | 61,67 | 64,81 | 65,25 |
| FDA      | 45,65                                      | 45,48 | 45,46 | 47,43 | 41,71 | 45,15 |
| CZ       | 13,39                                      | 13,06 | 12,25 | 16,24 | 13,69 | 13,72 |
| NDT / PB | 5,87                                       | 4,91  | 5,52  | 6,34  | 7,33  | 5,99  |

\*MS =matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, CZ = Cinzas (Material Mineral). \* %NDT =  $74,49 - 0,5365*FDA$ , Capelle et al. (2001).

### Consumo de matéria seca e de nutrientes

O consumo total de matéria seca ( $P=0,043$ ), de forragem ( $P=0,007$ ), apresentaram comportamento quadrático (Tabela 3), com níveis ótimos de quitosana de 895 e 954 mg/kg de MS. O aumento no consumo total de matéria seca proporcionou melhora no coeficiente de digestibilidade da mesma. O consumo de proteína bruta (PB) e FDN também foram influenciados pela inclusão de quitosana, e apresentaram níveis ótimos de 895 e 940 mg/kg de MS.

O fornecimento de nitrogênio para animais em pastejo deve ser focado em dois aspectos diferentes, suprimentos de compostos nitrogenados para crescimento microbiano e adequação metabólica para utilização de nutrientes absorvidos (Leng, 1990, Detmann et al., 2014). Segundo Fadel El-Seed et al., (2003), a quitosana possui 67mg de N/ g, podendo atuar como agente protetor de proteína, e aumentar o fluxo de compostos nitrogenados, alterando o consumo de nutrientes e alterando os mecanismos de controle de consumo; com isso o consumo voluntário que seria limitado por mecanismos associados a repleção ruminal, passa a ser alterado devido a elevação da disponibilidade de nitrogênio dietético, próximas de 145 g/kg de MS (Detmann, et al., 2014), valores estes próximos ao encontrado para os níveis de quitosana fornecidos.

**Tabela 3:** Valores médios de consumo e digestibilidade aparente total da MS de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana

| Item                          | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) <sup>1</sup> |        |       |        |        | EPM <sup>1</sup> | Valor de P <sup>2</sup> |       |
|-------------------------------|---|--------|-------|--------|--------|------------------|-------------------------|-------|
|                               | 0   | 400    | 800   | 1200   | 1600   |                  | Linear                  | Quad  |
|                               | <i>Consumo (kg/dia)</i>                                 |        |       |        |        |                  |                         |       |
| Forragem <sup>(1)</sup>       | 7,96  | 9,76   | 13,57 | 11,53  | 9,99   | 1,38             | 0,457                   | 0,007 |
| Suplemento (g/dia)            | 539,10  | 527,10 | 529,2 | 529,50 | 534,90 | 18,42            | 0,967                   | 0,847 |
| Total <sup>(2)</sup>          | 8,45  | 10,23  | 14,05 | 12,01  | 10,48  | 1,38             | 0,449                   | 0,043 |
| Proteína bruta <sup>(3)</sup> | 1,14  | 1,52   | 1,67  | 1,79   | 1,43   | 0,18             | 0,562                   | 0,006 |
| FDN <sup>(4)</sup>            | 6,50  | 7,89   | 10,85 | 9,19   | 8,10   | 1,07             | 0,349                   | 0,005 |
| Extrato etéreo                | 0,235   | 0,278  | 0,317 | 0,310  | 0,276  | 0,03             | 0,627                   | 0,470 |
|                               | <i>Coefficiente de digestibilidade (%)</i>              |        |       |        |        |                  |                         |       |
| Materia seca <sup>(5)</sup>   | 61,77   | 66,64  | 65,64 | 66,39  | 67,46  | 0,52             | 0,034                   | 0,432 |
| Proteína bruta <sup>(6)</sup> | 75,05   | 80,80  | 77,36 | 78,10  | 78,45  | 0,32             | 0,001                   | 0,765 |
| FDN                           | 58,09   | 61,84  | 59,16 | 59,51  | 60,62  | 0,47             | 0,385                   | 0,783 |
| Extrato etéreo                | 81,32   | 84,25  | 83,05 | 83,28  | 83,72  | 1,04             | 0,510                   | 0,607 |

<sup>(1)</sup>  $Y = 7,612 + 0,0105X - 0,0000055X^2$ ,  $r^2 = 0,67$ ; <sup>(2)</sup>  $Y = 8,097 + 0,0103X - 0,0000055X^2$ ,  $r^2 = 0,73$ ; <sup>(3)</sup>  $Y = 1,129 + 0,012X - 0,000000067X^2$ ,  $r^2 = 0,53$ ; <sup>(4)</sup>  $Y = 6,241 + 0,0079X - 0,0000042X^2$ ,  $r^2 = 0,54$ ;

Gandra et al., (2016), avaliando a quitosana (20 g/Kg de MS) para novilhas confinadas, encontraram redução do consumo de matéria seca e de FDN, com aumento da digestibilidade da matéria seca. Araujo et al. (2015), encontraram aumento nos coeficientes de digestibilidade sem alteração do consumo, Esses efeitos são atribuídos a alterações na fermentação ruminal, devido ao aumento das concentrações de propionato ruminal (Goiri et al, 2010).

Estudos *in vitro* mostram efeitos negativos sobre a digestibilidade da MS e da FDN, em dietas com baseadas em forragem (Wencelova et al., 2014), este efeito está associado aos efeitos adversos da quitosana sobre os protozoários celulolíticos, porém Belanche et al., (2016) demonstraram efeitos sobre bactérias celulolíticas como *Fibrobacter*; *Butyrivibrio* e *Ruminococcus* e bactérias Hemicelulolíticas (*Eubacterium*), estes efeitos estão correlacionados com o total de bactérias e podem ser compensadas pelas baixa abundância de bactérias celulolíticas. A redução da atividade celulolítica (Predominante Gram-positiva), foi associada a um aumento da atividade amilolítica causada pela quitosana, colocando em destaque que a ação da quitosana seria sobre a interação eletrostática com a parede celular das bactérias (Sudarshan et al., 1992). Neste trabalho a adição de quitosana não alterou a digestibilidade de FDN, porém, proporcionou maior síntese de nitrogênio bacteriano.

A hidrólise da quitosana pode favorecer essas bactérias a usarem-na como fonte de energia causando alterações na população bacteriana e nos produtos finais da fermentação

(Wu, 2011), o que poderia explicar a alteração na digestibilidade de MS e no consumo dos animais.

Goiri et al (2009 a, c ), desmonstraram que a quitosana reduz a digestibilidade *in vitro* de compostos fibrosos, decorrente da redução da taxa de degradação da fibra, sugerindo atuação sobre bactérias celulolíticas. Sousa et al. (2011), destacaram que a quitosana apresenta baixa estabilidade quando exposta ao ambiente ruminal devido a sua estrutura ser similar a celulose, indicando que ela pode ser degradada (Belanche, et al., 2016); no entanto poucas bactérias foram identificadas como possíveis degradadoras de quitosana no rúmen (Kopecny e Hodrova 2000).

Belanche et. al (2015), avaliando a quitosana em ensaios *in vitro*, revelou ação anti-protozoária, promovendo uma redução na atividade dos protozoários de até 56% na dose de 2g/L, sugerindo que a quitosana pode ser responsável pela diminuição da degradação ruminal e da taxa de fermentação, e consequentemente modificar os processos digestivos e assim o consumo de nutrientes.

Garcia-Rodriguez et al (2011), avaliou a suplementação de quitosana na concentração de 1,2% em ovelhas lactantes alimentas com feno e concentrado e observou diminuição no consumo de matéria seca, porém sem prejudicar a produção leiteira dos animais. A diminuição do consumo esta diretamente relacionada com o aumento da eficiência alimentar.

Araújo (2011) utilizou diferentes concentrações de quitosana em novilhos nelores confinados e constatou melhorias aparente na digestibilidade da matéria seca e nutrientes e que a quitosana desvia o metabolismo animal para rotas energéticas mais eficientes através da glicose plasmática.

Com a inclusão de quitosana na suplementação não houve aumento da digestibilidade da MS (Tabela 3). Estes resultados concordam com o reportado na literatura com a utilização de monensina (HALL, 2000; Mc GUFFEY et al., 2001) e coerentes com o aumento da digestibilidade do FDN, razão que pode intervir diretamente na digestibilidade da MS (NRC, 1996) demonstrando que a quitosana possa no futuro substituir a monensina, visto que, no presente estudo podemos observar maior digestibilidade da proteína bruta à medida que se aumentou a concentração de quitosana.

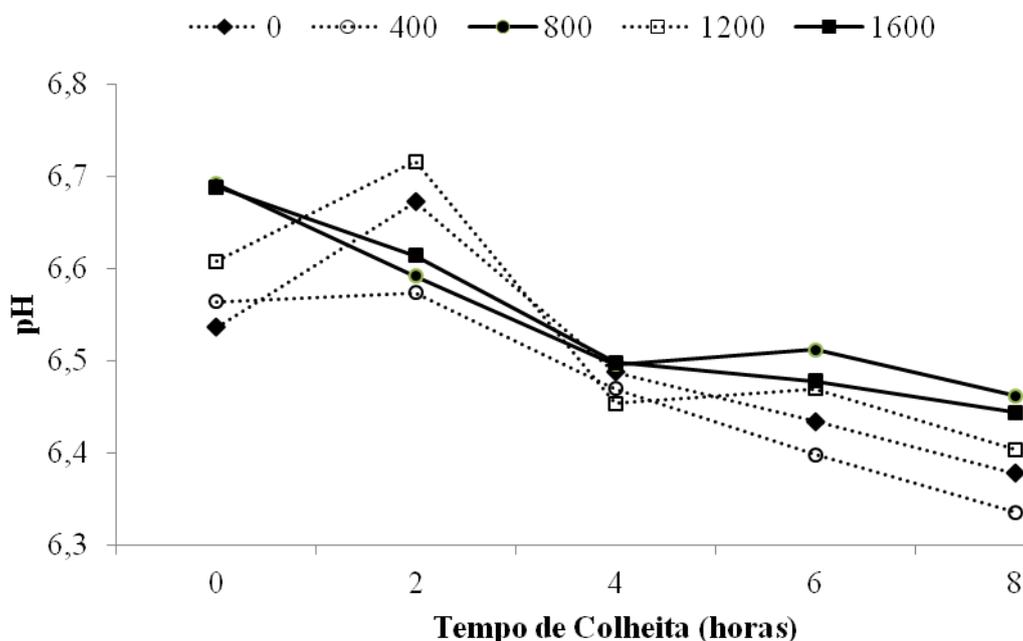
## Parâmetros Ruminais

Não houve efeito da inclusão de quitosana sobre o pH ruminal dos animais ( $P>0,05$ ), obtendo média entre os tratamentos de 6,5 (Tabela 4; Figura 2), valores estes superiores ao limite mínimo para de 6,2 proposto por Russell & Wilson (1996), para que ocorra a máxima atividade dos microrganismos, bem como crescimento microbiano, fermentação ruminal e degradação da FDN. Os valores de pH encontrados neste trabalho reforçam os relatos de que dietas com predominância de forragens apresentam pH próximo à neutralidade.

**Tabela 4** - Valores médios de pH ruminal e N-NH<sub>3</sub> (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana.

| Item                                     | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) <sup>1</sup> |       |       |       |       | EPM <sup>1</sup> | Valor de P <sup>2</sup> |       |
|--|---|-------|-------|-------|-------|------------------|-------------------------|-------|
|  | 0   | 400   | 800   | 1200  | 1600  |                  | Linear                  | Quad  |
| pH                                       | 6.50  | 6.46  | 6.55  | 6.53  | 6.54  | 0.01             | 0.237                   | 0.954 |
| N-NH <sub>3</sub> (mg/dL) <sup>(1)</sup> | 11.67   | 12.29 | 12.63 | 16.21 | 10.61 | 0.52             | 0.424                   | 0.005 |

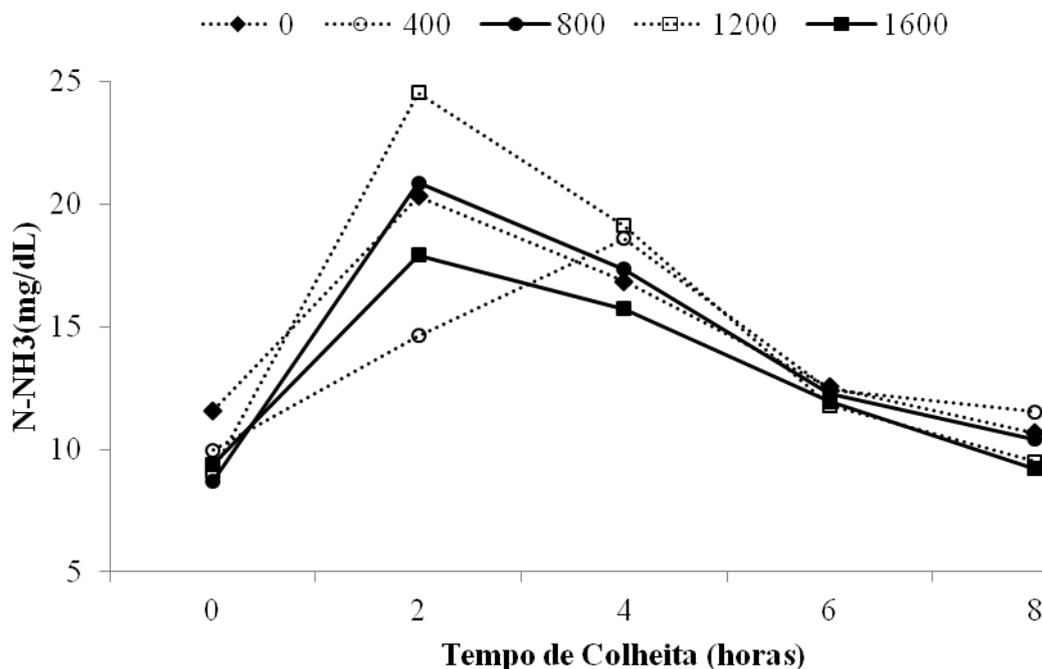
<sup>(1)</sup> $Y = 11.0 + 0.007x - 0.000004x^2$ ;  $r^2 = 0.35$ .



**Figura 2** – Valores médios de pH ruminal de novilhos suplementados com quitosana e em função dos tempos de coleta.

Houve efeito quadrático ( $P=0,005$ ) para as concentrações de N-NH<sub>3</sub> ruminal, onde o nível de inclusão ótimo foi de 875 mg/kg MS (Tabela 3; Figura 3). A concentração de amônia

ruminal acima de 15mg/dL de fluido ruminal pode estimular o consumo de matéria seca dos animais (Detmann, et al., 2009), o estaria associado ao maior consumo de matéria seca apresentado pelos animais suplementados com quitosana. Detmann et al (2009) destacaram como 8 mg/dL de amônia ruminal o limite mínimo asseguram disponibilidade de compostos nitrogenados para a degradação dos compostos fibrosos; ocorrendo assim adequação do meio de crescimento à disponibilidade de compostos nitrogenados para o anabolismo microbiano.



**Figura 3** - Valores médios de N-NH<sub>3</sub> (mg/dL) do líquido ruminal de novilhos suplementados com quitosana em função do tempo de coleta.

As concentrações de amônia ruminal podem estar relacionada à degradação da proteína e a síntese de proteína microbiana (Makkar, et al., 1998), no entanto Goiri et al., (2010) destacam redução na concentração de amônia ruminal decorrente a redução na fermentação dos aminoácidos, ao invés das propriedades microbianas associadas a quitosana, ou aumento da utilização para síntese de proteína microbiana. No ambiente ruminal com pH próximo a neutralidade os grupos  $-NH_2^+$  da quitosana podem interagir eletrostaticamente com a carga negativa do grupo carboxila do AA, protegendo contra a degradação ruminal (Chiang et al., 2009), o que corrobora com as afirmações de Fadel El Seed, et al.,(2003), de que a quitosana é uma fonte de proteína indegradável no rúmen.

Neste trabalho o aumento de nitrogênio amoniacal ruminal proporcionou aumento na síntese de nitrogênio e de proteína bruta microbiana (Tabela 5), onde o nível ótimo foi de 850 mg/kg MS sem alterar o Balanço de nitrogênio dos animais (Tabela 6). Segundo Belanche et al (2015), a quitosana possui ação anti-protozoária, podendo reduzir a concentração de butirato o que é compensada pelo aumento das concentrações de propionato, o que poderia reduzir a produção de íons H<sub>2</sub> e alterar a população microbiana. Ensaios *in vitro* demonstraram que a quitosana aumenta a eficiência do uso de energia, pois reduz a degradabilidade sem alterar a produção total de ácido graxos (Goiri et al., 2009b).

**Tabela 5** - Médias da eficiência de síntese Microbiana de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana.

| Item                          | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) <sup>1</sup> |        |        |        |        | EPM <sup>1</sup> | Valor de P <sup>2</sup> |       |
|-------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|------------------|-------------------------|-------|
|                               | 0   | 400    | 800    | 1200   | 1600   |                  | Linear                  | Quad  |
|                               | <i>mmol/L</i>   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Alantoína                     | 4,56  | 4,91   | 5,49   | 4,76   | 4,73   | 0,39             | 0,895                   | 0,243 |
| Ácido Úrico                   | 2,61  | 3,80   | 2,14   | 2,85   | 4,75   | 0,41             | 0,176                   | 0,190 |
| Purinas totais                | 7,17  | 8,71   | 7,62   | 7,61   | 9,48   | 0,45             | 0,193                   | 0,577 |
|                               | <i>mmol/dia</i>   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Alantoína                     | 75,58   | 82,08  | 92,82  | 80,05  | 75,60  | 7,54             | 0,962                   | 0,368 |
| Ácido Úrico                   | 46,73   | 68,99  | 35,65  | 48,07  | 71,57  | 7,23             | 0,485                   | 0,325 |
| Purinas totais                | 122,32  | 151,08 | 128,48 | 128,12 | 147,18 | 10,17            | 0,689                   | 0,971 |
| Purinas abs <sup>(1)</sup>    | 82,72   | 89,12  | 102,81 | 87,66  | 81,55  | 8,66             | 0,458                   | 0,004 |
|                               | <i>g/dia</i>  |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Nitrogênio <sup>(2)</sup>     | 60,14   | 64,79  | 74,74  | 63,73  | 59,29  | 6,30             | 0,564                   | 0,032 |
| Proteína bruta <sup>(3)</sup> | 375,91  | 404,96 | 467,16 | 398,33 | 370,59 | 39,38            | 0,564                   | 0,032 |

<sup>(1)</sup>Y=81,84+0,037X- 0,00003X<sup>2</sup> r<sup>2</sup>=0,57; <sup>(2)</sup>Y=59,50+0,027X- 0,00002X<sup>2</sup> r<sup>2</sup>=0,64;

<sup>(3)</sup>Y=371,90+0,170X- 0,0001X<sup>2</sup> r<sup>2</sup>=0,57;

Belanche et al., (2016), destacaram que a quitosana aumenta a concentração de amônia duas (2) horas após a alimentação, sendo que a deaminação da quitosana é o passo inicial para a sua degradação, pelas bactérias ruminais (BEIER e BERTILSSON, 2013), No entanto a degradação do grupo amina (R-NH<sub>2</sub>), em amônia (NH<sub>3</sub>), pode explicar as maiores concentrações de amônia nas dietas com quitosana.

Belanche et al., (2016), que o suprimento extra proporcionado pela deaminação da quitosana e a baixa retenção de amônia pelos microorganismos ruminais, levam a maiores picos de amônia ruminal, ao invés de aumentar a proteólise dos alimentos. A baixa incorporação de N pelas bactérias alimentadas com quitosana pode ser decorrente da pequena quebra de proteína bacteriana (Belanche, et al., 2011) aumentando a eficiência de utilização

no Nitrogênio, que em termos aumenta o fluxo de proteína e a eficiência de síntese (g de N microbiana).

Gandra et al., (2016), encontraram redução no fluxo microbiano com a adição da quitosana, que segundo os autores está associada sua atividade antimicrobiana, atuando principalmente sobre bactérias gram positivas, sendo que estes efeitos são reduzidos em pH ácidos (Senel & McClure, 2004).

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) nas excreções diárias em mmol/L dos derivados de purina, mas sim para purinas absorvidas, sendo o nível ótimo em 617 mg/kgMS.

Não houve efeito da adição de quitosana para o Balanço de nitrogênio (Tabela 6), onde todos os tratamentos apresentaram balanço positivo com retenção de Nitrogênio. Mesmo não apresentando significância, os dados sugerem que os animais suplementados com quitosana apresentaram melhor utilização do nitrogênio que os animais que recebiam apenas o suplemento (110,51 x 50,13 g/dia).

Os animais ruminantes possuem habilidade em conservar o nitrogênio por longos períodos, por meio de mudanças na permeabilidade do trato gastrintestinal e da regulação da excreção renal, mantendo o fornecimento de nitrogênio através da reciclagem de uréia. O balanço de nitrogênio é importante na avaliação do equilíbrio nitrogenado do animal e se quando mantido em determinadas condições alimentares, ocorre ganho ou perda de N.

**Tabela 6** – Balanço de Nitrogênio de novilhos suplementados com diferentes níveis de inclusão de quitosana.

| Item                      | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) <sup>1</sup> |        |        |        |        | EPM <sup>1</sup> | Valor de P <sup>2</sup> |       |
|---------------------------|---|--------|--------|--------|--------|------------------|-------------------------|-------|
|                           | 0   | 400    | 800    | 1200   | 1600   |                  | Linear                  | Quad  |
|                           | <i>Consumo (g/dia)</i>                                  |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Nitrogênio <sup>(1)</sup> | 183.26  | 243.67 | 267.59 | 287.80 | 230.18 | 29.69            | 0.562                   | 0.006 |
|                           | <i>Excreção (g/dia)</i>                                 |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Fezes                     | 133.12  | 135.83 | 158.17 | 160.27 | 132.95 | 16.85            | 0.829                   | 0.546 |
| Urina                     | 46.46   | 68.77  | 41.77  | 60.41  | 36.80  | 5.37             | 0.466                   | 0.308 |
|                           | <i>Balanço (g/dia)</i>                                  |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Absorvido                 | 50.13   | 107.84 | 109.42 | 127.53 | 97.23  | 16.96            | 0.314                   | 0,548 |
| Retido                    | 3.66  | 39.06  | 67.64  | 67.11  | 60.42  | 18.06            | 0.564                   | 0.436 |
|                           | <i>Excreção (% NT)</i>                                  |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Fezes                     | 72.05   | 52.58  | 60.57  | 60.08  | 57.65  | 3.30             | 0.378                   | 0.371 |
| Urina                     | 31.22   | 53.83  | 19.56  | 33.11  | 20.55  | 6.79             | 0.371                   | 0.682 |
|                           | <i>Balanço (% NT)</i>                                   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Absorvido                 | 27.94   | 47.41  | 39.42  | 39.91  | 42.34  | 3.30             | 0.378                   | 0.371 |
| Retido                    | 2.00  | 16.03  | 25.28  | 23.32  | 26.25  | 7.36             | 0.207                   | 0.957 |

<sup>(1)</sup>  $Y = 180,63 + 0,205X - 0,0002 x^2$ ,  $r^2 = 0,74$

As excreções de uréia (mg/kg PV) e a excreção fracional de ureia (%) foram significativas (Tabela 7), com ponto ótimo em 571 mg/ kg MS para total e 625 mg/kg MS, não sendo observado efeito para a as concentrações plasmática e urinária de creatinina e para o nitrogênio ureico. A concentração de creatinina não é afetada por mudanças na dieta e as taxas de excreção podem ser diferentes de acordo com o crescimento dos animais (Chizzotti, et al. 2008). Segundo o NRC (1996), animais alimentados com dietas adequadas em energia, a porcentagem de proteína diminui e a de gordura aumenta no corpo vazio à medida que seu peso se aproxima do peso à maturidade. Desse modo, em animais em crescimento, a porcentagem de tecido muscular varia de acordo com o peso animal e, conseqüentemente, a excreção de creatinina pode ser alterada. Animais adultos apresentam menor variação na composição corporal e, portanto, a excreção de creatinina ao peso vivo torna-se menos variável (Leal et al., 2007).

**Tabela 7** - Valores médios para concentração de uréia e creatinina na urina, concentração de uréia e creatinina sanguínea, excreção de uréia e creatinina na urina, excreção de creatinina, uréia e creatinina plasmática, excreção fracional de uréia.

| Item                          | Níveis de inclusão de quitosana (mg/kg MS) <sup>1</sup> |        |        |        |        | EPM <sup>1</sup> | Valor de P <sup>2</sup> |       |
|-------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|------------------|-------------------------|-------|
|                               | 0   | 400    | 800    | 1200   | 1600   |                  | Linear                  | Quad  |
| <i>Urina (mg/dL)</i>          |   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Ureia                         | 164,80  | 187,20 | 129,60 | 158,00 | 113,20 | 20,79            | 0,392                   | 0,789 |
| Creatinina                    | 1,24  | 1,26   | 0,88   | 1,08   | 0,92   | 0,13             | 0,437                   | 0,858 |
| N-Ureico                      | 76,79   | 87,23  | 60,39  | 73,62  | 52,75  | 9,69             | 0,392                   | 0,789 |
| N- Creatinina                 | 0,45  | 0,46   | 0,32   | 0,40   | 0,34   | 0,02             | 0,446                   | 0,865 |
| <i>Sangue (mg/dL)</i>         |   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Ureia                         | 32,60   | 32,20  | 32,00  | 31,60  | 31,60  | 1,750            | 0,776                   | 0,955 |
| Creatinina                    | 1,49  | 1,36   | 1,42   | 1,45   | 1,65   | 0,06             | 0,431                   | 0,305 |
| N-Ureico                      | 15,19   | 15,00  | 14,91  | 14,72  | 14,72  | 0,81             | 0,776                   | 0,955 |
| N- Creatinina                 | 0,55  | 0,50   | 0,52   | 0,54   | 0,61   | 0,02             | 0,433                   | 0,279 |
| <i>Excreção (mg/kg PV)</i>    |   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Ureia <sup>(1)</sup>          | 371,64  | 539,16 | 765,78 | 296,98 | 196,99 | 26,30            | 0,489                   | 0,002 |
| Creatinina                    | 28,34   | 28,42  | 28,41  | 28,41  | 28,37  | 0,13             | 0,969                   | 0,845 |
| <i>Clearence (24 horas)</i>   |   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Ureia <sup>(2)</sup>          | 11,26   | 15,83  | 18,85  | 10,04  | 7,47   | 3,09             | 0,639                   | 0,007 |
| Creatinina                    | 16,48   | 11,96  | 19,25  | 11,17  | 10,69  | 1,65             | 0,112                   | 0,953 |
| <i>Excreção fracional (%)</i> |   |        |        |        |        |                  |                         |       |
| Ureia <sup>(3)</sup>          | 81,26   | 87,71  | 85,30  | 82,20  | 79,85  | 14,35            | 0,930                   | 0,050 |

<sup>(1)</sup>Y= 440,48 + 0,40X - 0,00035X<sup>2</sup>, r<sup>2</sup>= 0.62; <sup>(2)</sup>Y= 12.34 + 0,009X - 0,000007X<sup>2</sup>, r<sup>2</sup>= 0.45, 642 mg/kg MS;

<sup>(3)</sup>Y= 82,32 + 0,01X - 0,000008X<sup>2</sup>, r<sup>2</sup>= 0.67

A manutenção dos níveis normais de uréia no sangue é essencial para reduzir a despesa com energia N excreção na urina. A uréia plasmática é eliminada pelos rins, por

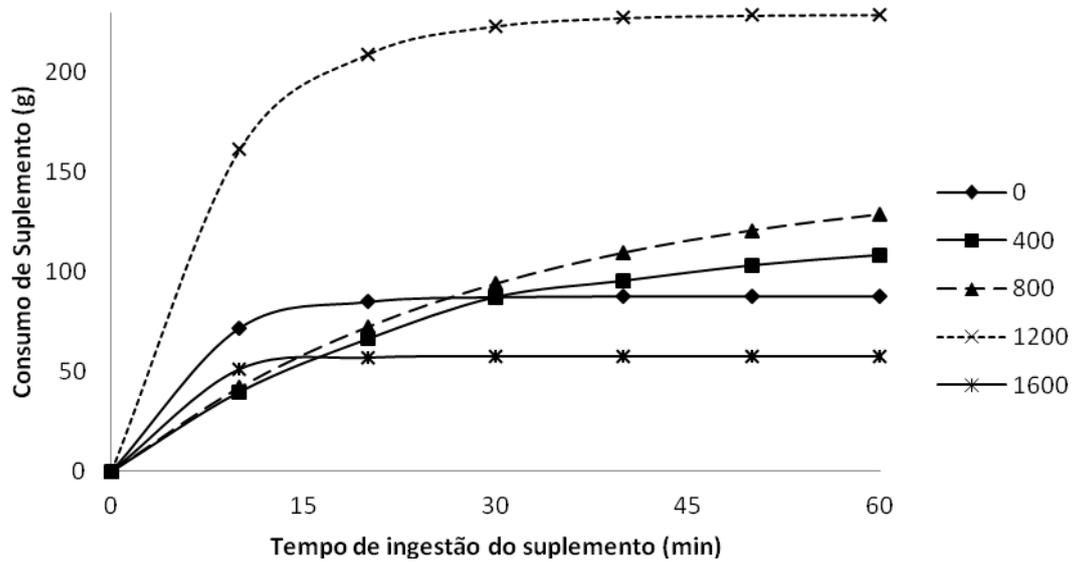
processo passivo, secundário à reabsorção de fluidos. Portanto podemos concluir que, a quantidade de uréia excretada é influenciada por estas funções, e também segundo Harmeyer & Martens (1980), ela pode ser alterada principalmente por sua concentração plasmática, dependendo das condições dietéticas do animal. Ao contrário do presente estudo, Garcia-Rodriguez et al. (2011) reportou aumento de 8.9% de uréia no sangue de ovinos suplementados com quitosana durante a lactação e atribuiu a ocorrência à menor degradabilidade de proteína ruminal.

As estimativas de consumo dos animais através do modelo de Brody foram inferiores ao consumo de suplemento dos animais (média de 531,96 g/dia), porém os animais suplementados com 1200 mg/kg de MS apresentaram os maiores valores estimados, com velocidade de ingestão média (Tabela 8; Figura 4), o que influenciaria os picos de  $\text{NH}_3$  ruminais (Tabela 4) e o consumo de proteína bruta. Apesar de apresentar a maior velocidade de ingestão (parâmetro  $k$ ), os animais apresentaram a menor estimativa de consumo. Os intervalos de confiança estimados para o parâmetro velocidade de ingestão (parâmetro  $k$ ) para os 0; 400; 800 e 1600 mg/kg de MS, não foram alterados, indicando a não existência de diferenças para a velocidade de ingestão de suplemento. Goes et al., (2015), avaliaram diferentes suplementos proteicos e não encontraram alteração na velocidade de consumo de suplemento, destacando que suplementos com elevadas quantidades de proteína bruta apresentam as menores estimativas de consumo de suplemento.

**Tabela 8.** Estimativas de consumo, intervalos de confiança assintóticos e erro padrão assintótico dos parâmetros do modelo de “Brody” do consumo de suplemento concentrados com quitosana

| Quitosana<br>g/kg de MS | Estimativa | Intervalo assintótico de 95% de<br>confiança da estimativa |                 | Erro padrão<br>assintótico |
|-------------------------|------------|--|-----------------|----------------------------|
|                         |            | Limite inferior  | Limite Superior |                            |
| <i>Parâmetro “a”</i>    |            |  |                 |                            |
| 0                       | 87,72      | -34,5182   | 197,90          | 57,1314                    |
| 400                     | 118,20     | -31,1776   | 267,60          | 73,4154                    |
| 800                     | 148,90     | -27,3933   | 325,20          | 86,6472                    |
| 1200                    | 229,00     | 27,6071  | 430,40          | 98,9905                    |
| 1600                    | 57,42      | -46,7055   | 161,50          | 51,1792                    |
| <i>Parâmetro “k”</i>    |            |  |                 |                            |
| 0                       | 0,1711     | -0,1954  | 0,5376          | 0,1801                     |
| 400                     | 0,0411     | -0,3238  | 0,4060          | 0,1794                     |
| 800                     | 0,0333     | -0,3113  | 0,3179          | 0,1694                     |
| 1200                    | 0,1220     | -0,4287  | 0,1846          | 0,1504                     |
| 1600                    | 0,2196     | -0,2322  | 0,6713          | 0,2220                     |

Parâmetro “a”: intervalos de consumo; Parâmetro “k”: velocidade de ingestão.



**Figura 4** - Padrões diários de consumo de suplementos proteicos com diferentes níveis de quitosana, fornecidos à bovinos em pastejo (g/min).

#### 4. CONCLUSÃO

A inclusão de quitosana na proporção de 900mg/kg de MS proporcionou alterações no consumo de matéria seca, na fermentação ruminal e na síntese de proteína microbiana.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, Ana Paula Chaves, **Efeito de diferentes concentrações de quitosana na dieta de novilhos Nelore**. 2011, 90f. Dissertação. (Mestrado em ciência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CONSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS, J. E.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; PAIVA, P. G.; et al. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nelore steers. **ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY**, v. 206, p. 114-118, AUG 2015.

AZEVEDO, J.A.G.. **Métodos de Análise de Alimentos, INCT – Ciência Animal. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal**. Suprema Editora. Visconde do Rio Branco/MG. 2012. 214 p.

BEIER, S, BERTILSSON, S. Bacterial chitin degradation-mechanisms and ecophysiological strategies. **Frontiers In Microbiology**, v.4 (article149), p.1–12, 2013.

BELANCHE, A.; ABECIA, L.; HOLTROP, G.; GUADA, J.A.; CASTRILLO, C.; DE LA FUENTE, G.; BALCELLS, J. Study of the effect of presence or absence of protozoa on rumen fermentation and microbial protein contribution to the chyme. **Journal of Animal Science**, v.89, n. 12, p. 4163–74. 2011.

BELANCHE, A.; PINLOCHE, E.; PRESKETT, D.; NEWBOLD, C.J. Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen simulation technique. **FEMS Microbiology Ecology**, Vol. 92, No. 1, p. 1-14, 2016.

BELANCHE, A., MORALES, E.R., NEWBOLD, C. J., *In vitro* screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Journal of Science and Food Agriculture** . v.6 DOI 10.1002/jsfa.7481, 2015.

BRODY, S. Bioenergetics and growth. Reinhold Publishing. New York. 1945. 1023 pp.

CAPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA J.F.C.; CECON, P.R. Estimates of the Energy Value from Chemical Characteristics of the Feedstuffs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p. 1837-1856. 2001

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO S. C.; VALADARES, R. F. D.; CHIZOTTI, F. H. M. ; TEDESCHI, L. O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218-225. 2008.

CHEN, X.B., GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.

CHIANG, Y. W., T. H. WANG, W. C. LEE. Chitosan coating for the protection of amino acids that were entrapped within hydrogenated fat. **Food Hydrocolloids**. v.23, n.06, p.1057 - 1061, 2009.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C. et al. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BATISTA, E.D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v. 162: 141-153. 2014.

DUBBS, T.M.; VANZANT, E.S.; KITTS, S.E. *et al.* Characterization of season and sampling method effects on measurement of forage quality in fescue-based pastures. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.1308-1315, 2003.

FADEL EL-SEED, A. N. M. A., KAMEL, H. E. M., SEKINE, J., HISHINUMA, M. AND HAMANA, K. Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. **Canadian Journal Animal Science**, v.83, n.01, p. 161–163, 2003.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009.

FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J.; KYLE, D. J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agriculture Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12, 1987.

GANDRA, E.R.S.; ARAKI, H.M.C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **Revista Brasileira de Zootecnia** 2016, ARTIGO NO PRELO.

GANDRA, J. R.; PAIVA, P. G.; RENNÓ, F. P. Short communication: Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology** v.206, p.114-118. 2015.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; MANDALUNIZ, N.; ARRANZ, J.; GOIRI, I. Inclusion of chitosan in the diet of dairy ewes in early lactation. In: XIV Jornadas sobre Producción Animal, 2011, Zaragoza. **Anais**. Zaragoza: Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario, 2011, p. 222-224.

GOES, R.H.T.B.; GANDRA, J.R.; MARQUEZ, A.F.; OLIVEIRA, E.R. DE; FERNANDES, H.J.; CARDOSO, T.J. DE L.; BRABES, K.C. DA S. E YOSHIHARA, M.M. Metabolismo nitrogenado em bovinos suplementados a pasto durante a transição águas seca. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 281-290. 2015.

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

GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effect of chitosan on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v. 152, p. 92-102, 2009b.

GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose response effects of chitosan on “in vitro” rumen digestion and fermentation mixtures differing in forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, n. 2, p. 215-227, 2009c.

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

HALL, J.O. Ionophore use and toxicosis in cattle. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** v.16, p.497–509, 2000.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.

HEIN, S.; WANG, K.; STEVENS, W. F.; KJEMS J. Chitosan composites for biomedical applications: status, challenges and perspectives. **Material Science Technology**, v. 24, n. 9, p. 1053- 1061, 2008.

KAPS, M. E LAMBERSON, W.R. **Biostatistics for animal science**. Cambridge. CABI Publishing. USA. 2004. 445 pp.

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

KOPECNY J, HODROVA B. **Chitinolytic enzymes produced by ovine rumen bacteria**. *Folia Microbiology*, v.45, p.465–468, 2000.

KUMAR, A. B. V.; VARADARAJ, M. C.; GOWDA, L. R.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. **The Biochemical Journal**, v. 391, p. 167–175, 2005.

LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, J.M.S.; DETMANN, E.; BARBOSA, A.M.; TEIXEIRA, R.M.A.; MARCONDES, M.I. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.905-911, 2007.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particulary under tropical conditions. **Nutrition Research and Review**, v.3, n.3, p.277-303. 1990.

MAKKAR, H. P. S.; S. SEM; M. BLUMMEL; K. BECKER. Effects of fractions containing saponins from *Yucca schidigera*, *Quillaja saponaria*, and *Acacia auriculoformis* on rumen fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.46, p.4324–4328. 1998.

MC GUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D., 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.194–203,2001.

MOORE, J.E.; BRANT, M.H.; KUNKLE, W.E.; HOPKINS, D.I. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**, v.77. suppl. 2, p.122-135, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Science, 1996. 242p.

NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 65–72, 2002.

RENNÓ, L.N.; **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína.** Viçosa MG; UFV 2003. 252p. (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

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

RUSSEL, J.B., WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science**, v.79, p. 1503-1509, 1996.

SAMPAIO, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low quality tropical forage using Michaelis-Mertens kinetics. **Livestock Science**, v.126, p. 136-146, 2009.

SAS Institute. Statistical Analysis System Institute Inc. Version 9.2. Cary, 2009. 1042p.

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

SILVA, F.F.; SÁ, J.F.; SCHIO, A.R.; ITAVO, L.C.V.; SILVA, R.R.; MATEUS, R.G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.371-389, 2009.

SOUZA, N.L.G.D.; BRANDÃO, H.M.; OLIVEIRA, L.C. Spectroscopic and thermogravimetric study of chitosan after incubation in bovine rumen. **Journal of Molecular Structure**, v.1005, p.186-191. 2011.

SUDARSHAN, N.R., HOOVER, D.G., KNORR, D. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotech*, v.6, p.257–72. 1992.

TANG, H.; ZHANG, P.; KIEFT, T. L.; RYAN, S. J.; BAKER, S. M.; WIESMANN, W. P.; ROGELJ, S. Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against gram-negative bacteria. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2562-2571, 2010.

VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from

excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.11, p.2686-2696. 1999.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

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

WENCELOVA M, VARADYOVA Z, MIHALIKOVA K; KIŠIDAYOVÁ, S; JALC, D. Evaluating the effects of chitosan, plant oils, and different diets on rumen metabolism and protozoan population in sheep. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v.38, p.:26–33.2014

WU S. Preparation of water soluble chitosan by hydrolysis with commercial alpha-amylase containing chitosanase activity. **Food Chemistry**, v.128, p. 769–72. 2011.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo e os relatos disponíveis até o momento demonstram que a proposta de utilização da quitosana como agente modulador de fermentação ruminal é promissora. Mas ainda se faz necessário a realização de novas pesquisas para que seja determinado o exato mecanismo de ação da quitosana sobre os microrganismos ruminais, doses de administração, e seus efeitos sobre desempenho produtivo animal, a fim de viabilizar sua utilização na nutrição de ruminantes.