



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



QUITOSANA COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA BOVINOS

Jaqueline Luiza Royer
Zootecnista

QUITOSANA COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA BOVINOS

Jaqueline Luiza Royer

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

Coorientadora: Prof^a Dr^a Carolina Marques Costa Araújo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R891q Royer, Jaqueline Luiza
QUITOSANA COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA BOVINOS [recurso eletrônico] /
Jaqueline Luiza Royer. -- 2026.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes .
Coorientador: Carolina Marques Costa Araújo.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados,
2026.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Consumo. 2. Digestibilidade. 3. Microrganismos ruminais. 4. Modulador ruminal. 5.
Parâmetros fermentativos. I. Goes, Rafael Henrique De Tonissi E Buschinelli De. II.
Araújo, Carolina Marques Costa. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Quitosana como Aditivo Alimentar para Bovinos

Jaqueline Luiza Royer

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 19 de fevereiro de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Documento assinado digitalmente
 **EDENIO DETMANN**
Data: 23/04/2026 14:08:07-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Edenio Detmann
Universidade Federal de Viçosa

Documento assinado digitalmente
 **JEFFERSON RODRIGUES GANDRA**
Data: 24/04/2026 09:25:25-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
UNIFESSPA

Documento assinado digitalmente
 **MARCELO FOSSA DA PAZ**
Data: 23/04/2026 15:00:48-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Universidade Federal da Grande
Dourados

Documento assinado digitalmente
 **CAROLINA MARQUES COSTA ARAÚJO**
Data: 23/04/2026 14:46:03-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Carolina Marques Costa Araújo
Universidade Federal da Grande Dourados

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL HENRIQUE DE TONISSI E BUSCHINELLI**
Data: 23/04/2026 11:28:22-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

BIOGRAFIA DO AUTOR

Jaqueline Luiza Royer, filha de Lisiani Maria Müller e Marcos Ricardo Royer, nascida em 26 de fevereiro de 1999, na cidade de Florianópolis, Santa Catarina. Concluiu o ensino médio em 2018 e em 2019 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, *campus* Palmeiras das Missões, onde concluiu o curso no segundo semestre de 2023, recebendo o grau em fevereiro de 2024. Em 2024 iniciou as atividades como aluno regular no curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, onde foi bolsista Fundect durante esse período.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu condições para que eu pudesse realizar esse trabalho, pela força e sabedoria durante essa etapa.

À minha família por sempre apoiar as minhas decisões. Ao meu pai Marcos Ricardo Royer, por sempre acreditar em mim e estar ao meu lado. À minha companheira Maria Laura pela paciência, apoio e companheirismo.

Um agradecimento especial ao meu orientador Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes pela oportunidade, orientação e confiança em meu trabalho e a minha coorientadora Carolina Marques Costa Araújo, pela orientação, apoio intelectual e motivacional, meu muito obrigada aos dois por tanto.

Aos amigos e colegas feitos nessa trajetória, pelas conversas, apoio, companheirismo e amizade. Em especial, Lara Oliveira, Cibeli Pedrini, Yasmin Gonçalves, Letícia Sales e Haylleen Sá, meu muito obrigada.

Ao grupo NERU - Núcleo de estudos em Nutrição e Produção de Ruminantes e todos os seus integrantes, em especial Lucas Domiciano, Dayane Moreira, Maria Malaquias, Nayara Malaquias, Luana Felicio, que contribuíram fortemente para que esse trabalho tenha sido realizado com êxito.

Agradeço ao corpo docente pelos ensinamentos que contribuíram para o crescimento profissional e pessoal, em especial ao professor Mábio Silvan José da Silva, pelas conversas, cafés e conselhos.

Agradeço ao professor Marcelo Fossa da Paz, pela disponibilidade da estrutura laboratorial e ajuda durante os processos realizados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e à Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade, disponibilidade de recursos e infraestrutura.

À Fundect pelo apoio financeiro, tornando possível a realização desse trabalho.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à memória de minha mãe, Lisiani Maria Müller que sempre acreditou em mim e me ensinou a lutar pelos meus sonhos. Sua presença segue viva em cada conquista.

Obrigada pelo incentivo, apoio, ensinamentos e crença em mim. Minha eterna gratidão.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	13
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Metodologia	14
2.1.1. Elaboração do protocolo e questão norteadora	14
2.1.2. Busca nas bases de dados.....	15
2.1.3. Triagem e coleta de dados	16
2.1.4. Análise crítica dos estudos incluídos	16
2.1.5. Análise estatística.....	17
2.2. Revisão integrativa	17
2.3. Limitações e Sugestões para Trabalhos Futuros	29
2.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO 2.....	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1. Comitê de Ética.....	35
2.2. Local do Estudo e Delineamento	35
2.3. Extração de quitosana	35
2.4. Caracterização da quitosana.....	37
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	38
4. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 3.....	43
1. INTRODUÇÃO	43
2. METODOLOGIA.....	44
2.1. Comitê de Ética.....	44
2.2. Local do Estudo e Delineamento	44
2.3. Digestibilidade <i>in vitro</i>	45
2.4. Análise química.....	45
2.5. Parâmetros fermentativos	46
2.6. Produção cinética de gases	47
2.7. Análise estatística.....	47
3. RESULTADOS	48
4. DISCUSSÕES.....	51
5. CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
APÊNDICE A - PROTOCOLO REVISÃO INTEGRATIVA.....	57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Descritores e operadores booleanos utilizados em cruzamento único para pesquisa de alta sensibilidade nas bases de dados.....	15
Tabela 2. Características metodológicas dos estudos incluídos nessa revisão.....	18
Tabela 3. Dados de concentração volumoso:concentrado, consumo e digestibilidade animal suplementados com quitosana.....	20
Tabela 4. Parâmetros fermentativos e estimativa da produção de metano de animais suplementados com quitosana.....	22
Tabela 5. Análise descritiva dos dados de consumo, digestibilidade e parâmetros fermentativos da amostra de artigos.....	23

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Bromatologia da quitosana de crustáceo e escama de peixes.....	40
Tabela 2. Parâmetros cinéticos da degradação in situ da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) das quitosanas de crustáceo e escama de peixe.....	40

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes experimentais.....	47
Tabela 2. Coeficientes de digestibilidade aparente in vitro dos tratamentos experimentais.....	49
Tabela 3. Parâmetros de fermentação ruminal em função dos tratamentos experimentais.....	50
Tabela 4. Parâmetros da cinética de degradação e produção de gases do milho moído, silagem de mandioca e farelo de soja sob diferentes tratamentos com quitosana.....	51

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Fluxograma PRISMA – etapas da revisão integrativa, elaborado pelos autores.....18
- Figura 2.** Relação entre a inclusão de quitosana (mg/kg MS) e a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS, g/kg MS). $DIVMS (g/kg MS) = 673,5 - 0,02988x$ ($R^2 = 44,2\%$; $P < 0,001$).....25
- Figura 3.** Mapa de Contorno da interação entre inclusão de quitosana (mg/kg de MS) e digestibilidade in vitro da proteína bruta (DIVPB, g/kg de MS) sobre a produção de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).....26
- Figura 4.** Relação entre a inclusão de quitosana (mg/kg MS) e a produção de acetato $Acetato mol/100mol = 48,98 + 0,003594 x$ ($R^2 = 24,0\%$; $P = 0,003$).....27
- Figura 5.** Relação entre a inclusão de quitosana (mg/kg MS) e a relação acetato:propionato (C2:C3). $C2:C3 = 2,559 + 0,000298 x$ ($R^2 = 29,8\%$; $P = 0,001$).....28
- Figura 6.** Inter-relação entre as variáveis de desempenho e metabolismo ruminal por meio da Análise de Agrupamento (Cluster) Hierárquico.....29

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Esquema para obtenção de quitosana purificada a partir de escamas de tilápia do Nilo (Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca, 2016).....36
- Figura 2.** Adaptação da metodologia de Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca (2016) para obtenção da quitosana purificada a partir de escamas de tilápia do Nilo.....36
- Figura 3.** Degradabilidade ruminal da MS da quitosana de escama de peixe (●) e quitosana de crustáceos (x) em diferentes tempos de incubação ruminal.....41

CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Concentração de pH e N-NH₃ em função do tempo de incubação (horas) sob diferentes tratamentos.50

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV - Ácidos graxos voláteis
A:P - Relação acetato : propionato
MS - Matéria seca
CON - Controle
CV - Coeficiente de variação
DE - Degradabilidade efetiva
DIV - Digestibilidade *in vitro*
DIVMS - Digestibilidade *in vitro* da matéria seca
DIVPB - Digestibilidade *in vitro* da proteína bruta
EE - Extrato etéreo
EEB - Encefalopatia espongiforme bovina
FDA - Fibra em detergente ácido
FDN - Fibra em detergente neutro
FTIR - Espectroscopia infravermelho PB: Proteína bruta
I - Fração indegradável
LIG - Lignina
MON - Monensina
NaOH - Hidróxido de sódio
N-NH₃ - Nitrogênio amoniacal
PV - Peso vivo
QC - Quitosana de crustáceo
QEP - Quitosana de escama de peixe
RPM - Rotação por minuto
V:C - Relação volumoso : concentrado

QUITOSANA COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA RUMINANTES

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo desenvolver e validar um método para a extração de quitosana a partir de escamas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), com base em suas características estruturais, bromatológicas e potencial utilização, além de avaliar o efeito da quitosana obtida de escamas de peixe sobre a digestibilidade de nutrientes, os parâmetros fermentativos e a cinética de fermentação ruminal *in vitro* de diferentes alimentos. Foi conduzido uma revisão integrativa sobre a utilização de quitosana, sintetizando informações sobre doses, efeitos sobre consumo, digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais, perfil de ácidos graxos voláteis, produção de metano, buscando avaliar de forma crítica os dados utilizando quitosana e elencar possíveis temáticas defasadas para futuras pesquisas na área. A quitosana de escamas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi obtida por meio das etapas de desacetilação e solubilização, e caracterizada por espectroscopia no infravermelho (FTIR), posteriormente foi realizada análises bromatológicas e ensaio de degradabilidade ruminal *in vitro*. Para avaliação avaliar os parâmetros fermentativos, de digestibilidade e cinéticos foi utilizado delinemanento de blocos casualizados, com arranjo fatorial 4x3, dividido em quatro tratamentos: controle, monensina, quitosana de crustáceo e quitosana de peixes; e três alimentos: milho moído, farelo de soja e silagem de mandioca. Foi analisado a bromatologia, digestibilidade da matéria seca e proteína bruta, parâmetros fermentativos, produção de ácidos graxos voláteis e cinética da fermentação ruminal. A análise bromatológica revelou maior teor de matéria seca (95,49%) e ausência de cinzas e proteínas residuais na quitosana extraída das escamas, em comparação à quitosana obtida de crustáceos, o que demonstra maior pureza do produto. O grau de desacetilação foi de (76%), o que caracteriza como quitosana. A inclusão de quitosana alterou a cinética e a digestibilidade ruminal, reduzindo a DIVMS e DIVPB do farelo de soja e o N-NH₃, mas estimulando a digestão proteica e a fermentação de carboidratos da silagem de mandioca. Os resultados indicam que as escamas de tilápia constituem uma fonte alternativa para produção de quitosana de alta qualidade, devido aos padrões de digestibilidade e fermentação similares a quitosana de crustáceo, podendo ser utilizada como aditivo modulador ruminal, indicada principalmente associadas a dietas acidificantes do ambiente ruminal, como em confinamentos de alto grão, por se tratar de um aditivo que auxilia no controle do pH ruminal.

Palavras-chave: consumo, digestibilidade, metano, microrganismos ruminais, modulador ruminal, parâmetros fermentativos

CHITOSAN AS A FEED ADDITIVE FOR RUMINANTS

ABSTRACT - This study aimed to develop and validate a method for extracting chitosan from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales, based on their structural and bromatological characteristics and potential uses. It also aimed to evaluate the effect of chitosan obtained from fish scales on nutrient digestibility, fermentative parameters, and in vitro ruminal fermentation kinetics of different feedstuffs. An integrative review on the use of chitosan was conducted, synthesizing information on doses, effects on consumption, nutrient digestibility, ruminal parameters, volatile fatty acid profile, and methane production, seeking to critically evaluate data using chitosan and identify possible outdated themes for future research in the area. Chitosan from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales was obtained through deacetylation and solubilization steps and characterized by infrared spectroscopy (FTIR). Subsequently, bromatological analyses and an in vitro ruminal degradability assay were performed. To evaluate the fermentative, digestibility, and kinetic parameters, a randomized block design was used, with a 4x3 factorial arrangement, divided into four treatments: control, monensin, crustacean chitosan, and fish chitosan; and three feedstuffs: ground corn, soybean meal, and cassava silage. Bromatological analysis, dry matter and crude protein digestibility, fermentative parameters, volatile fatty acid production, and ruminal fermentation kinetics were analyzed. Bromatological analysis revealed a higher dry matter content (95.49%) and absence of ash and residual proteins in chitosan extracted from scales, compared to chitosan obtained from crustaceans, demonstrating greater product purity. The degree of deacetylation was 76%, characterizing it as chitosan. The inclusion of chitosan altered ruminal kinetics and digestibility, reducing the in vitro dry matter digestibility (IVDMD) and vitro crude protein digestibility (IVCPD) of soybean meal and N-NH₃, but stimulating protein digestion and carbohydrate fermentation of cassava silage. The results indicate that tilapia scales constitute an alternative source for the production of high-quality chitosan, due to digestibility and fermentation patterns similar to crustacean chitosan. They can be used as a rumen modulating additive, particularly in association with diets that acidify the rumen environment, such as in high-grain feedlots, as they help control rumen pH.

Keywords: consumption, digestibility, methane, ruminal microorganisms, ruminal modulator, fermentative parameters

HIPÓTESE

A quitosana de escama de peixe tem potencial de modulador ruminal, modificando os parâmetros de fermentação ruminal e perfil de ácidos graxos voláteis.

OBJETIVO(S)

Objetivo Geral

Avaliar o potencial da quitosana como aditivo alimentar em ruminantes, considerando diferentes fontes (crustáceos e escamas de peixe), e comparar seus efeitos com aditivos convencionais sobre fermentação ruminal, digestibilidade e eficiência de utilização de nutrientes.

Objetivos Específicos:

- Realizar uma revisão integrativa sobre o uso de quitosana na alimentação de bovinos, sintetizando informações sobre doses, efeitos sobre consumo, digestibilidade, perfil de ácidos graxos voláteis, produção de metano e parâmetros ruminais.
- Desenvolver e avaliar um método de extração de quitosana a partir de escamas de peixe visando substituir a quitosana tradicional derivada de crustáceos.
- Testar e comparar os efeitos da quitosana de peixe em relação à quitosana de crustáceos e a monensina sobre a digestibilidade de nutrientes, parâmetros fermentativos, produção de ácidos graxos voláteis e a produção total de gases e a cinética da fermentação ruminal dos alimentos em ruminantes.
- Investigar a viabilidade do uso da quitosana como modulador ruminal natural, considerando diferentes fontes e sua eficácia em substituir ou complementar aditivos convencionais.

CAPÍTULO 1

REVISÃO INTEGRATIVA

1. INTRODUÇÃO

Na alimentação de ruminantes, diversas classes de aditivos são empregadas com o objetivo de potencializar o desempenho produtivo e preservar a saúde e o equilíbrio metabólico dos animais. Entre os aditivos mais comuns destacam-se os ácidos orgânicos, enzimas, probióticos, prebióticos e extratos de plantas (Shah et al., 2022). O uso de aditivos naturais em substituição a aditivos sintéticos na alimentação de ruminantes tem se mostrado promissor por apresentar menor risco de resíduos nos produtos de origem animal, menor impacto ambiental e reduzida probabilidade de induzir resistência microbiana (Rey et al., 2023). Além disso, muitos desses compostos atuam de forma multifuncional no rúmen, modulando a fermentação, melhorando a eficiência de utilização dos nutrientes e contribuindo para a saúde animal sem os efeitos colaterais frequentemente associados aos aditivos sintéticos.

Entre os aditivos naturais estudados com esse propósito, destaca-se a quitosana, um polissacarídeo obtido pela desacetilação da quitina, o segundo biopolímero mais abundante na natureza, encontrado em exoesqueletos de crustáceos, escamas de peixes, insetos e na parede celular de algumas plantas e fungos (Guarnieri et al., 2022). A quitosana tem despertado grande interesse por ser biodegradável, abundante, biocompatível e não tóxica, o que a torna uma alternativa promissora aos aditivos sintéticos tradicionalmente utilizados na alimentação de ruminantes.

Seu potencial na nutrição animal está relacionado principalmente à capacidade de modular a microbiota ruminal, influenciando os processos fermentativos e melhorando a eficiência de utilização dos nutrientes (Harahap et al., 2022). Essa ação é atribuída às suas propriedades antimicrobianas e catiônicas, que permitem à molécula interagir com as cargas negativas da membrana celular bacteriana, alterando sua permeabilidade, inibindo o crescimento de microrganismos e, em alguns casos, levando à lise celular (Rey et al., 2023; Shah et al., 2022).

A modulação microbiana promovida pela quitosana pode resultar em redução das populações de bactérias metanogênicas e proteolíticas, além de alterações no perfil dos ácidos graxos voláteis (AGV), favorecendo a formação de propionato em detrimento do acetato, o que implica menor disponibilidade de hidrogênio para a metanogênese (Araújo et al., 2015; Harahap et al., 2022; Rey et al., 2023). Esses efeitos, associados à manutenção da digestibilidade dos nutrientes, reforçam o potencial da quitosana como modulador ruminal natural e ferramenta estratégica para mitigar as emissões de metano, sem

comprometer o desempenho animal.

Com o aumento da demanda global por produtos de origem animal e a necessidade de reduzir o impacto ambiental da pecuária, torna-se fundamental compreender de forma abrangente os efeitos e mecanismos de ação da quitosana na alimentação de ruminantes. Assim, esta revisão integrativa tem como objetivo compilar, analisar criticamente e discutir as evidências disponíveis na literatura científica sobre o uso de quitosana na nutrição de ruminantes, buscando identificar lacunas de conhecimento e apontar perspectivas para futuras pesquisas voltadas à eficiência produtiva e sustentabilidade dos sistemas pecuários.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Metodologia

Trata de um estudo de revisão de literatura integrativa utilizado para gerar um panorama consistente sobre o uso de quitosana como modulador ruminal na produção de ruminantes. Esse é, atualmente, o método mais amplo de pesquisa de revisão por determinar o conhecimento atual sobre uma temática específica, conduzida de modo a identificar, analisar e sintetizar os resultados de estudos independentes sobre o mesmo assunto.

2.1.1. Elaboração do protocolo e questão norteadora

Um protocolo de revisão (APÊNDICE A) foi previamente desenvolvido para garantir os procedimentos corretos de busca, extração, análise e transferência de dados para a produção de evidências científicas de alto nível, por meio de uma estratégia de busca altamente sensível para atender ao objetivo proposto. Para garantir a utilização de termos sensíveis para a busca de estudos adequados de forma não aleatória na revisão, foi realizada análise revisada por pares de artigos científicos publicados sobre o tema em estudo, uma vez que não há padronização de termos controlados especificamente para a área.

Para elaboração da questão norteadora desta revisão foi utilizada a estratégia mnemônica PVO, onde população (P) estudada foi composta por bovinos, de corte ou leite, a variável (V) de interesse foi o uso de quitosana como aditivo suplementar e os resultados (O, do inglês “*outcome*”) foram o consumo, digestibilidade, parâmetros fermentativos e produção de metano. Desta forma foi constituída a seguinte questão norteadora: “Como o uso de quitosana como aditivo suplementar influencia o consumo, digestibilidade, parâmetros fermentativos e produção de metano em bovinos?”

2.1.2.Busca nas bases de dados

A busca foi realizada por pares nas bases de dados: SCOPUS (Elsevier) e Web of Science até o dia 24 de setembro de 2025. As bases de dados foram utilizadas por possuírem alto índice de impacto na temática abordada e serem de acesso gratuito, facilitando o acesso aos artigos. Para ter acesso a base de dados foi utilizado o Portal de Periódicos da CAPES, por meio do proxy da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD, Brasil). Os descritores utilizados na busca estão descritos no Quadro 1.

Tabela 1. Descritores e operadores booleanos utilizados em cruzamento único para pesquisa de alta sensibilidade nas bases de dados.

Acrônimo	Descritores
População (P)	"Ruminants" OR "Beef cattle" OR "Cattle" OR "Calf" OR "Heifer" OR "Bull" OR "Cow" OR "Dairy cattle"
AND	
Variáveis (V)	"Chitosan" OR "Chitosan supplementation" OR "Chitin" OR "Chitosan degradation"
AND	
Desfechos (O)	"Digestibility" OR "Fermentation parameters" OR "Fermentation" OR "Volatile fatty acids" OR "Ammonia nitrogen" OR "Gas production" OR "Intake" OR "Feed intake" OR "Ruminal fermentation" OR "Nitrogen compound balance" OR "Microbial synthesis" OR "Acid detergent fiber" OR "Dry matter" OR "Dry matter intake" OR "Crude protein" OR "Neutral detergent fiber" OR "Methane production" OR "CH4" OR "Methanogenesis" OR "Methane enteric"

Com o intuito de retirar artigos que não eram de interesse no momento da busca, foi utilizado o operador booleano “NOT”, seguido das palavras "Dressing" OR "Film" OR "Chitosan nanoparticles" OR "Human" OR "Beef preservation" OR "Nano-chitosan" OR "Empty chitosan nano-capsules" OR "Encapsulated chitosan" OR "Chitosan capsule".

Foram incluídos artigos completos de pesquisa disponíveis nas bases de dados eletrônicas, realizados sob qualquer delineamento de pesquisa, que responderam à questão norteadora. Os estudos foram considerados relevantes quando: (1) tratavam de pesquisa primária publicada no formato de um artigo científico; (2) incluíam uso de quitosana como aditivo alimentar para ruminantes; e (3) avaliavam o consumo,

digestibilidade, fermentação ruminal e/ou produção de metano entérico. Os artigos duplicados dentro e entre as bases de dados foram considerados uma única vez.

Foram excluídos artigos no formato de editoriais, cartas ao editor, resumos, opinião de especialistas, outras revisões, correspondências, resenhas, capítulos de livros, teses e dissertações, resumos, palestras, livros ou capítulos de livros. Artigos que avaliaram quitosana como material para encapsulação de tratamentos não foram incluídos na revisão, uma vez que o foco esteve direcionado à sua utilização como aditivo nutricional na dieta. Artigos que tratavam de espécies diferentes de bovinos, dados gráficos sem valores e resultados da utilização de quitosana associada à outros aditivos, sem dados únicos foram excluídos. As unidade de medida foram padronizadas em mg/dL, mol/100mol e mL/d.

2.1.3. Triagem e coleta de dados

Na primeira etapa de triagem do banco de dados, dois revisores avaliaram os resultados da pesquisa de forma individual, por meio da leitura dos títulos e resumos. Logo após, as discordâncias entre os revisores foram resolvidas por meio de uma reunião de consenso. Em uma segunda etapa os textos completos dos artigos selecionados foram examinados na íntegra e avaliados quanto aos critérios de elegibilidade. O *software* Microsoft Excel® foi utilizado em todas as etapas de triagem.

Utilizou-se um formulário no *software* Microsoft Excel® para tabulação de dados desenvolvido especificamente para os fins deste estudo, com a inclusão de informações sobre a identificação da publicação (título do artigo, bases de dados indexadas, autores, país, idioma e ano de publicação), nome do periódico científico, características metodológicas (tipo de estudo, delineamento experimental, critérios de composição dos grupos tratamento e controle, período experimental, variáveis avaliadas e principais resultados), além de informações sobre o tipo de quitosana utilizada (origem, forma de administração e dose), parâmetros fermentativos e de digestibilidade, indicadores de desempenho produtivo dos animais, limitações relatadas e conclusões apresentadas pelos autores. Os artigos não foram filtrados segundo ano de publicação, idioma ou país de origem.

2.1.4. Análise crítica dos estudos incluídos

Inicialmente os estudos foram classificados de acordo com o nível de evidência produzida (*JB1 evidence level*) e incluídos os que apresentaram nível 1 de acordo com

os instrumentos CASP como garantia de inclusão apenas de estudo de maior poder de evidência.

Para avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos foram utilizados os instrumentos CASP por tipo de desenho metodológico (disponível em: <https://casp-uk.net/casp-tools-checklists/>), com inclusão apenas dos que atenderam aos critérios indispensáveis de cumprimento dos métodos de pesquisa anunciados em cada trabalho. Adicionalmente foi realizada uma análise por meio da estatística descritiva dos dados.

2.1.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma síntese quantitativa exploratória, com o objetivo de sintetizar e interpretar os resultados obtidos nos estudos incluídos. Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva das variáveis de interesse. Em seguida, aplicou-se análise de regressão para investigar possíveis relações entre a dose de quitosana e os efeitos observados sobre os parâmetros avaliados.

Foi conduzida uma análise de cluster, com o objetivo de agrupar as variáveis ou estudos com perfis semelhantes, facilitando a identificação de tendências e associações relevantes entre os diferentes parâmetros avaliados. Todas as análises foram conduzidas utilizando o software Minitab® 17.1.0.

2.2. Revisão integrativa

O software Microsoft Excel® foi utilizado para tabular as informações dos artigos, a fim de eliminar duplicidade. Foram identificados 207 documentos (Figura 1), sendo 190 artigos selecionados para leitura do título, resumo e palavras-chave. Do total, 27 foram identificados como fontes potenciais de dados de interesse. Um total de 17 artigos foram considerados elegíveis e incluídos devido a robustez metodológica para extração dos dados, por se tratarem da espécie explorada e administração de dose de quitosana individual (Figura 1). Todos os estudos apresentaram alto nível de evidencia (nível 1) por serem estudos individuais com delineamento experimental.

Foram incluídos 17 artigos completos para extração de dados. Os artigos incluídos na revisão foram publicados de 2015 a 2025, sendo 41,17% publicado nos últimos cinco anos. As pesquisas foram realizadas predominantemente no Brasil ($\approx 71\%$ dos estudos), seguido por Reino Unido, EUA, México, Irlanda e Espanha.

Os estudos incluídos foram realizados *in vivo* (14) ou *in vitro* (4). Os estudos foram realizados em bovinos de corte ou bovinos leiteiros, com predominância das raças

Nelore, Mestiço (Holandês x Zebu, Holandês x Pardo Suíço, Holandês x Belgian Blue), Jersey ou Holandês, totalizando 173 animais amostrados.

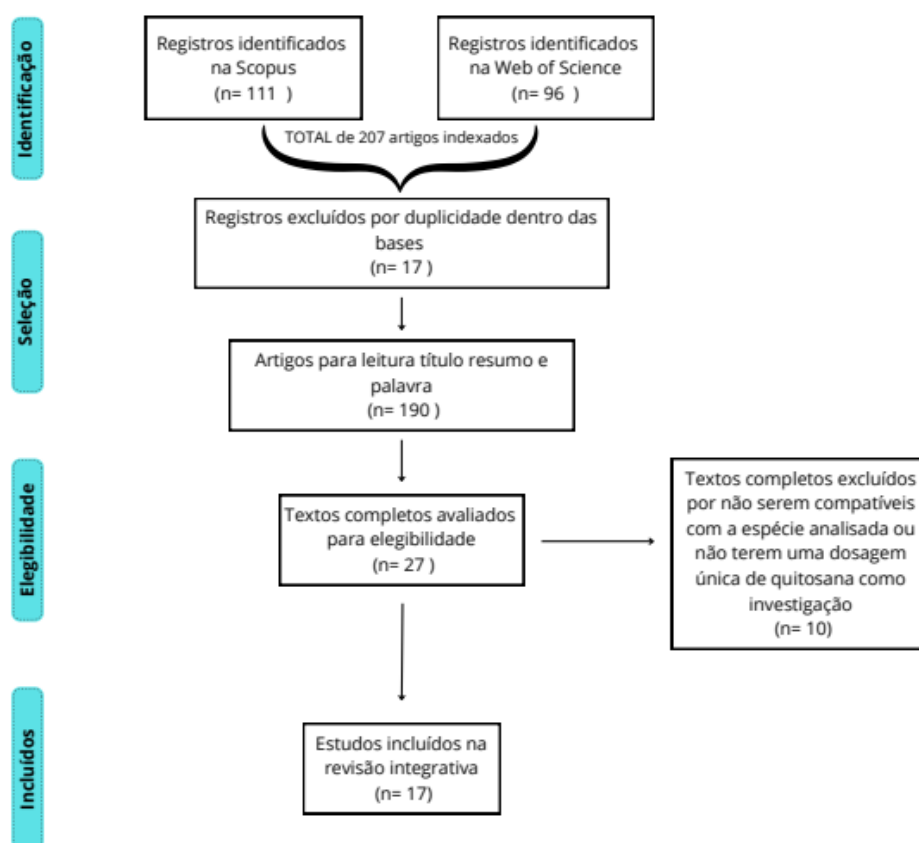


Figura 1. Fluxograma PRISMA – etapas da revisão integrativa, elaborado pelos autores.

Todos os trabalhos avaliaram uso de quitosana de crustáceos, utilizando doses com valores entre 50 mg/kg à 11.150 mg/kg de MS (Tabela 1). Os efeitos observados ocorreram entre doses de 400 a 4.000 mg/kg de MS, sendo que doses elevadas (>10.000 mg/kg) quando utilizadas em dietas predominantemente volumosa, geralmente reduzem a digestibilidade (Kirwan et al., 2021).

Tabela 2. Características metodológicas dos estudos incluídos nessa revisão.

Autor/ano	País Realizado	População ²	N ¹ amostral	Tipo de estudo	Fonte de quitosana	Inclusão quitosana (mg/kg de MS)
Araújo, et al., 2015	Brasil	Nelore	8	In vivo	Crustáceo	50 100 150

						19 500
Belanche, et al., 2016	Reino Unido	-	-	In vitro	Crustáceo	1000 2000
Carvalho, et al., 2025	Brasil	Jersey	4	In vivo	Crustáceo	4000
Del Valle, et al., 2016	Brasil	Holandês	24	In vivo	Crustáceo	4000
						400
Dias, et al., 2017	Brasil	Mestiço	5	In vivo	Crustáceo	800 1200 1600
Gandra, et al., 2016	Brasil	Jersey	12	In vivo	Crustáceo	2000
						5575
Henry, et al., 2015	USA*	Mestiço	24	In vivo	Crustáceo	11149 5688 11150
Jiménez-Ocampo, et al., 2021	México	Mestiço	6	In vitro In vivo	Crustáceo	1500 3000
Kirwan, et al., 2021	Irlanda	Belgian blue e Holandês	8	In vivo	Crustáceo	10000
Oliveira, et al., 2025	Brasil	Holandês x Zebu	5	In vivo	Crustáceo	375
						75
Paiva, et al., 2016	Brasil	Holandês	8	In vivo	Crustáceo	150 225
Pereira, et al., 2019	Brasil	-	-	In vitro	Crustáceo	900
Rey, et al., 2023	Espanha	Holandês e Pardo suíço	16	In vivo	Crustáceo	135
Silva, et al., 2025	Brasil	Mestiço	5	In vivo	Crustáceo	900
Vendraminia,	Brasil	Holandês	24	In	Crustáceo	150

et al., 2016				vivo		
Vieira, et al., 2022	Brasil	-	-	In vitro	Crustáceo	500
Zanferari, et al., 2018	Brasil	Holandês	24	In vivo	Crustáceo	4000

¹Número de animais utilizados no experimento; ²Raça animal utilizada; *Estados Unidos da América.

A maioria dos estudos trabalhou com relação volumoso:concentrado entre 50:50 e 60:40 (Tabela 3). No entanto, segundo Oliveira et al. (2025), efeitos mais expressivos do uso da quitosana aparecem em dietas de alto concentrado (20:80; 15:85), indicando maior sensibilidade do ambiente ruminal nesses sistemas.

Tabela 3. Dados de concentração volumoso:concentrado, consumo e digestibilidade animal suplementados com quitosana.

Autor/ano	V:C ¹	Consumo (kg de MS)	DIVMS (g/kg de MS)	DIVPB (g/kg de MS)	Inclusão quitosana (mg/kg de MS)
Araújo, et al., 2015	60:40	8,49	675	649	50
		8,39	683	664	100
		8,25	690	675	150
Belanche, et al., 2016	67:33	-	-	-	500
					1000
					2000
Carvalho, et al., 2025	50:50	16,0	608	654	4000
Del Valle, et al., 2017	50:50	21,2	740	767	4000
		10,2	664	808	400
		14,1	656	774	800
Dias, et al., 2017	94:6	12,0	664	781	1200
		10,5	675	786	1600
Gandra, et al., 2016	50:50	5,66	692	770,8	2000
Henry, et al., 2015	15:85	8,1	488	592,6	5575
		9,4	511,89	622,8	11149

	64:36	8,9	440,4	534,4	5688
		8,1	384,7	552,7	11150
Jiménez-Ocampo, et al., 2021	70:30	8,69	582,2	661,3	1500
		8,97	603,8	681,6	3000
Kirwan, et al., 2021	50:50	12,31	242,7	247,4	10000
		12,14	239,2	218,4	10000
Oliveira, et al., 2025	15:85	7,23	454	616	375
		20,3	660	720	75
Paiva, et al., 2016	63:37	19,4	670	731	150
		20,2	670	731	225
	100:0	-	620	200	
Pereira, et al., 2019	50:50	-	790	390	900
	40:60	-	840	570	
	20:80	-	890	760	
Rey, et al., 2023	63:37	-	-	-	135
Silva, et al., 2025	60:40	6,37	660,5	723,28	900
Vendraminia, et al., 2016	50:50	22,8	670	700	150
	20:80	-	686	486	
	35:65	-	654	671	
Vieira, et al., 2022	50:50	-	605	695	500
	65:35	-	533	655	
	100	-	357	366	
Zanferari, et al., 2018	50:50	22,6	377,95	390,94	4000

¹Proporção volumoso:concentrado.

Os parâmetros fermentativos e a estimativa da produção de metano de animais suplementados com quitosana esta descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros fermentativos e estimativa da produção de metano de animais

suplementados com quitosana

Autor/ano	pH	N-NH ₃ ¹	Acetato	Propionato	Butirato	A:P ²	Metano (mL/d)	Inclusão quitosana (mg/kg de MS)
Araújo, et al., 2015	6,30	18,1	69,0				-	
	6,30	17,6	68,6	19,5	11,4	3,5	-	50
	6,30	15,6	67,9	20,2	11,1	3,4	-	100
				21,1	10,8	3,2	-	150
Belanche, et al., 2016	6,45	12,1	69,2	15,1	12,0	-	11,9	500
	6,46	18,6	69,1	15,4	11,8	-	10,8	1000
	6,44	14,7	68,7	18,6	9,5	-	9,67	2000
Carvalho, et al., 2025	6,7	-	-	-	-	-	-	4000
Del Valle, et al., 2017	6,46	33,6	66,1	21,5	12,4	3,13	-	4000
Dias, et al., 2017	6,46		65,4	13,0	7,94	4,92	-	400
	6,55	12,3	60,8	13,1	7,38	4,89	-	800
	6,53	12,6	63,5	12,3	7,39	5,03	-	1200
	6,54	10,6	64,8	15,4	7,84	4,22	-	1600
Gandra, et al., 2017	-	-	-	-	-	-	-	2000
Henry, et al., 2015	5,66	6,86	63,6	21,4	10,8	2,98	58,23	5575
	5,73	6,85	63,5	21,4	10,7	2,98	57,68	11149
	6,64	5,43	73,0	15,7	7,9	4,66	160,32	5688
	6,63	5,44	73,5	15,5	7,7	4,77	216,61	11150
	6,5	-	48,86	24,59	18,75	1,99	221,08	1500
Jiménez- Ocampo, et al., 2021	6,4	-	48,76	24,63	18,65	1,98	224,67	3000
	6,8	17,2	41,9	24,8	20,	1,6	27,9	1500
	6,7	12,8	43,1	26,2	18,6	1,6	51,8	3000
Kirwan, et al., 2021	6,47	37,69	11,2	1,4	1,0	8,51	-	10000
	6,45	24,52	11,5	1,3	1,0	9,07	-	10000
Oliveira, et al., 2025	6,22	25,82	5,8	2,6	1,9	2,24	25,81	375
Paiva, et al.,	6,42	24,11	66,08	19,60	13,40	3,47	-	75

								23
2016	6,38	25,64	68,01	21,56	10,73	3,25	-	150
	6,34	26,93	67,42	23,25	10,33	3,01	-	225
	7,09	10,24	-	-	-	-	-	
Pereira, et al.,	6,67	19,01	-	-	-	-	-	900
2019	6,71	21,50	-	-	-	-	-	
	6,35	27,17	-	-	-	-	-	
Rey, et al.,	-	-	64,1	18,2	14,1	3,54	331,17	135
2023								
Silva, et al.,	6,57	41,24	53,53	18,30	8,23	4,03	-	900
2025								
Vendraminia,	6,11	22,30	62,10	22,00	11,40	2,86	-	150
et al., 2016								
	6,66	10,67	8,99	7,92	0,77	1,26	-	
	6,56	17,56	9,86	11,64	0,72	0,92	-	
Vieira, et al.,	6,55	13,71	8,18	6,07	0,60	1,35	-	500
2022								
	6,58	17,42	10,20	9,81	0,71	1,04	-	
	6,68	16,04	10,10	11,40	0,66	0,88	-	
Zanferari, et	6,33	22,70	60,90	23,10	11,10	2,66	-	4000
al., 2018								

¹N-NH₃: nitrogênio amoniacal; ²A:P = relação acetato:propionato.

A análise descritiva dos dados de consumo, digestibilidade e parâmetros fermentativos de trabalhos com bovinos de corte ou leite suplementados com quitosana indica que este biopolímero tem efeito consistente sobre os parâmetros ruminais e fermentativos (Tabela 4). O consumo de MS apresentou média de 12,41 kg/dia, com elevada variabilidade, que pode ser explicada pelas diferenças entre categorias animais e pesos, com animais de 140 a 752 kg PV.

Dias et al. (2017), encontrou efeito positivo da quitosana na ingestão de MS em bovinos à pasto, em contrapartida Gandra et al. (2016) trabalhando com vacas em lactação, observou diminuição no consumo, porém ambos os trabalhos apresentaram melhorias na digestibilidade dos nutrientes, o que reforça a atuação da quitosana dependente da proporção V:C e da dose utilizada.

Tabela 5. Análise descritiva dos dados de consumo, digestibilidade e parâmetros fermentativos da amostra de artigos

Variável	N	Média	EPM	DP	Mínimo	Máximo
Consumo de MS (kg/d)	25	12,41	1,10	5,50	5,66	22,80
DIVMS (g/kg de MS)	34	599,30	26,00	151,80	239,20	890,00
DIVPB (g/kg de MS)	34	613,20	28,70	167,60	200,00	808,00
pH	38	6,46	0,04	0,25	5,66	7,03
N-NH ₃ (mg/dL)	36	17,80	1,49	8,96	0,00	41,24
AGV total (mol/100mol)	21	103,03	5,90	27,03	57,10	145,50
Acetato (mol/100mol)	34	57,74	4,25	24,81	8,18	115,30
Propionato (mol/100mol)	34	17,83	0,92	5,35	6,07	26,20
Butirato (mol/100mol)	33	12,72	2,73	15,67	0,60	94,70
C2:C3	31	3,23	0,34	1,91	0,88	9,07
Metano (mL/d)	13	108,30	30,00	108,20	9,70	331,20

¹DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; ²DIVPB = digestibilidade *in vitro* da proteína bruta; ³N-NH₃: nitrogênio amoniacal; ⁴ A:P= relação acetato:propionato; EPM = erro padrão da média; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

A DIVMS média foi de 60% o que indica uma atividade microbiana adequada, típica de dietas de ruminantes com ingredientes fibrosos (Tabela 5). A inclusão de quitosana na dieta influenciou de forma quadrática ($p < 0,001$) a DIVMS, conforme descrito pela equação: $\text{DIVMS (g/kg MS)} = 687,4 - 0,05100x + 0,000002x^2$ ($R^2=44,2\%$ Figura 2). Observa-se que o aumento da concentração de quitosana resultou em redução acentuada da digestibilidade, atingindo valores mínimos de DIVMS quando utilizado doses em torno de 11.000 a 11.500 mg/kg de MS (Figura 2).

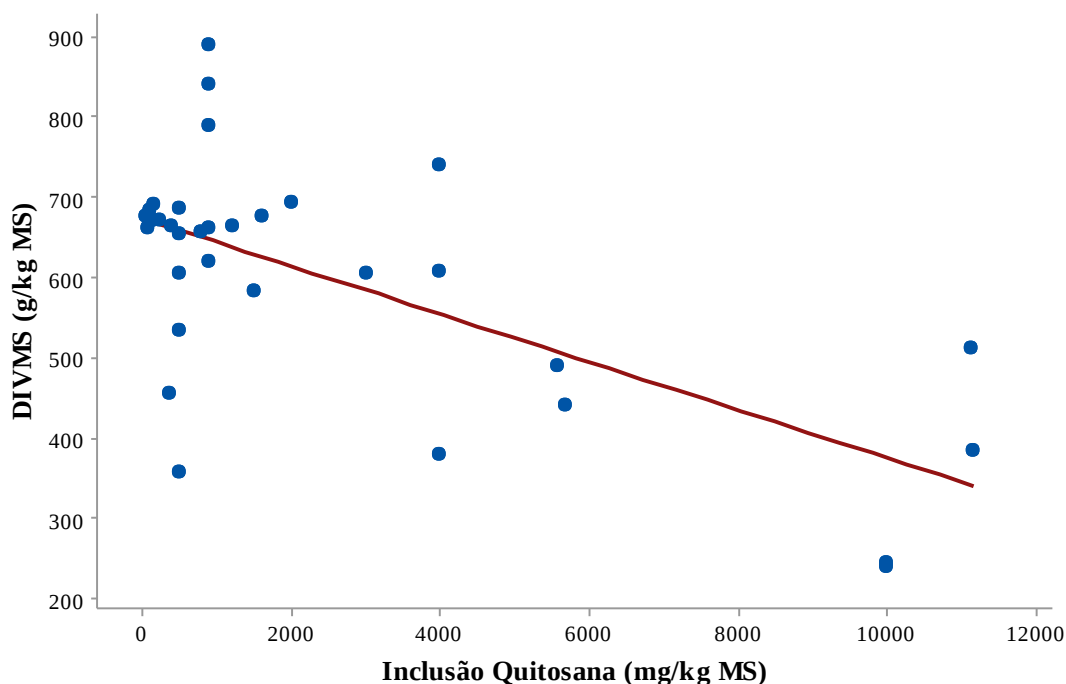


Figura 2. Relação entre a inclusão de quitosana (mg/kg MS) e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS, g/kg MS). $DIVMS \text{ (g/kg MS)} = 673,5 - 0,02988x$ ($R^2 = 44,2\%$; $P < 0,001$)

Um valor superior de DIVMS (> 600 g/kg MS) é alcançado com uma inclusão moderada de quitosana (≈ 1.850 mg/kg de MS; Figura 2). Embora o consumo de matéria seca esteja fundamentalmente mais relacionado ao peso corporal do animal e à digestibilidade da dieta (Blake et al., 2023), este padrão sugere que a inclusão em excesso desse aditivo pode não apenas ser ineficaz, mas também atuar como um fator limitante ou redutor do consumo.

Resultados semelhantes foram observados por Min et al. (2003) e Silva et al. (2023) que relataram redução da digestibilidade com inclusão de compostos de ação antimicrobiana natural, principalmente devido à inibição seletiva de bactérias celulolíticas e proteolíticas, comprometendo a degradação da fibra e, consequentemente, a digestibilidade da matéria seca. Esse mecanismo ainda sugere o favorecimento do fluxo de proteína não degradada no rúmen para ser absorvida a nível intestinal (Shah et al., 2022), alterando a partição de nutrientes sem comprometer totalmente a eficiência digestiva do animal.

A DIVPB semelhante à da MS (média de 613,20 g/kg MS) indica que a quitosana não comprometeu a disponibilidade proteica. Esse resultado está em consonância com o pH ruminal médio de 6,46, que caracteriza um ambiente favorável à atividade microbiana e à digestão de fibra (Kirwan et al., 2021), permitindo a síntese eficiente de proteína

microbiana. Apesar disso, a redução acentuada do N-NH_3 em determinados momentos, cuja média foi de 17,8 mg/dL e variou de 8,96 a 41,24 mg/dL, sugere menor degradação ruminal da proteína, o que possivelmente favoreceu o fluxo de proteína não degradada para o intestino, mantendo a digestibilidade observada (Tabela 4).

A maior eficiência no uso do nitrogênio (concentrações de $\text{N-NH}_3 < 20$ mg/dL) foi observada em DIVPB > 450 g/kg de MS e inclusão de quitosana ≤ 5.000 mg/kg de MS (Figura 3). Kirwan et al. (2021), utilizando superdosagem de 10 g/kg de MS, sugeriu um desequilíbrio metabólico que pode ter inibido a ação de microrganismos cruciais ou limitado a energia disponível para síntese proteica, fazendo com que o nitrogênio se acumulasse, sendo excretado nas fezes. Já Gandra et al. (2016), observou uma redução no nitrogênio excretado nas fezes, utilizando uma dosagem de 2 g/kg de MS, sugerindo que a quitosana pode ser mais eficiente em dosagens mais baixas.

Logo, a inclusão de quitosana deve ser vista como uma estratégia para melhorar o metabolismo nitrogenado no rúmen. Contudo, é necessário que sua aplicação seja ajustada ao teor de proteína e energia da dieta, visto que em dietas com baixa qualidade proteica, a quitosana demonstrou ser ineficaz ou prejudicial, resultando em acúmulo maior de amônia (Figura 3).

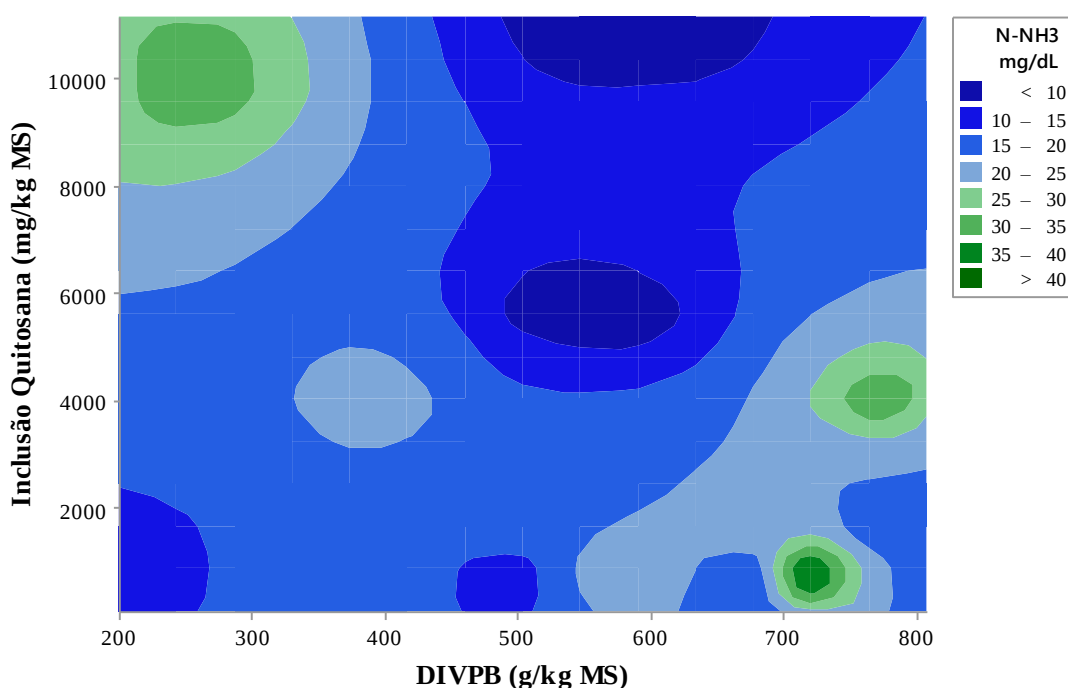
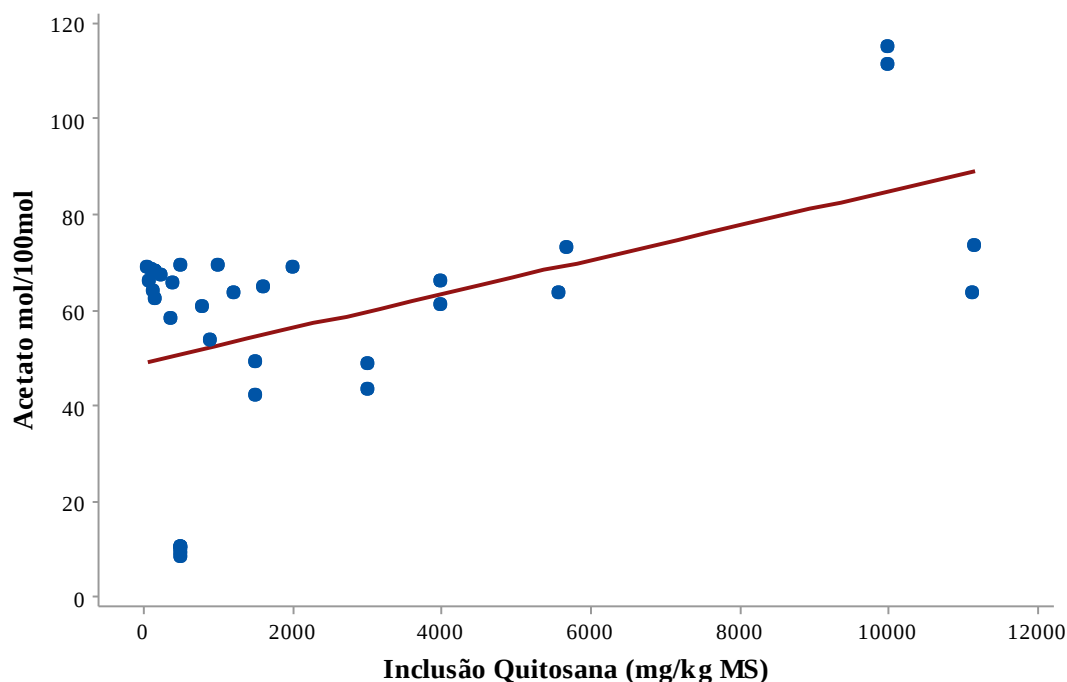


Figura 3. Mapa de Contorno da interação entre inclusão de quitosana (mg/kg de MS) e digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIVPB, g/kg de MS) sobre a produção de nitrogênio amoniacal (N-NH_3).



A produção de metano apresentou média de 108,3 mL/dia (Tabela 3), porém com ampla dispersão (DP = 108,20), reforçando que, embora alguns estudos relatem redução na emissão de metano com quitosana, os efeitos são dependentes da fermentação entérica e produção de AGV no rúmen (Rey et al., 2023) (Figura 4).

O dendograma, resultante da análise de cluster hierárquico, revela as relações de similaridade entre as variáveis de desempenho, digestibilidade e metabolismo ruminal (Figura 4). O grupo 1 inclui as variáveis consumo de MS e DIVMS; dietas de alta qualidade tendem a apresentar maior digestibilidade, o que, por sua vez, pode influenciar positivamente a ingestão. O grupo 2, formado pelos AGV, demonstra que as concentrações molares dos ácidos graxos são altamente interdependentes e influenciada pela dieta e população microbiana ruminal. O grupo 3 apresenta alta similaridade entre A:P e produção de metano, o que confirma que a manipulação do propionato (via de escape de hidrogênio) ou acetato (gerador de hidrogênio) é o principal regulador da metanogênese. O pH se uniu a esse subgrupo, indicando que o ambiente ruminal é fator determinante para população das arqueias metanogênicas. O agrupamento de DIVPB com N-NH₃ é esperado, visto que N-NH₃ é o principal produto da degradação proteica no rúmen.

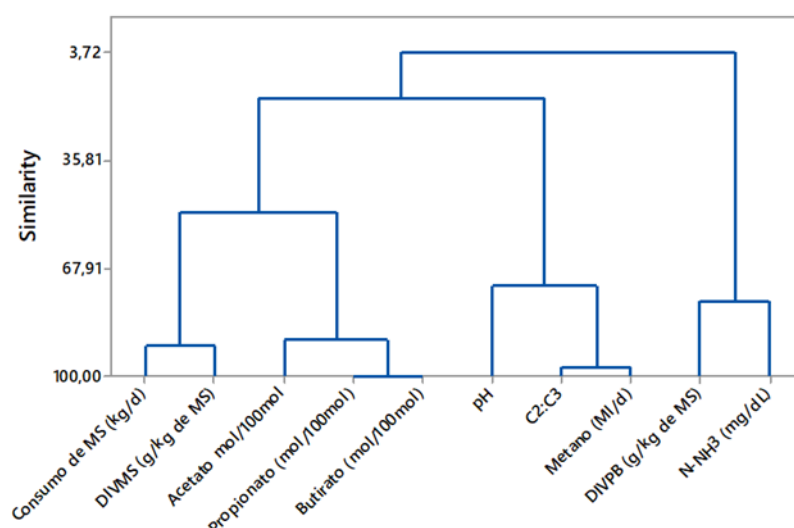


Figura 6. Inter-relação entre as variáveis de desempenho e metabolismo ruminal por meio da Análise de Agrupamento (*Cluster*) Hierárquico.

De modo geral, a quitosana atua como modulador natural da fermentação ruminal, apresentando efeitos positivos sobre a digestibilidade dos nutrientes e a eficiência de utilização do nitrogênio. Sua ação vai depender principalmente da proporção volumoso:concentrado das dietas e dose utilizada, visto que ainda requer padronização de doses e caracterização de sua fonte e pureza para uso consistente em sistemas de produção de ruminantes.

O grau de desacetilação e a pureza do polissacarídeo influenciam diretamente sua estrutura e, conseqüentemente, sua atividade antimicrobiana e seu desempenho no rúmen. Atualmente, a falta de padronização universal de doses e informações acerca da pureza do polissacarídeo em trabalhos da área de ciência animal, impede a extrapolação consistente dos resultados para diferentes sistemas de produção de ruminantes, tornando a otimização de dietas um desafio específico para cada formulação do aditivo.

2.3. Limitações e Sugestões para Trabalhos Futuros

Uma limitação identificada nesta revisão foi a falta de padronização das unidades de medida entre os estudos, o que dificultou a comparação direta e a realização de análises integradas. Além disso, alguns trabalhos apresentaram os resultados apenas em formato de figuras, sem disponibilizar os dados tabulados necessários para extração e análise quantitativa. Outra limitação foi a diversidade de espécies estudadas; enquanto alguns trabalhos avaliaram caprinos e bubalinos, outros não puderam ser incluídos por utilizarem

quitosana associada a outros aditivos ou não possuírem uma dosagem única de quitosana, inviabilizando comparações.

Para trabalhos futuros, sugere-se investigar o efeito da quitosana em diferentes dietas e níveis de inclusão, avaliar sua ação isolada versus combinada com outros aditivos, explorar diferentes espécies ruminantes, além de padronizar unidades e disponibilizar dados tabulados para permitir meta-análises robustas.

2.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quitosana derivada de crustáceos atua como modulador da fermentação ruminal em bovinos, com efeitos consistentes sobre digestibilidade, perfil de ácidos graxos voláteis e utilização de nitrogênio. De modo geral, a quitosana mostra potencial como aditivo natural para modulação ruminal, favorecendo digestibilidade, eficiência de nitrogênio e perfil de AGV's em doses moderadas (até 5.000 mg/kg MS), mas a variabilidade entre estudos reforça a necessidade de padronização de doses, caracterização da fonte e pureza, além de avaliação em diferentes dietas e espécies para aplicação consistente na produção de ruminantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS, J. E.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; PAIVA, P. G.; RENNÓ, F. P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. *Animal Feed Science and Technology*, v. 206, p. 114-118, 2015. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.05.016.
- BELANCHE, A.; RAMOS-MORALES, E.; NEWBOLD, C. J. In vitro screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 96, n. 9, p. 3069-3078, 2016. DOI: 10.1002/jsfa.7481.
- BLAKE, N. E.; WALKER, M.; PLUM, S.; HUBBART, J. A.; HATTON, J.; MATA-PADRINO, D.; HOLÁSKOVÁ, I.; WILSON, M. E. Predicting dry matter intake in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 101, 2023, skad269. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skad269>
- AGUIAR, F. S.; BEZERRA, L. R.; CORDÃO, M. A.; CAVALCANTE, I. T. R.; OLIVEIRA, J. P. F.; NASCIMENTO, R. R.; SOUZA, B. B.; OLIVEIRA, R. L.; PEREIRA, E. S.; FILHO, J. M. P. Effects of increased total tannin levels on intake, digestibility, and nitrogen, water, and energy balance in lamb hair. *Animals*, v. 13, art. 2497, 2023. DOI: 10.3390/ani13152497.
- CARVALHO, V. M.; MENEZES, O. C.; SILVA, N. S.; PINA, D. S.; CARVALHO, G. G. P.; SILVA, R. D. G.; ARAÚJO, M. L. G. M. L.; RIBEIRO, C. V. M.; ROTTA, P. P.; BRANT, L. M. S.; JÚNIOR, J. E. F. Effects of ruminal infusion of unsaturated fatty acids on digestive parameters, milk fatty acids and ruminal kinetics in Jersey cows supplemented with chitosan. *Tropical Animal Health and Production*, v. 57, art. 164, 2025. DOI: 10.1007/s11250-025-04403-w.

OLIVEIRA, R. T.; GOES, R. H. T. B.; GANDRA, J. R.; CRUZ, F. N. F.; SILVA, N. G.; OLIVEIRA, L. S.; ROYER, J. L.; BATISTA DOMICIANO, L. G.; AZEVEDO, T. L. P.; ARAÚJO, C. M. C. Chitosan and cashew nut shell liquid as sustainable additives: enhancing starch digestibility and reducing methane emissions in high-grain diets for feedlot cattle. *Polymers*, v. 17, n. 13, art. 1860, 2025. DOI: 10.3390/polym17131860.

DEL VALLE, T. A.; PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; ZANFERARI, F.; COSTA, A. G. B. V. B.; BUENO, I. C. S.; RENNÓ, F. P. Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows. *Livestock Science*, v. 201, p. 22-29, 2017. DOI: 10.1016/j.livsci.2017.04.003.

DIAS, A. O. C.; GOES, R. H. T. B.; GANDRA, J. R.; BRANCO, A. F.; JACAÚNA, A. G.; OLIVEIRA, R. T.; SOUZA, C. J. S.; VAZ, M. S. M. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology*, v. 225, p. 77–87, 2017. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015.

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R.; PAIVA, P. G.; GOES, R. H. T. B.; 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*, v. 43, n. 3, p. 130-137, 2016. DOI: 10.1590/S1806-92902016000300007.

GUARNIERI, A.; TRIUNFO, M.; SCIEUZO, C.; IANNICIELLO, D.; TAFI, E.; HAHN, T.; ZIBEK, S.; SALVIA, R.; BONIS, A.; FALABELLA, P. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. *Scientific Reports*, v. 12, n. 8084, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-12150-3.

HARAHAP, R. P.; SUHARTI, S.; MUHAMMAD, R.; LACONI, E. B.; NAHROWI, N.; IRAWAN, A.; KONDO, M.; OBITSU, T.; JAYANEGARA, A. Meta-analysis of dietary chitosan effects on performance, nutrient utilization, and product characteristics of ruminants. *Animal Science Journal*, v. 93, e13676, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/asj.13676>.

HENRY, D. D.; MORENO, M.; CIRIACO, F. M.; KOHMANN, M.; MERCADANTE, V. R. G.; LAMB, G. C.; DILORENZO, N. Effects of chitosan on nutrient digestibility, methane emissions, and in vitro fermentation in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 93, n. 7, p. 3539–3550, 2015. DOI: 10.2527/jas2014-8844.

JIMÉNEZ-OCAMPO, R.; MONTOYA-FLORES, M. D.; HERRERA-TORRES, E.; PÁMANES-CARRASCO, G.; ARCEO-CASTILLO, J. I.; VALENCIA-SALAZAR, S. S.; ARANGO, J.; AGUILAR-PÉREZ, C. F.; RAMÍREZ-AVILÉS, L.; SOLORIO-SÁNCHEZ, F. J.; PIÑEIRO-VÁZQUEZ, Á. T.; KU-VERA, J. C. Effect of chitosan and naringin on enteric methane emissions in crossbred heifers fed tropical grass. *Animals*, v. 11, n. 6, art. 1599, 2021. DOI: 10.3390/ani11061599.

KIRWAN, S. F.; PIERCE, K. M.; SERRA, E.; McDONALD, M.; RAJAURIA, G.; BOLAND, T. M. Effect of chitosan inclusion and dietary crude protein level on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen excretion in beef heifers offered a grass silage-based diet. *Animals*, v. 11, n. 3, art. 771, 2021. DOI: 10.3390/ani11030771.

MIN, B. R.; BARRY, T. N.; ATTWOOD, G. T.; McNABB, W. C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 106, p. 3-19, 2003. DOI: 10.1016/S0377-8401(03)00041-5.

PAIVA, P. G. de; JESUS, E. F. de; DEL VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F. de; COSTA, A. G. B. V. B.; CONSENTINI, C. E. C.; ZANFERARI, F.; TAKIYA, C. S.; BUENO, I. C. S.; RENNÓ, F. P. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and

composition of dairy cows. *Animal Production Science*, v. 57, n. 2, p. 301–307, 2016. DOI: 10.1071/AN15329.

PEREIRA, D. C.; GOES, R. H. T. B.; MARTINEZ, A. C.; GANDRA, J. R.; PRESENDO, E.; SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, R. T.; SILVA, N. G.; RIBEIRO, M. G.; ALVEZ, J. L. R. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut shell liquid as additives for ruminants. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 20, e05102019, 2019. DOI: 10.1590/S1519-994005102019.

REY, J.; DÍAZ DE OTÁLORA, X.; ATXAERANDIO, R.; MANDALUNIZ, N.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, A.; GONZÁLEZ-RECIO, O.; LÓPEZ-GARCÍA, A.; RUÍZ, R.; GOIRI, I. Effect of chitosan on ruminal fermentation and microbial communities, methane emissions, and productive performance of dairy cattle.. *Animals*, v. 13, n. 18, art. 2861, 2023. DOI: 10.3390/ani13182861

SHAH, A. M.; QAZI, I. H.; MATRA, M.; WANAPAT, M. Role of chitin and chitosan in ruminant diets and their impact on digestibility, microbiota and performance of ruminants. *Fermentation*, v. 8, art. 549, 2022. DOI: 10.3390/fermentation8100549.

SILVA, N. G.; GOES, R. H. T. B.; OLIVEIRA, R. T.; GANDRA, J. R.; CÔNSOLO, N. R. B.; SANTOS, M. V.; ANSCHAU, D. G.; SILVA, G. K. R.; CRUZ, F. N. F.; OLIVEIRA, L. S.; SOUZA, Y. G. S. Chitosan associated with technical cashew nut shell liquid in supplements for grazing beef steers: nitrogen balance and rumen metabolism. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 68, n. 3, p. 1–21, 2023. DOI: 10.1080/00288233.2023.2285805.

VENDRAMINI, T. H. A.; TAKIYA, C. S.; SILVA, T. H.; ZANFERARI, F.; RENTAS, M. F.; BERTONI, J. C.; CONSENTINI, C. E. C.; GARDINAL, R.; ACEDO, T. S.; RENNO, F. P. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 214, p. 12–21, 2016. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.01.015.

VIEIRA, E. R. Q.; GOES, R. H. T. B.; DIAZ, T. G.; OSMARI, M. P.; SENO, L. O.; ÍTAVO, L. C. V.; GANDRA, J. R.; ANSCHAU, D. G.; OLIVEIRA, R. T.; SILVA, N. G.; JACAÚNA, A. G. Chitosan combined with technical cashew nut shell liquid improves in vitro ruminal parameters and gas production kinetics. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 51, e20200186, 2022. DOI: 10.37496/rbz5120200186.

ZANFERARI, F.; VENDRAMINI, T. H. A.; RENTAS, M. F.; GARDINAL, R.; CALOMENI, G. D.; MESQUITA, L. G.; TAKIYA, C. S.; RENNO, F. P. Effects of chitosan and whole raw soybeans on ruminal fermentation and bacterial populations, and milk fatty acid profile in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 12, p. 10939–10952, 2018. DOI: 10.3168/jds.2018-14675.

WANG, L.; ZHANG, G.; LI, Y.; ZHANG, Y. Effects of high forage/concentrate diet on volatile fatty acid production and the microorganisms involved in VFA production in cow rumen. *Animals*, v. 10, n. 2, p. 223, 2020. DOI: 10.3390/ani10020223.

CAPÍTULO 2

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA EXTRAÇÃO DE QUITOSANA EM ESCAMA DE PEIXE

RESUMO- O presente estudo teve como objetivo desenvolver e validar um método eficiente e reprodutível para a extração de quitosana a partir de escamas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), avaliando suas características estruturais, bromatológicas e potencial de uso como aditivo natural para ruminantes. A quitosana foi obtida por meio das etapas de desacetilação e solubilização, e caracterizada por espectroscopia no infravermelho (FTIR), análises bromatológicas e ensaio de degradabilidade ruminal *in vitro*. O espectro de FTIR confirmou a presença das principais bandas de absorção características da quitosana, incluindo amidas I e II, grupos amina primária e acetil, indicando a eficiência do processo de desacetilação da quitina. A análise bromatológica revelou maior teor de matéria seca (95,49%) e ausência de cinzas e proteínas residuais na quitosana extraída das escamas, em comparação à quitosana obtida de crustáceos, o que demonstra maior pureza do produto. O grau de desacetilação foi de (76%), o que caracteriza como quitosana. No ensaio de degradabilidade, a quitosana de escamas apresentou taxa de degradação ruminal de aproximadamente 55% após 24 horas, enquanto a quitosana de crustáceos manteve valores reduzidos (8–12%) ao longo do período de incubação, sugerindo maior acessibilidade microbiana da quitosana de peixe. Os resultados indicam que as escamas de tilápia constituem uma fonte alternativa promissora para produção de quitosana de alta qualidade, com propriedades adequadas para aplicação como aditivo funcional na nutrição de ruminantes. Além de seu potencial zootécnico, o uso desse resíduo representa uma estratégia sustentável de aproveitamento de subprodutos da indústria pesqueira, contribuindo para a redução de impactos ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: aditivo natural; degradabilidade ruminal; escamas de peixe; extração; *Oreochromis niloticus*; quitosana; ruminantes.

1.INTRODUÇÃO

Há um interesse cada vez maior por polissacarídeos naturais como alternativas sustentáveis capazes de melhorar a eficiência alimentar e substituir antibióticos promotores de crescimento. (Belanche et al., 2015). Os polissacarídeos são estruturas complexas presentes em uma vasta população de seres vivos (Batista et al., 2020). A quitosana é um polissacarídeo natural, derivado da quitina, tendo destaque por ser biodegradável, não tóxico e abundante na natureza. Devido às suas propriedades antimicrobianas, a quitosana tem o potencial de melhorar a microbiota ruminal, estabelecendo um ambiente favorável, otimizando a fermentação dos alimentos (Harahap et al., 2022).

A quitina, o segundo biopolímero mais abundante na natureza (Guarnieri et al., 2022), presente no exoesqueleto de crustáceos e peixes, é um resíduo descartado pela indústria pesqueira. A utilização desse resíduo, além de mitigar impactos ao meio ambiente, ainda contribui para a aplicação da quitosana em diversas áreas como indústria farmacêutica, alimentícia e agricultura (Ramos et al., 2025; Lima et al., 2022). A fonte de quitina mais utilizada na alimentação animal é proveniente de crustáceos, estudos com outras fontes, como provenientes da escama de peixe, ainda são incipientes.

O resíduo de escama de peixes, quando não manejado de maneira correta, pode acarretar problemas ambientais, como contaminação de recursos hídricos e do solo (Resende & Custódio, 2024), sendo necessária a adoção de técnicas que utilizem esse resíduo e diminuam seu descarte na natureza. Logo, utilizar esse recurso para obtenção de quitosana pode ser uma alternativa para minimizar impactos ambientais e fornecer um potencial aditivo natural para ruminantes.

A utilização de quitosana como aditivo natural para ruminantes já é amplamente estudada (Araújo et al., 2015; Dias et al., 2017; Gandra et al., 2016). O interesse nesse aditivo se dá pela capacidade de atuação sobre microrganismos ruminais, com características antimicrobiana, antiinflamatória e moduladora digestiva, modificando os parâmetros fermentativos, consequentemente melhorando a digestão e absorção dos nutrientes pelos ruminantes, alterando a fermentação ruminal, direcionando para vias energéticas mais eficientes (Dias et al., 2017; Harahap et al., 2022; Jiménez-Ocampo et al., 2019), atuando, principalmente, sobre as bactérias Gram-positivas. Entretanto, estudos apresentam dados em que a metodologia de extração pode influenciar no grau de pureza da quitosana, influenciando diretamente a sua qualidade e forma de ação.

Os estudos utilizando quitosana, são predominantemente realizados exoesqueleto de crustáceos e insetos. A extração proveniente desses resíduos já é consolidada na literatura, incluindo etapas de desmineralização, desproteinização e desacetilação, conforme descrito por Varun et al. (2017). Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca (2016), adaptaram uma metodologia de extração de quitosana proveniente de escamas de tilápia

do Nilo, que consiste em seguir as mesmas etapas do método original, com alguns ajustes. Apesar de ser uma metodologia amplamente utilizada, é necessário adaptar novos métodos de extração a fim de encurtar o processo e diminuir a quantidade de reagentes utilizados nas etapas.

Assim, este trabalho tem como objetivo desenvolver e validar um método eficiente e reprodutível para a extração de quitosana a partir de escamas de peixe, visando seu aproveitamento como potencial aditivo natural para ruminantes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Comitê de Ética

O estudo encontra-se de acordo com as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados conforme (protocolo de aprovação: 023 / 2015-3 CEUA/UFGD).

2.2. Local do Estudo e Delineamento

Este estudo foi realizado entre agosto e dezembro de 2024 no Laboratório de Bioengenharia (LABIO), Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados – MS e o ensaio experimental de campo foi conduzido no setor de Nutrição de Ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD, Brasil).

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 2x6, sendo dois tratamentos (quitosana de crustáceo - QC; quitosana de escama de peixes – QEP) em duplicata e seis tempos de incubação (0, 2, 4, 8, 24 e 48h), com medidas repetidas no tempo dentro de um único animal canulado. A degradabilidade *in situ* (Ørskov; McDonald, 1979) foi avaliada utilizando sacos de TNT conforme descrito por Casali et al. (2008) (TNT-100 g/cm²), 5,0x5,0 cm (0,5 g MS), para posterior determinação do resíduo não degradável.

A quitosana comercial de crustáceo foi adquirida na empresa Polymar®, Fortaleza, Brasil (≥850g / kg de grau de desacetilação; 0,32g / mL de densidade; pH 7,90; viscosidade <200cPs; cinza total 1,35g / 100g; e perda na secagem 9,3g / 100g). E a quitosana da escama de peixe foi extraída no Laboratório de Bioengenharia (LABIO), Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados – MS (~760g / kg de grau de desacetilação; cinza total 0,00 g / 100 g) (Tabela 1).

2.3. Extração de quitosana

O protocolo de extração de quitosana a partir da escama de peixe foi adaptado (Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca, 2016; Gapsari et al., 2022; Marei et al., 2015) (Figura 1).

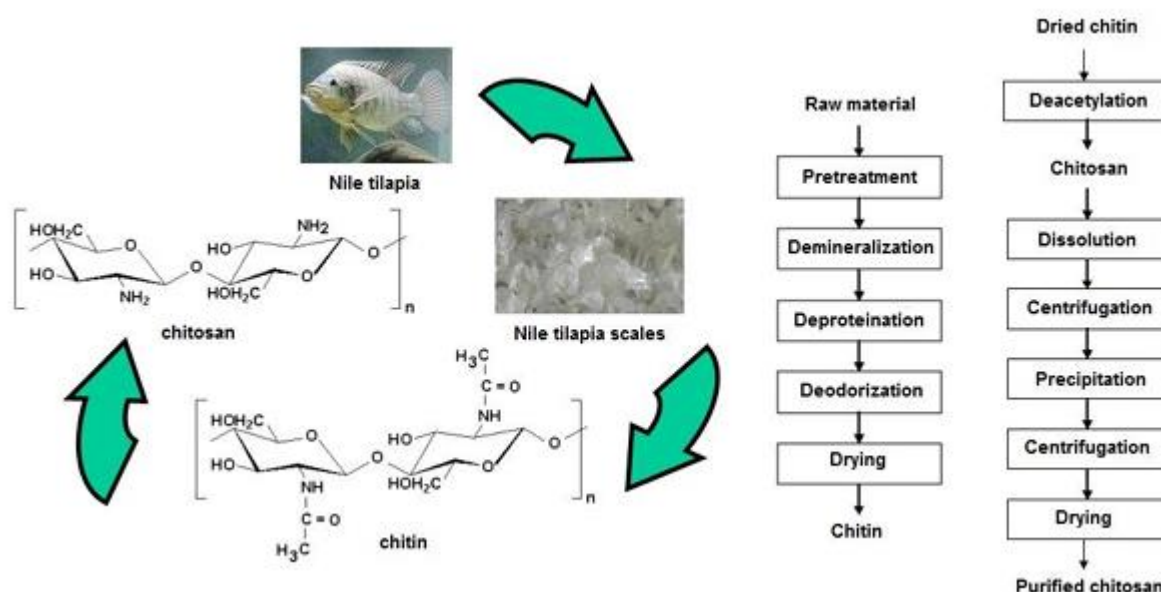


Figura 1. Esquema para obtenção de quitosana purificada a partir de escamas de tilápia do Nilo (Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca, 2016).

Como matéria-prima para extração da quitina de peixe, foram utilizadas escamas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A metodologia de extração da quitosana a partir da matéria-prima seguiu as seguintes etapas: desacetilação da quitina, centrifugação e lavagem, solubilização em ácido acético, decantação, centrifugação e secagem da quitosana (Figura 2).

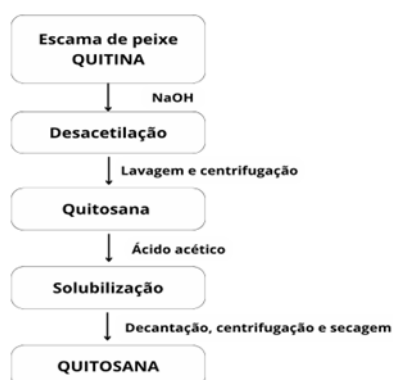


Figura 2: Adaptação da metodologia de Boarin-Alcalde & Graciano-Fonsceca (2016) para obtenção da quitosana purificada a partir de escamas de tilápia do Nilo.

Para a desacetilação da quitina, uma quantidade conhecida de escamas foi submersa em 1 L de solução aquosa de NaOH a 50%. O material foi mantido em autoclave a 121 °C por 1 hora, conforme adaptação de Younges & Rinaudo (2015). Em seguida, o material desacetilado foi lavado com água destilada para remoção do excesso de NaOH e centrifugado a 2.800 rpm por 8 minutos, visando à separação dos sólidos (quitina + quitosana). Esse processo de lavagem foi repetido até que o sobrenadante ficasse transparente.

O material sólido obtido (quitina + quitosana) foi solubilizado em meio ácido, pela adição de solução de ácido acético a 10% e mantido sob agitação a 120 rpm por, no mínimo, 24 horas, de acordo com Marei et al. (2015). Após a solubilização, o material foi centrifugado e o sobrenadante recuperado. A quitosana em meio aquoso foi então precipitada por neutralização do ácido acético com NaOH, seguida de decantação em béquer por, no mínimo, 12 horas. O material decantado foi centrifugado novamente e seco em placa de Petri a 60 °C por 12 horas (*overnight*). Por fim, a quitosana seca foi pesada e armazenada em ambiente arejado e seco até sua utilização.

2.4. Caracterização da quitosana

O teor de umidade e o conteúdo de cinzas das amostras foram determinados por análise termogravimétrica, utilizando o módulo DSC 2010 (TGA Instruments). Para isso, aproximadamente 10 mg de amostra foram aquecidos em atmosfera de ar, a uma taxa de 10 °C/min, na faixa de 25 °C a 700 °C.

O grau de acetilação foi avaliado por espectroscopia de RMN de hidrogênio (¹H-RMN), em espectrômetro BRUCKER AC200 (200 MHz). As amostras foram dispersas em D₂O na concentração de 10 mg/mL, após agitação por 18 horas. Os espectros foram adquiridos a 80 °C, utilizando pulso de 90° (8,2 µs) e 16 varreduras (NS). O grau de acetilação da quitosana foi calculado a partir da razão entre as áreas dos sinais correspondentes aos prótons metílicos do grupo acetamido (ACH₃; δ = 2,00 ppm) e ao próton ligado ao carbono 2 do anel glicosídico.

A caracterização estrutural por espectroscopia no infravermelho (FTIR) foi realizada em espectrômetro BOMEM MB-102. Para a análise, as amostras foram previamente secas sob refluxo com metanol por 24 horas, e posteriormente prensadas com KBr, na proporção 150:1, formando pastilhas para aquisição dos espectros.

Análise estatística

Um modelo de efeitos mistos não lineares (NLME), utilizando o método da máxima verossimilhança restrita (REML) no pacote nlme (Pinheiro et al., 2025) do ambiente computacional R (R Core Team, 2025), foi empregado para estimar os parâmetros de degradação. As estimativas dos parâmetros foram obtidas com e sem os efeitos fixos variando conforme os resíduos biológicos para o desaparecimento da MS e da PB. Um novilho individualmente foi utilizado como efeito aleatório em ambos os modelos, sem encontrar efeitos aleatórios. Assim, o pacote nls2 (Grothendieck, 2024) do R (mínimos quadrados não lineares – NLS) foi usado para estimar apenas os efeitos fixos para cada grupo de resíduos biológicos.

Os dados obtidos foram analisados através do uso do ambiente computacional R (R Core Team, 2025), onde foi verificado a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Para os efeitos da avaliação dos níveis de inclusão adotou o seguinte modelo:

$Y_{ijl} = \mu + A_i + P_j + D_l + e_{ijl}$; onde Y_{ijl} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 5), D_l = efeito do tratamento ($l = 1$ a 5); e e_{ijl} = erro experimental. O efeito aleatório do modelo (random) caracterizou-se por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por $DDFM = kr$. Com os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, adotando-se nível de significância de 5%, sendo avaliados por regressão polinomial, adotando-se nível de significância de 5%.

2. RESULTADO E DISCUSSÃO

As bandas de absorção características da quitosana foram identificadas no espectro de FTIR. Observou-se uma ampla faixa entre 3643 e 3938 cm^{-1} , atribuída às vibrações de estiramento das aminas primárias (ligação N–H). As bandas em 2920–3440 cm^{-1} e em 3417 cm^{-1} foram relacionadas ao estiramento do grupo C=O de ácidos carboxílicos. A região entre 1787 e 2522 cm^{-1} foi associada às vibrações de C=N e C≡N de aminas alifáticas. No intervalo de 433 a 860 cm^{-1} , observaram-se bandas correspondentes ao estiramento C–N de anéis aromáticos. Adicionalmente, as bandas em 3450 cm^{-1} e 3100 cm^{-1} foram relacionadas ao grupo acetil (–NHCOCH₃), enquanto aquelas em 1570 cm^{-1} e 1655 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações características de grupos amida I e amida II, confirmando a presença de quitosana (Gokulalakshmi et al., 2017; Zaku et al., 2016; Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca, 2016).

Os resultados obtidos confirmam a presença das principais bandas características da quitosana, indicando que o processo de extração a partir das escamas de tilápia foi eficiente. A ampla faixa observada entre 3643 e 3938 cm^{-1} está associada às vibrações de estiramento das aminas primárias (N–H), encontradas na quitosana, marcando a presença de grupos amino livres resultantes da desacetilação da quitina. Essa banda é um indicativo importante de que a conversão da quitina em quitosana foi efetiva (Gokulalakshmi et al., 2017).

As bandas registradas em 2920–3440 cm^{-1} e em 3417 cm^{-1} correspondem ao estiramento do grupo C=O de ácidos carboxílicos e à sobreposição de bandas de estiramento O–H e N–H, frequentemente observadas devido à formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Essa sobreposição é comum em amostras de quitosana, pois o polímero apresenta alta higroscopicidade e um grande número de grupos hidroxila disponíveis (Zaku et al., 2016).

A região entre 1787 e 2522 cm^{-1} foi atribuída às vibrações de C=N e C≡N de aminas alifáticas, marcando a presença de grupos nitrogenados, originados da estrutura da quitina. Já as bandas entre 433 e 860 cm^{-1} estão associadas às vibrações C–N de anéis aromáticos, indicando a integridade da cadeia polissacarídica do biopolímero após o

processo de extração.

As bandas em 3450 cm^{-1} e 3100 cm^{-1} , correspondem ao grupo acetil ($-\text{NHCOCH}_3$), juntamente com as absorções em 1570 cm^{-1} e 1655 cm^{-1} , foram atribuídas aos grupos amida I e amida II, confirmando a presença parcial de grupos acetilados e a formação de quitosana com grau de desacetilação intermediário (Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca, 2016). A presença simultânea das bandas amida I e II, associadas às ligações $\text{C}=\text{O}$ e $\text{N}-\text{H}$, respectivamente, reforçam que parte das unidades de quitina foram convertidas em quitosana, mas que ainda restam resíduos acetilados, sendo comum em processos de extração a partir de resíduos animais, como escamas de peixes.

Esses resultados indicam que o método de extração utilizado foi eficiente para remover impurezas e promover a desacetilação da quitina, resultando em um material com espectro compatível com o padrão de quitosana descrito na literatura (Boarin-Alcalde & Graciano-Fonseca, 2016). No entanto, a persistência de bandas relacionadas a grupos amida e acetil sugere a necessidade de ajustes na metodologia de extração, como tempo e concentração de reagente alcalino, para aumentar o grau de desacetilação e a pureza do produto.

A Tabela 2 apresenta os resultados bromatológicos de matéria seca (MS), cinzas (CZ) e proteína bruta (PB) e o grau de desacetilação das diferentes quitosanas testadas. A quitosana comercial de crustáceos apresentou teor de MS de 90,7%, valor inferior ao observado para a quitosana obtida de escamas de peixe (95,49% MS). Esse resultado indica que a quitosana de escama apresenta menor conteúdo de umidade residual, o que pode estar relacionado às diferenças no processo de secagem e à estrutura da matriz de origem. Valores mais elevados de MS são desejáveis, pois favorecem maior estabilidade e conservação do produto.

Tabela 2. Bromatologia da quitosana de crustáceo e escama de peixes

Parâmetro	Quitosana Crustáceo	Quitosana Escama
MS ¹	90,7	95,49
CZ ²	1,35	0,00
PB ³	9,61	0,00
Grau Desacetilação	>85	~76

¹MS = matéria seca; ²CZ = cinzas; ³PB = proteína bruta.

Quanto ao teor de CZ, observou-se presença de 1,35% na quitosana derivada de crustáceos, enquanto na quitosana obtida de escamas o valor foi 0,00%. A ausência de cinzas na amostra de escamas sugere maior eficiência na etapa de desmineralização durante o processo de extração, resultando em um produto mais puro. Esse aspecto é

relevante, visto que a presença de sais minerais residuais pode afetar a solubilidade e as propriedades funcionais da quitosana (Tabela 1).

Em relação à PB, a quitosana de crustáceos apresentou teor de 9,61%, enquanto a quitosana obtida de escamas não apresentou detecção de proteína (0,00%), estando de acordo com a Instrução Normativa nº 8, de 25 de março de 2004 (MAPA, 2004), que proíbe a utilização de aditivos ou alimentos de origem animal na alimentação de ruminantes, a fim de evitar a transmissão da encefalopatia espongiforme bovina (EEB). Essa diferença pode ser atribuída à eficiência dos processos de descontaminação proteica aplicados na extração, sugerindo que a quitosana obtida de escamas pode apresentar maior grau de pureza e menor risco de interferências em aplicações alimentares (Tabela 1). A QEP apresentou grau de desacetilação (~76%), estando dentro dos padrões de definição para quitosana acima de 60% (Rinaudo, 2006; Kumar, 2000).

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da degradação *in situ* da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) das quitosanas de crustáceo e escama de peixe.

Aditivo	Parâmetros				Degradabilidade efetiva ⁵				
	A(%) ¹	B(%) ²	C(%/h) ³	DP ⁴	DE 2%	DE 5%	DE 8%	I (%) ⁶	R ^{2, 7}
QC ⁸ MS	9,76	3,88	1,98	12,14	11,69	10,86	10,53	86,36	0,93
QC PB	17,36	11,34	1,86	24,06	22,82	20,43	19,50	71,30	0,62
QEP ⁹ MS	33,82	18,20	24,84	52,02	50,66	48,97	47,59	47,98	0,84

¹A= fração solúvel; ²B= fração potencialmente degradável; ³C=taxa de degradação da fração “b” (%/h); ⁴DP= degradabilidade potencial; ⁵DE = degradabilidade efetiva; ⁶I = fração indegradável; ⁷R² = coeficiente de determinação. ⁸QC= quitosana de crustáceos; ⁹QEP = quitosana de escama de peixe

Observou-se que a quitosana de escamas de peixe apresentou alta degradabilidade ruminal da MS, alcançando cerca de 55% após 24 horas, com estabilização até 48 h. Já a quitosana de crustáceos manteve valores reduzidos durante todo o período, variando entre 8% e 12% (Figura 3). Esse comportamento sugere maior presença de frações insolúveis ou menos acessíveis à ação microbiana ruminal, possivelmente relacionadas à estrutura da matriz polimérica. A fração indegradável (Tabela 2) da QC foi maior em comparação a QEP, afirmando a maior acessibilidade da QEP aos microrganismos.

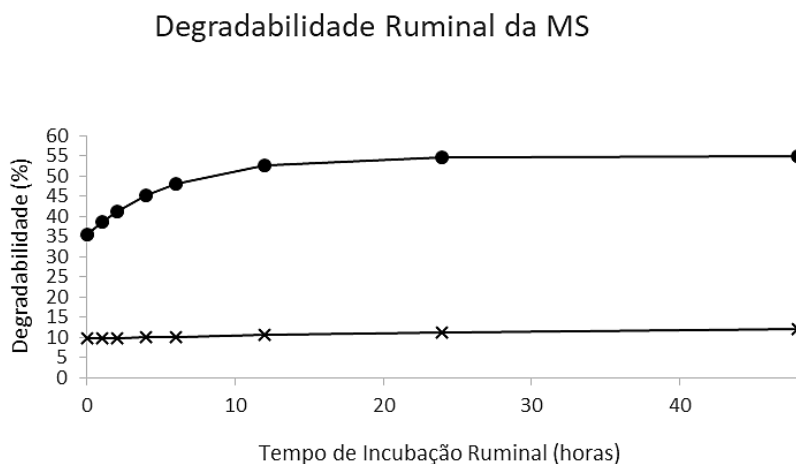


Figura 3. Degradabilidade ruminal da MS da quitosana de escama de peixe (●) e quitosana de crustáceos (x) em diferentes tempos de incubação ruminal.

4.CONCLUSÃO

O método adaptado para extração de quitosana a partir de escamas de tilápia-do-Nilo mostrou-se eficiente e reprodutível, resultando em um produto dentro dos padrões para ser considerado quitosana e isento de proteína, confirmado pelas análises de FTIR e pelos parâmetros bromatológicos. A quitosana obtida apresentou disponibilidade à ação microbiana e potencial para aplicação como aditivo natural na alimentação de ruminantes. Esses resultados demonstram que as escamas de peixe constituem uma fonte alternativa viável e sustentável para produção de quitosana, permitindo o aproveitamento de resíduos da indústria pesqueira e contribuindo para o desenvolvimento de soluções sustentáveis nos sistemas de produção animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS, J. E.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; PAIVA, P. G.; RENNÓ, F. P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. *Animal Feed Science and Technology*, v. 206, p. 114–118, 2015. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.05.016.
- BATISTA, J. A.; MAGALHÃES, D. A.; SOUSA, S. G.; FERREIRA, J. D. S.; PEREIRA, C. M. C.; LIMA, J. V. D. N.; ALBUQUERQUE, I. F.; BEZERRA, N. L. S. D.; BRITO, T. V.; MONTEIRO, C. E. D. S.; FRANCO, A. X.; DI LENARDO, D.; OLIVEIRA, L. A.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. de; BARROS, F. C. N.; FREITAS, A. L. P.; OLIVEIRA, J. S. de; VASCONCELOS, D. F. P.; SOARES, P. M. G.; BARBOSA, A. L. D. R. Polysaccharides derived from *Morinda citrifolia* Linn reduce inflammatory markers during experimental colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 248, p. 112303, 2020. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112303.
- BELANCHE, A.; RAMOS-MORALES, E.; NEWBOLD, C. J. In vitro screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 96, n. 9, p. 3069–3078, 2015. DOI: 10.1002/jsfa.7481.
- Boarin-Alcalde L.; Graciano-Fonseca G. Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*

2017;44(4): 683-688. DOI: <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-3>.

DIAS, A. O. C.; GOES, R. H. T. B.; GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; BRANCO, A. F.; JACAÚNA, A. G.; OLIVEIRA, R. T.; SOUZA, C. J. S.; VAZ, M. S. M. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology*, v. 225, p. 73–80, 2017. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015.

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R.; PAIVA, P. G.; GOES, R. H. T. B.; 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*, v. 43, n. 3, p. 130–137, 2016. DOI: 10.1590/S1806-92902016000300007.

GOKULALAKSHMI, E.; RAMALINGAM, K.; UMASANKARI, V. M. C. Extraction and characterization of chitosan obtained from scales of *Clarias gariepinus* (catfish). *Biotechnology Journal International*, v. 18, p. 1–8, 2017. DOI: 10.9734/BJI/2017/27944.

GUARNIERI, A.; TRIUNFO, M.; SCIEUZO, C.; IANNICIELLO, D.; TAFI, E.; HAHN, T.; ZIBEK, S.; SALVIA, R.; BONIS, A.; FALABELLA, P. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-12150-3

HARAHAP, R. P.; SUHARTI, S.; RIDLA, M.; LACONI, E. B.; NAHROWI, N.; IRAWAN, A.; KONDO, M.; OBITSU, T.; JAYANEGARA, A. Meta-analysis of dietary chitosan effects on performance, nutrient utilization, and product characteristics of ruminants. *Animal Science Journal*, v. 93, e13676, 2022. DOI: 10.1111/asj.13676.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, v. 46, p. 1–27, 2000. DOI: 10.1016/S1381-5148(00)00038-9.

LIMA, Y. C.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Use of chitosan in agriculture: a review with an emphasis on seed application. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, p. e39911225782, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.25782.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Instrução Normativa nº 8, de 25 de março de 2004*. Regulamento técnico para o controle da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 mar. 2004. Acesso em: 20 de novembro de 2025.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, v. 92, n. 2, p. 499–503, 1979. DOI: 10.1017/S0021859600063048.

BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. *Revista Ibero-Americana de Polímeros*, 2011. Disponível em: <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/07/2011-ramos.pdf>.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, v. 31, p. 603–632, 2006. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001.

VARUN, T. K.; SENANI, S.; JAYAPAL, N.; CHIKKERUR, J.; ROY, S.; TEKULAPALLY, V. B.; GAUTAM, M.; KUMAR, N. Extraction of chitosan and its oligomers from shrimp shell waste, their characterization and antimicrobial effect. *Veterinary World*, v. 10, n. 2, p. 170–175, 2017. DOI: 10.14202/vetworld.2017.170-175.

ZAKU, S. G.; EMMANUEL, S. A.; AGUZUE, O. C.; THOMAS, S. A. Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of common carp fish (*Cyprinus carpio* L.): a lesser known source. *African Journal of Food Science*, v. 5, n. 8, p. 478–483, 2011. DOI: 10.5897/AJFS.9000136

CAPÍTULO 3

EFEITO DA QUITOSANA NA DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS FERMENTATIVOS E CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO

RESUMO: Diante da crescente demanda global por alimentos, torna-se essencial investigar aditivos naturais capazes de elevar a eficiência alimentar e reduzir impactos ambientais. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana comercial extraída de crustáceos e validar o uso de quitosana obtida de escamas de peixe sobre a digestibilidade de nutrientes, os parâmetros fermentativos e a cinética de fermentação ruminal *in vitro* de diferentes alimentos. Foi utilizado delineamento de blocos casualizados, com arranjo fatorial 4x3, sendo quatro tratamentos: controle, monensina, quitosana de crustáceo e quitosana de peixes, e três alimentos: milho moído, farelo de soja e silagem de mandioca. Foi analisado a bromatologia, digestibilidade da matéria seca e proteína bruta, parâmetros fermentativos, produção de ácidos graxos voláteis e cinética da fermentação ruminal. A inclusão de quitosana alterou a cinética e a digestibilidade ruminal, reduzindo a DIVMS e DIVPB ($p<0,001$) do farelo de soja e o $N-NH_3$, mas estimulando a digestão proteica ($p=0,032$) e a fermentação de carboidratos da silagem de mandioca. A quitosana de escama de peixes apresentou padrões de digestibilidade e fermentação similares a quitosana de crustáceo, podendo ser utilizada como aditivo modulador ruminal. Os resultados reforçam o uso estratégico da quitosana como alternativa natural para ajustar a fermentação ruminal de forma dependente do tipo de dieta.

PALAVRAS-CHAVE: aditivo, biopolímero, modulador ruminal, microrganismo, quitina

1.INTRODUÇÃO

A produção de bovinos desempenha um papel importante na economia global e, principalmente, no Brasil, sendo um dos principais produtores e exportadores do mundo. Entretanto, competir com produtividade, maior eficiência alimentar e sustentabilidade ambiental é um desafio (Tedeschi et al., 2021). A eficiência alimentar é um dos indicadores mais importantes para constatar quão bem o animal aproveita os nutrientes ingeridos, logo, utilizar aditivos naturais capazes de modular a microbiota ruminal é de extremo interesse, uma vez que o mesmo pode melhorar a produtividade e reduzir os impactos ambientais (Patra & Saxena, 2011).

Os aditivos naturais são uma alternativa aos aditivos sintéticos por apresentarem capacidade de modulação ruminal, alteração da microbiota e, consequentemente, alteração do perfil fermentativo do rumen (Calsamiglia et al., 2020). A quitosana, um aditivo natural,

é uma das alternativas que vem sendo estudadas para alimentação animal por atuar na modulação ruminal e apresentar maior ação das bactérias Gram-positivas em relação as Gram-negativas (Santos et al., 2023).

É um biopolímero natural (polímero de N-acetil-D-glicosamina), obtido a partir da desacetilação da quitina, sendo este abundante na natureza (Guarnieri et al., 2022). Caracterizada por ser atóxica, renovável e por possuir ação antimicrobiana e anti-inflamatória (Dias et al., 2017; Harahap et al., 2022). Sua atuação sobre as bactérias se dá pela interação das cargas catiônicas da quitosana com as cargas aniônicas da membrana celular bacteriana, alterando sua permeabilidade, inibindo o crescimento ou levando à lise celular (Rey et al., 2023; Shah et al., 2022). Logo, utilizar desse aditivo natural na nutrição animal é uma alternativa para maximizar a eficiência alimentar.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação da quitosana comercial extraída de crustáceo e validar a utilização de quitosana extraída da escama de peixes sobre a digestibilidade de nutrientes, parâmetros fermentativos e a cinética de produção de gases *in vitro* de diferentes alimentos. Supõe-se que a quitosana, independentemente da sua origem, seja capaz de modificar a população microbiana ruminal, resultando em maior digestibilidade, mudanças no perfil fermentativo e melhorias na dinâmica de produção de gases *in vitro*.

2. METODOLOGIA

2.1. Comitê de Ética

O estudo encontra-se de acordo com as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados conforme (protocolo de aprovação: 023/2015 CEUA/UFGD).

2.2. Local do Estudo e Delineamento

Este estudo foi realizado entre agosto e dezembro de 2024 no Laboratório de Coprodutos de Oleaginosas e Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD, Brasil).

Foram utilizados quatro tratamentos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em fatorial 4x3, sendo quatro tratamentos e três alimentos, onde os tratamentos: CON: controle (sem uso de aditivo); MON: monensina 5 mg/kg de MS; QC: quitosana de crustáceo 700 mg/kg de MS; e QEP: quitosana de escama de peixe 700 mg/kg de MS (Dias et al., 2017) e os alimentos silagem mandioca, farelo de soja e milho moído foram pesados em sacos de TNT em duplicata. Como unidade experimental foram utilizados quatro jarros por rodada, totalizando duas rodadas. E as variáveis avaliadas foram DIVMS, DIVPB, pH, N-NH³ e AGV em cada tratamento. A QC foi obtida pela Polymar, Fortaleza, Brasil, na composição de (>850 g/kg de grau de desacetilação; 0,32g/mL de densidade; pH 7,90;

viscosidade <200cPs; cinza total 1,35g/100g; e perda na secagem 9,3g/100g). A obtenção da QEP (aditivo testado e validado no experimento do capítulo 2 desta dissertação) foi dada por extração no Laboratório de Bioengenharia, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD e a caracterização (760 g/kg de grau de desacetilação; cinza total 0,00 g/100g; e perda por secagem 5,43 g/100g) na Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – UEMS - Dourados.

Inóculo

A coleta do líquido ruminal (2,0 L) foi feita pela manhã, sendo como doador um bovino (~380±50 kg), provido de cânula no rúmen, sob pastejo de *Urochloa brizantha* (syn *Brachiaria*). O líquido ruminal coletado foi filtrado através de 2 camadas de gaze em recipiente isolado à 39°C e purgada de CO₂. A solução tampão, constituída pelas soluções A e B, foi preparada com os seguintes reagentes: A solução A (g L⁻¹) foi composta por 10,0 g de di-hidrogenofosfato de potássio (KH₂ P04); 0,5 g de sulfato de magnésio (MgSO₄ 7H₂O); 0,5 g de cloreto de sódio (NaCl); 0,1 g de cloreto de cálcio deído (CaCl₂ 2H₂O); e 0,5 g de uréia. A solução B (g/100 mL) foi composta por 15,0 g de carbonato de sódio (Na₂ CO₃) e 1,0 g de sulfeto de sódio (Na₂ S.9H₂O). As soluções foram misturadas na proporção 1:5 atingindo pH 6,8 à temperatura constante de 39 °C (Silva & Queiroz, 2002; Camacho et al., 2019).

2.3. Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da proteína bruta (DIVPB) foi determinada através da metodologia descrita por Tilley & Terry (1963) e adaptada por Goering & Van Soest (1970); utilizando dois incubatórios (Daisy II Fermenter, Ankom) para repetição. Em cada jarro foram adicionados três alimentos: silagem de mandioca, milho grão moído e farelo de soja, em duplicata por 48 horas, totalizando 24 sacos por jarro, mais 1 branco para correção.

Os sacos foram preparados conforme descrito por Casali et al. (2008), (TNT-100 g/cm²), 5,0 x 5,0 cm (0,5 g MS). Os alimentos foram pesados (0,5 g), com base na matéria seca. Os jarros permaneceram sob agitação contínua por 48h. Após esse período, a fase fermentativa foi interrompida pela adição de 40 mL de ácido clorídrico (6N HCl) até pH 3,0 e oito gramas de pepsina (Sigma 1:10.000), conforme descrito por Holden (1999), e mantidos em agitação por mais 24h. Após esse período, as amostras foram lavadas em água corrente e secas em estufa à 105°C por 16 h para a determinação da (DIVPB), foi determinada conforme descrito pela Associação Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2006).

2.4. Análise química

Os alimentos utilizados foram analisados para matéria seca (MS; 934,01), proteína bruta (PB, N x 6,25; 984,13), extrato etéreo (EE; 920,39), descrito pela AOAC (2005) (Tabela 1). A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas segundo Van Soest et al. (1991). O teor de lignina foi determinado através da solubilização da celulose em ácido sulfúrico a 72% (Goering & Van Soest, 1970).

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes experimentais

Parâmetro	Silagem parte aérea da mandioca	Milho grão moído	Farelo de soja
MS ¹	29,30	87,80	88,50
PB ²	14,15	8,96	49,50
EE ³	2,78	3,35	1,50
FDN ⁴	61,71	9,27	15,85
FDA ⁵	37,56	2,35	13,46
LIG ⁶	11,87	1,21	1,62

¹MS=matéria seca; ²PB=proteína bruta; ³EE=extrato etéreo; ⁴FDN=fibra em detergente neutro; ⁵FDA=fibra em detergente ácido; ⁶LIG=lignina.

2.5. Parâmetros fermentativos

Para determinar os parâmetros fermentativos do rúmen: pH, nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV), tampas com sistema de três vias foram acopladas nos jarros para permitir a coleta de líquido ruminal tamponado e uma válvula de Büssen para liberação dos gases produzidos durante a fermentação.

Utilizando uma seringa, através do sistema de três vias foram coletados 60 mL de fluido ruminal em duplicata nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 horas para o período de 24 horas e 48 horas. Para medir o pH foi utilizado um pHmetro digital portátil (Instrutherm, pH-1500, São Paulo, Brasil), logo após as coletas. Foi separada 40 mL do fluido ruminal e centrifugado a 2000 rpm à 10 °C por 10 minutos, e armazenados em eppendorf de 5 mL para análise de N-NH₃ em duplicata e para análise de AGV foi separado 20mL e congeladas logo em seguida em freezer.

O N-NH₃ foi determinado pelo método NCT-CA N-007/1 Detmann et al. (2012). Para a determinação de AGV foi centrifugado a alíquota de 20 mL à 2000 rpm, por 10 minutos e coletado 2 mL do sobrenadante, armazenando em *eppendorf* e adicionando 400 µL de ácido fórmico (88%). As amostras foram analisadas em Cromatógrafo a Gás (SHIMADZU – GC-2024), com injetor automático AOC 20i. T Injetor = 200°C; TColuna=80°C/3 min até 240°C (20°C/min). Coluna = HP INNOWax - 19091N (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno, 0,50 µm de filme); T Detector = 250 °C; Detector = Ionização por Chama; Volume injetado = 1 µL; Gás arraste = Nitrogênio; Fluxo do gás arraste = 3,18 mL/min; Taxa de divisão = 15.

2.6. Produção cinética de gases

Para determinar a produção total de gases e os parâmetros da cinética da fermentação ruminal foi utilizado níveis de quitosana de acordo com Dias et al. (2017). A técnica automática *in vitro* foi conduzida utilizando os mesmos procedimentos descritos para digestibilidade *in vitro*; utilizando frascos com capacidade de 250 mL, com adição de 1,0 g da amostra volumétrica: concentrado em 100 mL da solução tampão, 25 mL de inoculo ruminal e purgado com CO₂. Para cada incubação, dois frascos foram utilizados como branco, contendo apenas inoculo ruminal e solução tampão, a fim de ajustar os valores de pressão.

O aumento de pressão produzido dentro dos frascos durante a incubação foi medido em libras por polegada quadrada (psi) usando o sistema automático de Produção de Gás RF (Ankom Technology Corp., Fairport, NY). A pressão do gás dentro dos frascos foi registrada por sensores de pressão localizados nas tampas das garrafas ou módulos, que transferiam a informação de cada frasco por meio de uma base de coordenação conectada a um computador, em intervalos de 5 minutos, totalizando 108 leituras durante 24 horas de incubação.

2.7. Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o software R, por meio do ambiente RStudio (versão 2024.12.1).

As variáveis digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIVPB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foram submetidas à análise de variância (ANOVA), considerando quatro tratamentos avaliados dentro de cada alimento. As variáveis pH e concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foram submetidas à análise de variância considerando o efeito dos tratamentos e dos tempos de avaliação. Para fins de visualização da dinâmica de fermentação, gráficos das variáveis pH e N-NH₃ em função do tempo de incubação foram elaborados utilizando o pacote ggplot2.

Quando observado efeito significativo dos tratamentos ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o pacote agricolae. O erro padrão da média (EPM) foi obtido a partir do quadrado médio do resíduo da análise de variância.

Para determinação da produção total de gases e parâmetros cinéticos da fermentação ruminal, foi utilizada seguinte equação:

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

Em que: Y = Volume total de gás no tempo T (extensão da degradação); A e D = volume

de gás (mL) das frações de degradação rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose, hemicelulose), respectivamente; B e E = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta (/h), respectivamente; e C = tempo de colonização das bactérias. O ajuste das curvas e as estimativas dos parâmetros cinéticos da fermentação serão realizados utilizando o processo iterativo do Gauss-Newton, por meio do procedimento para modelos não lineares (PROC NLIN) do programa estatístico SAS® Statistical Analysis System, versão 9.2 (2009).

3. RESULTADOS

Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta dos alimentos para cada tratamento experimental são descritos na Tabela 2. A DIVMS do farelo de soja diferiu entre os tratamentos ($P=0,001$). Onde os menores valores de DIVMS foram encontrados para QC e QEP. A DIVPB apresentou diferença para silagem de mandioca e farelo de soja ($P=0,032$; $P=0,001$), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de digestibilidade aparente *in vitro* dos tratamentos experimentais

Digestibilidade (% da MS)	Alimentos	Tratamentos experimentais				EPM	<i>P</i> -valor		
		CON	MON	QC	QEP		Trat	Temp	Trat*Temp
DIVMS	Silagem Mandioca	48,35	45,99	47,33	46,62	1,95	0,432	0,511	0,736
	Milho moído	89,56	85,27	86,77	84,88	1,95	0,090	0,745	0,994
	Farelo de soja	84,47a	87,15a	64,45b	64,48b	1,95	0,001	3,066	0,964
DIVPB	Silagem Mandioca	61,15b	60,55b	72,3a	68,41a	4,32	0,032	1,795	0,735
	Milho moído	76,92	87,65	88,62	85,56	4,32	0,214	2,170	0,556
	Farelo de soja	81,70a	72,25a	45,62b	47,40b	4,32	0,001	4,748	0,754

MS = matéria seca; PB = proteína bruta do resíduo; CON= controle; MON = monensina; QC = quitosana de crustáceo; QE = quitosana de escama de peixe; EPM = erro padrão da média; Trat*Tempo = efeito da interação entre tratamento e os diferentes tempos (24 e 48 horas). As médias com letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os parâmetros de fermentação ruminal estão descritos na Tabela 3. Os valores de pH não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$). O N-NH₃ foi maior no tratamento com monensina (6,72) e menor no tratamento com quitosana de crustáceo (4,00). Não houve diferença ($P>0,05$) entre tratamentos para produção de ácidos graxos e estimativa de produção de metano (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de fermentação ruminal em função dos tratamentos experimentais

	Tratamentos experimentais				EPM	<i>P-valor</i>
	CON	MON	QC	QEP		
pH	6.63	6.72	6.69	6.61	0.015	0.049
N-NH ₃ (mg/dL)	5.43a	5.66a	4.00b	4.35ab	0.212	0.007
<i>Ácidos graxos Mmol/L</i>						
Acetato	9.96	10.52	9.71	10.37	0.420	0.906
Propionato	3.45	3.46	3.29	3.60	0.118	0.846
Butirato	1.45	1.61	1.49	1.61	0.061	0.752
Isobutirato	0.13	0.11	0.09	0.12	0.010	0.676
Valerato	0.21	0.24	0.23	0.22	0.010	0.692
Isovalerato	0.17	0.18	0.15	0.16	0.011	0.853
Total	15.38	16.14	14.97	16.10	0.617	0.897
Acetato:propionato	2.85	3.03	2.91	2.86	0.039	0.327
Metano (g/dia)*	4.11	4.42	4.06	4.32	0.182	0.889

COM = controle; MON = monensina; QC = quitosana de crustáceo; QE = quitosana de escama de peixe; EPM = erro padrão da média; *Valores de *p* para efeito do tratamento, e para efeitos linear e quadrático. As médias com letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.. *Metano = $0,45(C2) - 0,275(C3) + 0,4(C4)$ de acordo com Moss et al. (2000).

O pH apresentou pequena variação durante a incubação (Figura 1a). Inicialmente, os tratamentos apresentaram valores semelhantes, próximos de 6,67, com aumento nas primeiras horas e pico por volta de 4 h, especialmente no tratamento controle. Após esse período, observou-se redução do pH até 8 h, seguida de leve aumento ao final da incubação (10 h). No geral, os valores de pH permaneceram dentro de uma faixa estável ao longo do experimento.

A concentração de N-NH₃ apresentou variação ao longo do tempo de incubação e entre os tratamentos (Figura 1b). Observou-se aumento inicial nas primeiras horas de incubação, com pico em 4 h, principalmente no tratamento com monensina, que apresentou o maior valor. Após esse período, houve redução nas concentrações, com tendência de estabilização entre 8 e 10 h de incubação. De modo geral, os tratamentos controle e monensina apresentaram valores mais elevados ao longo do tempo de incubação, enquanto os tratamentos com quitosana apresentaram concentrações menores (Figura 1b).

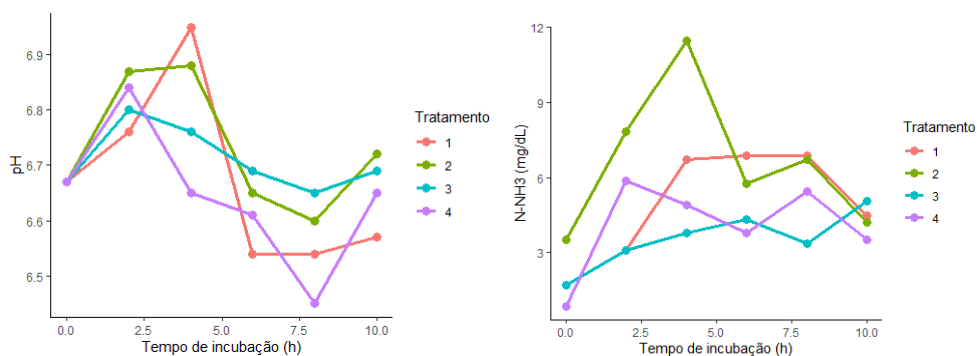


Figura 1. Concentração de pH e N-NH₃ em função do tempo de incubação (horas) sob diferentes tratamentos. Tratamento 1 = controle; 2 = monensina; 3 = quitosana crustácea; e 4 = quitosana de escama de peixe.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para as dietas a base de milho e farelo de soja ($p>0,05$). Para a silagem de mandioca, a quitosana de crustácea apresentou os maiores valores (QC=2,73 mL/g MS; $p=0,02$) de gás produzido pela fração rapidamente degradável (A). Já a quitosana de escama de peixe apresentou os maiores valores para taxa de degradação da fração rapidamente degradável ($0,47 \text{ g kg, h}^{-1}$; $p=0,04$). As demais variáveis não diferiram entre os tratamentos ($p>0,05$; Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros da cinética de degradação e produção de gases do milho moído, silagem de mandioca e farelo de soja sob diferentes tratamentos com quitosana

Variável	CON ¹	QC ²	QEP ³	CV (%) ⁴	p-valor ⁵
<i>Milho moído</i>					
A ⁶	7,50	6,43	6,61	10,28	0,390
B ⁷	0,19	0,20	0,18	2,74	0,230
C ⁸	5,44	5,69	5,60	2,75	0,372
D ⁹	9,05	9,71	10,15	5,06	0,224
E ¹⁰	0,07	0,07	0,07	2,14	0,294
PT ¹¹	16,14	15,59	16,29	1,80	0,176
<i>Silagem de mandioca</i>					
A	2,46ab	2,74a	2,03b	4,87	0,020
B	0,42ab	0,30b	0,48a	10,17	0,044
C	4,91	5,15	4,96	3,68	0,484
D	7,19	6,38	7,46	7,05	0,220
E	0,09	0,08	0,09	4,03	0,132
PT	9,56	8,97	9,40	4,25	0,409
<i>Farelo de soja</i>					
A	2,50	3,13	2,54	40,21	0,824
B	0,30	0,83	0,31	78,84	0,396
C	3,28	2,10	3,23	37,08	0,530
D	8,74	9,99	8,75	8,55	0,324
E	0,06	0,06	0,06	10,43	0,589
PT	10,61	12,78	10,69	14,12	0,418

¹CON=controle; ²QC= quitosana de crustácea; ³QEP= quitosana de escama de peixe; ⁴CV= coeficiente de variação; ⁵p-Valor= ; ⁶A=Gás produzido pela fração rapidamente degradável

(mL/g MS); ⁷B=Taxa de degradação da fração rapidamente degradável (g kg, h⁻¹); ⁸C=Gás produzido pela fração lentamente degradável (h); ⁹D=Gás total potencial do sistema (mL); ¹⁰E=Taxa de degradação da fração lenta (g kg, h⁻¹); ¹¹PT= Produção total de gás observada (mL).

4.DISCUSSÕES

Os alimentos avaliados possuem composição bromatológica diferentes, o que segundo Detmann et al. (2014) explicaria a digestibilidade diferente entre os alimentos energéticos e proteicos. O farelo de soja apresentou redução na DIVMS e DIVPB quando incluído quitosana de crustáceo ou de escama de peixes. A quitosana atua, principalmente, em microrganismos Gram-positivos em relação aos Gram-negativos, em bactérias celulolíticas e protozoários (Belanche et al., 2016b). Os protozoários atuam na degradação da proteína no rúmen, e essa defaunação, geralmente resulta em menor degradação da proteína (Bach et al., 2005; Ivan, 2008). A hipótese amplamente aceita sobre a quitosana está na ação sobre a permeabilidade da membrana celular por meio de interações eletrostáticas. Os grupos amino livres protonados ($-NH_2$), quando em contato com o pH ácido (6,3 a 6,5) se transformam em moléculas policatiónicas (NH_3^+) (Lim & Hudson, 2004), interagindo com a membrana externa carregada negativamente de diversos microrganismos, causando ruptura, inibindo o crescimento microbiano, e até mesmo levando à lise (Ma, 2017; Silva, 2024).

Segundo Yang & Russel (1993), quando a DIVPB de alimentos é menor, há uma manutenção de nitrogênio no rúmen e, conseqüentemente, uma menor aproveitamento de aminoácidos no rúmen. Kirwan et al. (2021), trabalharam com dietas de diferentes níveis protéicos, e os dados obtidos apresentaram uma redução na digestibilidade da matéria seca e proteína para ambas as dietas, quando adicionado quitosana. Logo, a diminuição da DIVPB do farelo de soja sugere um maior escape de aminoácidos.

Não houve diferença nas digestibilidades para o milho moído, corroborando com achados de Oliveira et al. (2025), que trabalharam com bovinos confinados recebendo dieta de alto grão, e não encontraram diferença na digestibilidade da matéria seca e proteína bruta para os tratamentos controle, quitosana e monensina, mas aumento na digestibilidade do amido da dieta para o tratamento com quitosana. Esses resultados reiteram a hipótese de atuação da quitosana sobre as bactérias celulolíticas, podendo aumentar a população de bactérias amilolíticas, melhorando a digestibilidade do amido, porém, estudos futuros devem ser feitos para validar essa hipótese.

Já em alimentos volumosos, é esperado a diminuição da DIVMS pela inibição da população celulolítica no rúmen pela quitosana (Wencelová et al., 2014). Os tratamentos com quitosana não alteraram a DIVMS, mas aumentou a DIVPB da silagem de mandioca, corroborando com achados de Paiva et al. (2016), que trabalharam com níveis de inclusão de quitosana em dieta composta por 65% de volumoso. Essa alteração da DIVPB pode

estar relacionada aos aminoácidos que escapam da degradação ruminal, sendo absorvido no intestino. Outra hipótese levantada é que alimentos mais fibrosos tem uma maior taxa de retenção no rúmen, resultando em um maior período de atuação dos microrganismos sobre os compostos solúveis (Detmann et al., 2014; Van Soest, 1994) em comparação aos alimentos concentrados.

Os valores de pH não apresentaram diferença dos tratamentos para o controle, apresentando um ambiente ruminal saudável médio de 6,60. Para a produção de N-NH_3 , o tratamento com quitosana de crustáceo apresentou a menor concentração, já a quitosana de escama de peixe não diferiu dos demais tratamentos, o que está relacionado ao padrão da DIVPB dos alimentos, supondo um maior escape de aminoácidos para o intestino, conforme exposto acima. Goiri et al. (2009a,b) sugerem uma menor taxa de desaminação das proteínas pelos microrganismos ou a utilização do N-NH_3 para síntese de proteína microbiana. O pico de produção de N-NH_3 visualizado para a QEP nas primeiras horas, se deve a maior porcentagem de fração solúvel neste tratamento, resultados similares foram descritos por Belanche et al. (2016a), onde alimentos altamente degradáveis apresentam pico de N-NH_3 logo após ao consumo. O mesmo comportamento não foi descrito por QC, devido a maior porcentagem indegradável desse tratamento (86,36) (Dados disponíveis no Capítulo 2 dessa dissertação).

Apesar de vários estudos apresentarem dados de menor relação acetato:propionato em dietas utilizando quitosana (Araújo et al., 2015; Oliveira et al., 2025), as produções de ácidos graxos, proporção acetato:propionato e estimativa de produção de metano não sofreram alteração. Essa resposta pode estar ligada ao tipo de dieta e proporção volumoso:concentrado.

Para os resultados de cinética da fermentação, a inclusão do aditivo QC aumentou a disponibilidade de componentes prontamente fermentáveis na silagem de mandioca, possivelmente favorecendo a hidrólise inicial de carboidratos solúveis e ampliando a fração imediatamente degradável pelos microrganismos ruminais. A redução observada no tratamento QEP sugere menor acessibilidade dos nutrientes rapidamente fermentáveis, o que pode estar associado a diferenças na estrutura do material ensilado ou na interação do aditivo com a matriz vegetal, resultando em menor liberação inicial de substrato fermentescível.

Embora QEP tenha apresentado menor volume da fração rapidamente degradável (A), a maior taxa de fermentação indica que a porção disponível, ainda que reduzida, foi rapidamente utilizada pelos microrganismos. Esse comportamento pode estar ligado a ação da quitosana em reduzir perdas fermentativas e preservar açúcares solúveis em silagens, favorecendo a maior produção de gases inicial (Del Valle et al., 2018). Outro fator que pode explicar esses padrões é a diferença nas propriedades físico-químicas da quitosana, onde

quitosana que possui menor desacetilação, apresenta menos poder de ação sobre os microrganismos. Logo, pode haver efeitos distintos na ação da quitosana sobre a população microbiana, onde alguns grupos de bactérias como as fibrolíticas são mais afetadas, favorecendo o aumento populacional de outros microrganismos que atuam rapidamente sobre substratos solúveis, alterando a velocidade e a dinâmica da fermentação (Wang et al., 2023; Rey et al., 2023).

De modo geral, a digestibilidade dos nutrientes, os parâmetros fermentativos e a cinética de fermentação dos alimentos estão diretamente relacionados à vários fatores, dentre eles a proporção volumoso:concentrado e qualidade da dieta (Detmann et al., 2014; Van Soest, 1994), adição de aditivos moduladores e microbiota ruminal (Martin et al., 2010; Goiri et al., 2009b). A QEP utilizada, apesar de apresentar um grau de desacetilação (~76) inferior ao da QC (>85), apresentou efeito similar na digestibilidade e parâmetros avaliados, porém, diferentes na cinética de fermentação do volumoso.

5.CONCLUSÃO

A utilização de quitosana de escama de peixes demonstrou potencial como aditivo natural capaz de modular a microbiota ruminal e alterar a cinética de fermentação, apresentando efeitos consistentes na regulação da população de bactérias fibrolíticas. Além disso, sua utilização mostrou-se promissora como estratégia para reduzir a degradação proteica no rúmen, favorecendo o aumento do fluxo de aminoácidos para absorção intestinal e contribuindo para maior eficiência nutricional dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). *Official methods of analysis*. 18. ed., rev. 2006. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2006.
- BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v. 88, p. E9–E21, 2005. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7.
- BELANCHE, A.; RAMOS-MORALES, E.; NEWBOLD, C. J. In vitro screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. *J Sci Food Agric*, v. 96, p. 3069–3078, 2016a. DOI: 10.1002/jsfa.7481.
- 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*, v. 92, p. 1–14, 2016b. DOI: 10.1093/femsec/fiv160.
- CAMACHO, L. F.; SILVA, T. E.; PALMA, M. N. N.; ASSUNÇÃO, A. S.; RODRIGUES, J. P.; SILVA, L. F.; DETMANN, E. Evaluation of buffer solutions and urea addition for estimating the in vitro digestibility of feeds. *Journal of Animal Science*, v. 97, p. 922–931, 2019. DOI: 10.1093/jas/sky464.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influence of incubation time and particle size on indigestible compounds contents in cattle feeds and feces obtained by in situ procedures.

Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n. 2, p. 335–342, 2008. DOI: 10.1590/S1516-35982008000200021.

DETMANN, E.; SILVA, L. F. C.; ROCHA, G. C.; PALMA, M. N. N.; RODRIGUES, J. P. P. *Métodos para análise de alimentos – INCT – Ciência Animal*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2014.

DEL VALLE, T. A.; ZENATTI, T. F.; ANTONIO, G.; CAMPANA, M.; GANDRA, J. R.; ZILIO, E. M. C.; DE MATTOS, L. F. A.; DE MORAIS, J. G. P. Effect of chitosan on the preservation quality of sugarcane silage. *Grass and Forage Science*, v. 73, n. 3, p. 630-638, 2018. DOI: 10.1111/gfs.12356.

DIAS, A. O. C.; GOES, R. H. T. B.; GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; BRANCO, A. F.; JACAÚNA, A. G.; OLIVEIRA, R. T.; SOUZA, C. J. S.; VAZ, M. S. M. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology*, v. 225, p. 73–80, 2017. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. *Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications*. Washington, DC: Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, 1970.

GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose-response effects of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of mixtures differing in forage-to-concentrate ratios. *Animal Feed Science and Technology*, v. 151, p. 215–227, 2009a. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2009.01.016.

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, 2009b. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007.

GUARNIERI, A.; TRIUNFO, M.; SCIEUZA, C.; IANNICIELLO, D.; TAFI, E.; HAHN, T.; SALVIA, R.; BONIS, A.; FALABELLA, P. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverting insect *Hermetia illucens*. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-12150-3.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of in vitro matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 1791–1794, 1999. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(99)75409-3.

IVAN, M. Comparison of duodenal flow and digestibility in fauna-free sheep inoculated with *Holotrich* protozoa, *Entodinium* monofauna or total mixed protozoa population. *British Journal of Nutrition*, v. 101, n. 1, p. 34–40, 2008. DOI: 10.1017/S0007114508984245.

LIM, S. H.; HUDSON, S. M. Synthesis and antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydrate Research*, v. 339, p. 313–319, 2004. DOI: 10.1016/j.carres.2003.10.024.

MA, Z.; GARRIDO-MAESTU, A.; JEONG, K. C. Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 176, p. 257–265, 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.08.082.

MAREI, N. H.; EL-SAMIE, E. A. E.; SALAH, T.; SAAD, G. R.; ELWAHY, A. H. M. Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.024.

MARTIN, C.; MORGAVI, D. P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, v. 4, n. 3, p. 351–365, 2010. DOI: 10.1017/S1751731109990620.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Instrução Normativa nº 8, de 25 de março de 2004*. Regulamento técnico para o controle da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 mar. 2004.

- MOSS, A. R.; JOUANY, J.-P.; NEWBOLD, C. J. (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49(3), 231–253. DOI: 10.1051/animres:2000119
- PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 91, n. 1, p. 24–37, 2011. DOI: 10.1002/jsfa.4152.
- REY, J.; OTÁLORA, X. D.; ATXAERANDIO, R.; MANDALUNIZ, N.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, A.; GONZÁLEZ-RECIO, O.; LÓPEZ-GARCÍA, A.; RUIZ, R.; GOIRI, I. Effect of chitosan on ruminal fermentation and microbial communities, methane emissions, and productive performance of dairy cattle. *Animals*, v. 13, p. 2861, 2023. DOI: 10.3390/ani13182861.
- RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Effects of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 55, n. 1, p. 1–6, 1989. DOI: 10.1128/AEM.55.1.1-6.1989
- SANTOS, M. V.; GOES, R. H. T. B.; TAKIYA, C. S.; CABRAL, L. da S.; MOMBACH, M. A.; OLIVEIRA, R. T.; SILVA, N. G.; ANSCHAU, D. G.; JUNIOR, J. E. F.; ARAUJO, M. L. G. M. L.; GANDRA, J. R. Effect of increasing doses of chitosan in beef cattle on pasture on the relative population and transcript abundance of Archaea and cellulolytic and amylolytic bacteria. *Biotechnologia Animal*, v. 34, n. 2, p. 246–252, 2021. DOI: 10.1080/10495398.2021.1954936.
- SENEL, S.; McCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 1467–1480, 2004. DOI: 10.1016/j.addr.2004.02.007.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 235.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v. 70, n. 11, p. 3562–3577, 1992. DOI: 10.2527/1992.70113562x.
- TEDESCHI, L. O. ASN-ASAS Symposium: Future of data analytics in nutrition: Mathematical modeling in ruminant nutrition: approaches and paradigms, extant models, and thoughts for upcoming predictive analytics. *Journal of Animal Science*, v. 97, n. 5, p. 1921–1944, 2019. DOI: 10.1093/jas/skz092.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*, v. 18, p. 104–111, 1963. DOI: 10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- WANG, H.; ROMAN, M. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on chitosan–cellulose nanocrystal complexes and their formation. *Molecules*, v. 28, p. 1361, 2023. DOI: 10.3390/molecules28031361.
- WENCELOVÁ, 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. DOI: 10.3906/vet-1307-19.
- YANG, C. M.; RUSSELL, J. B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the numbers of amino acid-fermenting bacteria. *Journal of Animal Science*, v. 71, n. 12, p. 3470–3476, 1993. DOI: 10.2527/1993.71123470x.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources: structure, properties and applications. *Marine Drugs*, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2015. DOI: 10.3390/md13031133.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da quitosana como modulador ruminal tem se mostrado promissora nos estudos avaliados, atuando na digestibilidade dos alimentos e alterando os padrões fermentativos. O método de extração avaliada, resultou em uma quitosana com alto grau de desacetilação, comprovando que o método de extração pode ser utilizado a fim de obter quitosana da escama de peixes. Os resultados *in situ*, mostraram que a quitosana de escama de peixes, assim como a de crustáceos pode ser utilizada como modulador ruminal. Os resultados da utilização de ambas as quitosanas, mostraram que o uso como modulador ruminal pode ser aplicado como estratégias para escape de proteína para ser absorvida a nível intestinal, principalmente indicada para produção de bovinos de leite. Ainda, a quitosana é recomendada para ser utilizada como aditivo modulador ruminal, indicada principalmente a associação de dietas acidificantes do ambiente ruminal, como em confinamentos de alto grão, por se tratar de um aditivo que auxilia no controle do pH ruminal. Porém, ajustes e aperfeiçoamentos devem ser feitos na técnica de extração para quitosana de escama de peixes, a fim de aumentar o grau de desacetilação e sua ação nas bactérias gram-positivas. Estudos futuros devem ser feitos para padronizar a extração da quitosana de escama de peixes, determinar uma dose padrão de utilização de quitosana e testar a quitosana em ensaios *in vitro* com alimentos isolados para entender de maneira mais clara a atuação da quitosana em alimentos concentrados ou volumosos mais precisamente. Além de avaliar o desempenho de ruminantes, testando a quitosana *in vivo*, por ser uma área ainda defasada. Logo, mais estudos com a quitosana são necessários para aperfeiçoar o método de extração e entender a sua utilização pode ser mais proveitosa na suplementação de ruminantes.

APÊNDICE A – PROTOCOLO REVISÃO INTEGRATIVA

PROTOCOLO PARA REVISÃO INTEGRATIVA	
TEMA	
Uso da quitosana como modulador ruminal na produção de ruminantes	
OBJETIVO	
Avaliar o efeito da quitosana no consumo, digestibilidade DIVMS e DIVPB, nos parâmetros fermentativos e redução de metano	
QUESTÃO NORTEADORA	
Estratégia mnemônica PVO ou PICOS P – população: ("Ruminants" OR "Beef cattle" OR "Cattle" OR "Calf" OR "Heifer" OR "Bull" OR "Cow" OR "Dairy cattle") V – intervenção: ("Chitosan" OR "Chitosan supplementation" OR "Chitin" OR "Chitosan degradation") O – resultados: ("Digestibility" OR "Fermentation parameters" OR "Fermentation" OR "Volatile fatty acids" OR "Ammonia nitrogen" OR "Gas production" OR "Intake" OR "Feed intake" OR "Ruminal fermentation" OR "Nitrogen compound balance" OR "Microbial synthesis" OR "Acid detergent fiber" OR "Dry matter" OR "Dry matter intake" OR "Crude protein" OR "Neutral detergent fiber" OR "Methane production" OR "CH ₄ " OR "Methanogenesis" OR "Methane enteric") Questão norteadora: Como o uso de quitosana para ruminantes influencia o consumo, digestibilidade, parâmetros fermentativos e produção de metano em ruminantes domésticos?	
ESTRATÉGIA DE BUSCA	
<u>Fontes de Dados:</u> ✓ SCOPUS; ✓ WEB OF SCIENCE.	
<u>Descritores:</u> • (A) "Ruminants" OR "Beef cattle" OR "Cattle" OR "Calf" OR "Heifer" OR "Bull" OR "Cow" OR "Dairy cattle" • (B) ("Chitosan" OR "Chitosan supplementation" OR "Chitin" OR "Chitosan degradation") • (C) ("Digestibility" OR "Fermentation parameters" OR "Fermentation" OR "Volatile fatty acids" OR "Ammonia nitrogen" OR "Gas production" OR "Intake" OR "Feed intake" OR "Ruminal fermentation" OR "Nitrogen compound balance" OR "Microbial synthesis" OR "Acid detergent fiber" OR "Dry matter" OR "Dry matter intake" OR "Crude protein" OR "Neutral detergent fiber" OR "Methane production" OR "CH₄" OR "Methanogenesis" OR "Methane enteric") • (D) "Dressing" OR "Film" OR "Chitosan nanoparticles" OR "Human" OR "Beef preservation" OR "Nano-chitosan" OR "Empty chitosan nano-capsules" OR "Encapsulated chitosan" OR "Chitosan capsule"	
<u>Cruzamentos #</u>	
Único# A and B and C And not D	

Estratégias de buscas SCOPUS:

No dia 24/09/2025 foi feita a busca com os seguintes descritores: (TITLE-ABS-KEY(("Ruminants" OR "Beef cattle" OR "Cattle" OR "Calf" OR "Heifer" OR "Bull" OR "Cow" OR "Dairy cattle")) AND TITLE-ABS-KEY(("Chitosan" OR "Chitosan production" OR "Chitosan supplementation" OR "Chitin" OR "Chitosan degradation")) AND TITLE-ABS-KEY(("Digestibility" OR "Fermentation parameters" OR "Fermentation" OR "Volatile fatty acids" OR "Ammonia nitrogen" OR "Gas production" OR "Intake" OR "Feed intake" OR "Ruminal fermentation" OR "Nitrogen compound balance" OR "Microbial synthesis" OR "Acid detergent fiber" OR "Dry matter" OR "Dry matter intake" OR "Crude protein" OR "Neutral detergent fiber" OR "Methane production" OR "CH4" OR "Methanogenesis" OR "Methane enteric")) AND NOT TITLE-ABS-KEY("Dressing" OR "Film" OR "Chitosan nanoparticles" OR "Human" OR "Beef preservation" OR "Nano-chitosan" OR "Empty chitosan nano-capsules" OR "Encapsulated chitosan" OR "Chitosan capsule")), onde foram encontrados 111 arquivos, sendo 89 artigos.

Estratégias de buscas na Web of Science:

No dia 24/09/2025 foi feita a busca com os seguintes descritores: (TITLE-ABS-KEY(("Ruminants" OR "Beef cattle" OR "Cattle" OR "Calf" OR "Heifer" OR "Bull" OR "Cow" OR "Dairy cattle")) AND TITLE-ABS-KEY(("Chitosan" OR "Chitosan production" OR "Chitosan supplementation" OR "Chitin" OR "Chitosan degradation")) AND TITLE-ABS-KEY(("Digestibility" OR "Fermentation parameters" OR "Fermentation" OR "Volatile fatty acids" OR "Ammonia nitrogen" OR "Gas production" OR "Intake" OR "Feed intake" OR "Ruminal fermentation" OR "Nitrogen compound balance" OR "Microbial synthesis" OR "Acid detergent fiber" OR "Dry matter" OR "Dry matter intake" OR "Crude protein" OR "Neutral detergent fiber" OR "Methane production" OR "CH4" OR "Methanogenesis" OR "Methane enteric")) AND NOT TITLE-ABS-KEY("Dressing" OR "Film" OR "Chitosan nanoparticles" OR "Human" OR "Beef preservation" OR "Nano-chitosan" OR "Empty chitosan nano-capsules" OR "Encapsulated chitosan" OR "Chitosan capsule")), onde foram encontrados 92 arquivos, sendo 80 artigos.

Critérios de inclusão:

- ✓ Artigos completos, disponíveis nas bases de dados elencadas, que abordem os principais índices relacionados a letalidade, mortalidade e sobrevida em doença falciforme;
- ✓ Estudos em qualquer idioma.
- ✓ Sem recorte temporal

Critérios de exclusão:

- ✓ Artigos de revisão, editoriais, cartas ao editor, resumos, opinião de especialistas, resenhas, livros, capítulos de livros, teses, dissertações, monografias e TCC.

Avaliação metodológica dos estudos:

- ✓ Os estudos serão avaliados quanto ao nível de evidência e grau de recomendação por meio do referencial de Melnyk et al. 2010.

RESULTADOS DAS BUSCAS

BASE DE DADOS	CRUZAMENTO	LIMITE	Nº DE ARTIGOS RECUPERADOS
SCOPUS	Único#	Apenas artigos	17
Web of Science	Único#	Apenas artigos	0
TOTAL			17