



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

**QUITOSANA E LÍQUIDO DE CASTANHA DE CAJU COMO
ADITIVOS PARA BOVINOS**

FERNANDA NAIARA FOGAÇA DA CRUZ

Dourados- MS
2025



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

QUITOSANA E LÍQUIDO DE CASTANHA DE CAJU COMO
ADITIVOS PARA BOVINOS

FERNANDA NAIARA FOGAÇA DA CRUZ

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

Co-Orientador: Jefferson Rodrigues Gandra

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

Dourados- MS
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C957q Cruz, Fernanda Naiara Fogaça da.
Quitosana e líquido de castanha de caju como aditivos para bovinos. /
Fernanda Naiara Fogaça da Cruz . – Dourados, MS : UFGD, 2025.
78 f.

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal da Grande
Dourados.
Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e B. de Goes.
Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

1. Aditivos alternativos. 2. Óleos funcionais. 3. Biopolímero. 4.
Ruminantes. 5. Goes, Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli . 6.
Gandra, Jefferson Rodrigues. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

ATA DE APROVAÇÃO



Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal da Grande Dourados
Pró-Reitoria de Pós-Graduação
Coordenadoria de Pós-Graduação



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR FERNANDA NAIARA FOGAÇA DA CRUZ, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "PRODUÇÃO ANIMAL".

Aos dezessete dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e cinco, às oito horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada **"QUITOSANA E LIQUIDO DE CASTANHA DE CAJU COMO ADITIVOS PARA BOVINOS "**, apresentada pela doutoranda Fernanda Naiara Fogaça da Cruz, do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes/UFGRD (presidente/orientador), Prof.^a Dr.^a Carolina Marques Costa Araujo/UFGRD (membro titular interno), Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco/UEM (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Milene Puntel Osmari/UFSC (membro titular externo), Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior/UNIMONTES (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada **APROVADA**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 17 de dezembro de 2025.

 Documento assinado digitalmente RAFAEL HENRIQUE DE TONISSI E BUSCHINELLI Data: 18/12/2025 18:33:36-0300 Verifique em https://validar.itl.gov.br	 Documento assinado digitalmente CAROLINA MARQUES COSTA ARAUJO Data: 13/01/2026 13:49:16-0300 Verifique em https://validar.itl.gov.br	 Documento assinado digitalmente ANTONIO FERRIANI BRANCO Data: 13/01/2026 12:13:38-0300 Verifique em https://validar.itl.gov.br
_____ Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes Presidente/orientador	_____ Prof. ^a Dr. ^a Carolina Marques Costa Araujo Membro Titular Interno	_____ Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco Membro Titular Externo
 Documento assinado digitalmente MILENE PUNTEL OSMARI Data: 16/01/2026 16:13:38-0300 Verifique em https://validar.itl.gov.br	 Documento assinado digitalmente VICENTE RIBEIRO ROCHA JÚNIOR Data: 18/12/2025 18:42:35-0300 Verifique em https://validar.itl.gov.br	
_____ Prof. ^a Dr. ^a Milene Puntel Osmari Membro Titular Externo	_____ Prof. Dr. Vicente Ribeiro Rocha Júnior Membro Titular Externo	

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPG)

BIOGRAFIA DO AUTOR

Fernanda Naiara Fogaça da Cruz, filha de Marleide Silva Fogaça da Cruz e Uelton da Cruz Silva, nasceu em 20 de maio de 1992 na cidade de Riacho de Santana- BA. Em fevereiro de 2013, ingressou no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) no estado da Bahia, vindo a graduar-se em janeiro de 2018. Em setembro de 2020, iniciou sua trajetória na pós-graduação, em nível de mestrado, pela Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes) em Minas Gerais, obtendo o título de mestre em dezembro de 2021 com ênfase na área de nutrição e produção animal no semiárido . Em 2022, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, atuando em pesquisas voltadas para a produção de animais ruminantes, sendo bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (Capes) desde 01/03/2022, submetendo-se a defesa da dissertação em 17/ 12/ 2025.

Dedico aos meus pais, Marleide e Uelton e a minha irmã, Samara.

A força e razão pela qual esse sonho se tornou realidade.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e ao Sagrado por me sustentarem ao longo desse caminho. A força para trilhar essa jornada veio de algo muito maior. A fé moveu esse sonho.

Aos meu pais, Marleide e Uelton, por mais uma vez sonharem comigo. Por cada incentivo, cada alento e serem o motivo que me faz sempre buscar o que eu mais desejo. A minha irmã Samara e a Máuro, meu irmão de coração, por sempre incentivarem a buscar o que faz meus olhos brilharem.

Aos meus avós maternos, José e Aldelice, por todo amor, pelo carinho de sempre refletido nas ligações aos domingos, onde cada palavra me ajudava a ter forças pra continuar e lidar com a saudade.

Aos meus avós paternos, Antônio e Maria (*in memorian*), que do céu festejam mais um sonho realizado. Saudades!

As amigas de uma vida, Cássia (Cinha), Giulliana (Jujú) presentes da minha primeira república e que se tornaram família. A Camille (Cacá) (*in memorian*), amiga da república e da vida, com quem trilhei os primeiros passos dessa caminhada acadêmica e se fez sempre presente, mesmo não estando mais neste plano terreno. Conseguímos!

A minha irmã de alma, Laise (Preta), sempre comigo incentivando cada vôo. Aos amigos que a graduação me proporcionou: Mariana, Brenda, Flávia e Higor, sempre cuidando, incentivando e vibrando comigo.

A Amanda, um anjo amigo que a Unimontes me presenteou, que para além de me agraciar com sua amizade, aceitou viver esse sonho (e a loucura) do doutorado nos seus quase 3 mil km de casa. Sua amizade fez esse caminho mais leve e espero tê-la sempre.

Aos amigos, Douglas e Gleice (meu trio), com quem dividi as alegrias e as angústias do doutorado, um carinho para além da UFGD. Obrigada por não desistirem de mim e por terem contribuído para que essa jornada fosse mais leve.

Ao Professor Flávio Monção (UNIMONTES), pelo apoio durante o mestrado e por ter insistido na ideia que deveria buscar o doutorado.

Aos amigos, Giulliano Muglia, Cibeli Almeida, Adilson Casale e Phaena Moraes, pela companhia, pela amizade, pelos cafés, pela alegria e por trazer leveza à essa caminhada.

Ao meu orientador, Rafael Goes, pelos ensinamentos e pela paciência em lidar com a baiana que é “ligada no 220”.

Ao grupo NERU, em especial aos discentes da iniciação científica: Rayssa Freitas,

Maria Eduarda Malaquias, Luana Felício e Giovanni Funatsu, por toda a colaboração no desenvolvimento desse trabalho.

A Capes e ao CNPq, pelo apoio financeiro na cessão das bolsas de pesquisa e ao FUNDECT, que, para além das bolsas, financiou este estudo.

A todos aqueles que estiveram presentes e auxiliaram no desenvolvimento desse trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Resumo	15
Abstract.....	17
Capítulo I.....	19
1.Considerações iniciais.....	19
2. Revisão bibliográfica	20
2.1 Dietas de alto grão para confinamentos	20
2.2 Aditivos alimentares para bovinos em confinamento	21
2.3. A quitosana e seu uso como aditivo para bovinos confinados.....	22
24. Líquido de castanha de caju como aditivo para bovinos.....	23
3. Hipóteses.....	24
4. Objetivos	25
4.1 objetivo geral.....	25
4.2 objetivos específicos	25
Referências bibliográficas	26
Capítulo II	29
Resumo	29
Abstract.....	30
1.Introdução	31
2. Material e métodos.....	32
2.1. Local, animais e tratamentos	32
2.2. Degradabilidade ruminal	35
2.3. Fermentação ruminal.....	36
2.4. Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente total	37
2.5. Síntese de proteína microbiana	38
2.6. Metabolismo de ureia e creatinina	39
2.7. Análise estatística.....	39
3. Resultados	40
3.1 Resultados experimento 1: quitosana fixa+ lcct doses variadas	40
3.2 Resultados experimento 2: lcct fixa+ doses de quitosana variadas.....	42
4. Discussão	45
5. Conclusão.....	47
Referências bibliográficas.....	48

Capítulo III.....	51
Resumo	51
Abstract.....	53
1. Introdução	55
2.1. Local, animais e tratamentos	56
2.2. Análises metabolômicas	59
2.3 Análise estatística	61
3. Resultados	61
3.1. Experimento 1: quitosana fixa + doses crescentes de lcct	61
3.2. Experimento 2: lcct fixo+ doses crescentes de quitosana	68
4. Discussão	72
5. Conclusão.....	74
6. Considerações finais	74
Referências.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção e composição químico-bromatológica dos componentes da dieta dos novilhos alimentados com alto grão e com LCCt e quitosana como aditivos.	33
Tabela 2. Ingredientes e níveis de garantia do <i>péllet</i> proteico vitamínico-mineral.....	34
Tabela 3. Valores médios de consumo de MS e de amido e digestibilidade de nutrientes de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCCt (experimento 1).....	40
Tabela 4. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência da síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCC (experimento 1).....	41
Tabela 5. Média dos valores de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCCt (experimento 1)..	42
Tabela 6. Valores médios de consumo de MS e a digestibilidade do amido e da MS de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana (Experimento 2).	42
Tabela 7. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência da síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana (Experimento 2).	43
Tabela 8. Média dos valores de pH, o nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana (Experimento 2).	44

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação esquemática da quitosana e da estrutura primária da celulose (n= grau de polimerização) (Fonte: Assis & Silva, 2003)..... **22**
- Figura 2. Estrutura química dos principais componentes do LCC (FONTE: CARNEIRO et al., 2021) **24**
- Figura 3. Efeito do tempo sobre o pH e o nitrogênio amoniacal (N-NH₃) de bovinos alimentados com dieta alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana..... **44**
- Figura 4. Principais componentes metabolômicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCt. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS) **62**
- Figura 5. Principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCt. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS) **62**
- Figura 6. Principais componentes metabolômicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS) **63**
- Figura 7. Índices VIP de metabólitos plasmáticos em bovinos alimentados com dietas à base de grãos de milho integral suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS) **64**
- Figura 8. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral. suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS) **65**
- Figura 9. Principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de

quitosana e doses crescentes de LCCt. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS);
 Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS);
 Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)..... **66**

Figura 10. Análise de agrupamento por mapa de calor de Cluster dos principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCt. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)..... **67**

Figura 11. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral, suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS).. **68**

Figura 12. Principais componentes metabolômicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)..... **69**

Figura 13. Principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)..... **70**

Figura 14. Análise de agrupamento por mapa de calor de Cluster dos principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)..... **71**

Figura 15. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral, suplementados com o tratamento LCC+ Q2 (600mg+750mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)..**72**

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC – Ácido graxo de cadeia curta
AOAC - Association Of Analytical Chemists
BN - Balanço de compostos nitrogenados
CON - Controle
CZ - Cinza
DP - Derivados de purina
FDA - Fibra em detergente ácido
FDN - Fibra em detergente neutro
FDNi – Fibra em detergente neutro indigestível
HCl - Ácido clorídrico
LCC - Líquido de castanha de caju
LCCt - Líquido de castanha de caju técnico
MM - Matéria mineral
MO - Matéria orgânica MON- Monensina
MS - Matéria seca
NaOH - Hidróxido de sódio
NAR - Nitrogênio amoniacal do líquido ruminal
NBE - Nitrogênio endógeno basal
N-NH₃ – Nitrogênio amoniacal
Nret - Nitrogênio retido
PB - Proteína bruta
PC - Peso corporal
QUI – Quitosana
SARA- Acidose aguda subclínica
TMR- *Total mixed ration* (ração total misturada)
TiO₂ - Dióxido de titânio

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro de 2025. 78p. **Quitosana e Líquido de castanha de caju como aditivos para bovinos**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da combinação de quitosana e líquido da casca de castanha de caju, sobre os parâmetros da fermentação ruminal e emissão de gases efeito estufa, metabolômica, digestibilidade de bovinos alimentados com dietas à base de grãos inteiros. Foram realizados dois experimentos simultâneos: 1: dose fixa de quitosana com doses crescentes de líquido de castanha de caju técnico (LCCt); 2: dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Cada ensaio contou com 4 animais, distribuídos aleatoriamente em delineamento quadrado latino (4 x 4). As dietas ofertadas basearam-se em 85% de grão de milho inteiro e 15% de péllet proteico- mineral-vitamínico. Os tratamentos do experimento da dose fixa de quitosana com doses crescentes de LCCt basearam-se em: controle com monensina (MON) (25mg/kg/MS); Q+LCCt1: 375mg/kg/MS de quitosana + 300mg/kg/MS de LCCt; Q+LCCt2: 375mg/kg/MS de quitosana + 600mg/kg/MS de LCCt; Q+LCC3: 375mg/kg/MS + 900mg/kg/MS. Para o experimento com a dose fixa de LCCt e as doses crescentes de LCCt, utilizou-se: controle (CON) com monensina (25mg/kg/MS); LCCt+Q1: 600mg/kg/MS de LCCt + 375mg/kg/MS de quitosana; LCCt+Q2: 600mg/kg/MS de LCCt + 750mg/kg/MS de Quitosana; LCCt+Q3: 600mg/kg/MS de LCCt e 1125mg/kg/MS. No experimento 1 não houve efeito ($P>0,05$) sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, pH, derivados de purinas, AGCC e nitrogênio amoniacal. Para o experimento 2 houve efeito ($P<0,05$) para teores de alantoína, derivados de purina, proteínas absorvidas, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e eficiência microbiana. A análise metabolômica do plasma e do líquido ruminal do experimento 1 mostrou que a monensina e a Q+LCC1 são semelhantes entre si, mas diferem da Q+LCC2 e Q+LCC3. O tratamento Q+LCCt2 apresentou a maior diferença visível na geração de calor e o tratamento Q+ LCCt1 a maior similaridade quando comparado ao tratamento controle (monensina). A análise metabolômica do plasma no experimento 2 mostrou que a monensina, o tratamento LCCt+Q2 e LCCt+Q3 são semelhantes entre si, mas diferem da LCCt+Q1. A análise dos metabólitos do líquido ruminal mostrou que a monensina e o tratamento LCCt+Q1

são semelhantes, mas que ambos diferem dos LCct+Q2 e LCct+Q3. Assim, considerando os efeitos similares desejáveis e o perfil metabolômico equivalente e seus efeitos sobre o processo fermentativo ruminal, a dose 600mg/kg/MS + 375mg/kg/MS (tratamentos Q+LCct2 e LCct+Q1) mostrou-se como o tratamento potencial substituto à monensina em dietas de bovinos de corte alimentados com altas proporções de grãos.

Palavras-chave: aditivos alternativos, óleos funcionais, biopolímero, ruminantes.

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro 2025. 78p. **Chitosan and cashew nut shell liquid as additives for cattle** Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the combination of chitosan and cashew nut shell liquid on ruminal fermentation parameters, greenhouse gas emissions, metabolomics, and digestibility in cattle fed whole-grain-based diets. Two simultaneous experiments were conducted: 1: fixed dose of chitosan with increasing doses of technical cashew nut shell liquid (CNSLt); 2: fixed dose of CNSLt with increasing doses of chitosan. Each trial included 4 animals, randomly distributed in a 4×4 Latin square design. The diets offered were based on 85% whole corn grain and 15% protein–mineral–vitamin pellet. The treatments for the experiment with a fixed dose of chitosan and increasing doses of CNSLt were: control with monensin (MON) (25 mg/kg DM); Q+CNSLt1: 375 mg/kg DM chitosan + 300 mg/kg DM CNSLt; Q+CNSLt2: 375 mg/kg DM chitosan + 600 mg/kg DM CNSLt; Q+CNSLt3: 375 mg/kg DM + 900 mg/kg DM CNSLt. For the experiment with a fixed dose of CNSLt and increasing doses of chitosan, the treatments were: control (CON) with monensin (25 mg/kg DM); CNSLt+Q1: 600 mg/kg DM CNSLt + 375 mg/kg DM chitosan; CNSLt+Q2: 600 mg/kg DM CNSLt + 750 mg/kg DM chitosan; CNSLt+Q3: 600 mg/kg DM CNSLt + 1125 mg/kg DM chitosan. In Experiment 1, there was no effect ($P > 0.05$) on intake, nutrient digestibility, pH, purine derivatives, volatile fatty acids (VFA), or ammonia nitrogen. In Experiment 2, there was an effect ($P < 0.05$) on allantoin levels, purine derivatives, absorbed proteins, microbial nitrogen, microbial protein, and microbial efficiency. Metabolomic analysis of plasma and ruminal fluid from Experiment 1 showed that monensin and Q+CNSLt1 are similar to each other but differ from Q+CNSLt2 and Q+CNSLt3. The Q+CNSLt2 treatment showed the greatest visible difference in heat generation, while Q+CNSLt1 showed the greatest similarity when compared to the control treatment (monensin). Metabolomic analysis of plasma in Experiment 2 showed that monensin, CNSLt+Q2, and CNSLt+Q3 are similar to each other but differ from CNSLt+Q1. Analysis of ruminal fluid metabolites showed that monensin and CNSLt+Q1 are similar, but both differ from CNSLt+Q2 and CNSLt+Q3. Thus, considering the similar desirable effects, the equivalent metabolomic profile, and their

effects on the ruminal fermentation process, the dose of 600 mg/kg DM + 375 mg/kg DM (treatments Q+CNSLt2 and CNSLt+Q1) proved to be a potential substitute treatment for monensin in diets of feedlot cattle fed with high grain proportions.

Keywords: alternative additives, functional oils, biopolymer, ruminants.

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com números que já superam o total de 238 milhões de cabeças de acordo com o último censo agropecuário (IBGE, 2023). Com o crescente aumento na demanda por alimentos e por consequência, na proteína animal, estratégias e tecnologias precisam ser utilizadas para que as necessidades sejam supridas. O exemplo disso são os sistemas de terminação de bovinos em confinamento, sendo possível obter-se animais acabados em tempo menor quando comparado aos bovinos terminados à pasto (FERRACINI et al, 2022).

A estratégia de terminação de bovinos em sistemas de confinamento visa a intensificação da produção de bovinos para o abate, sendo alternativa importante em períodos de seca, quando as disponibilidades de forragem são limitadas. Outro importante aspecto, é a intensificação da produção de grãos que são a base das dietas presentes neste sistema de produção, possibilitando então, o maior uso de grãos em confinamentos (MENDES et al, 2023).

O uso de dietas com grãos ricos em carboidratos de fácil fermentação para animais confinados podem ocasionar distúrbios metabólicos como a acidose subaguda (SARA), afetar o consumo dos alimentos, prejudicar as funções ruminais com a diminuição da sua motilidade, podendo ocasionar distúrbios secundários como alterações locomotoras (TAVARES et al, 2019) e abscessos hepáticos (REINHARDT & HUBBERT, 2015).

Os aditivos alimentares são empregados para melhorar a eficiência do aproveitamento da dieta, o desempenho animal, saúde dos animais e a redução nas emissões de metano. Nesta categoria incluem-se vitaminas, óleos, compostos fúngicos, aminoácidos, minerais e compostos esteroidais (HONAN et al, 2021). Nesse contexto, a quitosana vem sendo utilizada como aditivo nas dietas de bovinos melhorando a eficiência da utilização dos nutrientes (JIMÉNEZ-OCAMPO et al., 2021) e o líquido de castanha de caju técnico (LCCT) é visto como um potencial aditivo para ruminantes devido sua capacidade de modificar a microbiota e modular a fermentação ruminal (OH et al., 2017).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DIETAS DE ALTO GRÃO PARA CONFINAMENTOS

Os cereais são a principal fonte energética na alimentação dos bovinos em confinamento (SANTOS & MOSCARDINI, 2007), sendo o milho, o grão mais utilizado devido às suas características nutricionais e a sua produção em todo território brasileiro (CATTELAM et al., 2018). As dietas de alto grão utilizadas para ruminantes, baseiam-se exclusivamente na oferta do grão de milho não processado, intacto, adicionado à um suplemento mineral- proteico- vitamínico (RODRIGUES et al., 2024). A maior utilização de dietas ausentes em volumosos está associada a intensificação dos sistemas de produção, com aumento considerável de animais terminados em confinamento, permitindo que bovinos criados sob essas condições atinjam seu máximo ganho de peso, com lotes mais uniformes e produzidos em menor intervalo de tempo (DIAS et al., 2016).

As proporções utilizadas nas dietas de alto grão são 85% de milho inteiro e 15% do péllet mineral-proteico- vitamínico, caracterizando-se como uma dieta de alta densidade energética. O seu emprego apresenta vantagens como uso de apenas dois ingredientes, redução de custos com a produção do volumoso e redução do uso de mão de obra para manipulação da dieta. Para utilização das dietas sem volumoso, a estratégia adotada é seu uso nos últimos 30-40 dias da terminação, pois é quando os animais já se encontram adaptados ao manejo e reduz-se a possibilidade de sobras ou rejeição da dieta (PAULINO et al., 2013).

No entanto, as dietas com elevadas proporções de concentrados apresentam altos teores de carboidratos que elevam a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (LIU et al., 2020), podendo comprometer os mecanismos de manutenção da homeostase, com alterações na microbiota ruminal, redução do pH e a ocorrência de distúrbios metabólicos (ABRÃO et al., 2015). A elevação dos AGCC pode levar à ocorrência de acidose ruminal subaguda (SARA), que no rebanho apresenta sinais clínicos sutis ou silenciosos, com impacto significativo em seu desempenho, comprometendo o ganho de peso e provocando a extinção das bactérias celulolíticas (MINAMI et al., 2020). Nesse contexto, a utilização de aditivos alimentares auxilia no controle do pH e na modulação da fermentação ruminal, reduzindo as perdas

energéticas, diminuindo as produções de lactato e metano, melhorando a saúde e o desempenho animal (SILVESTRE et al., 2023).

2.2 ADITIVOS ALIMENTARES PARA BOVINOS EM CONFINAMENTO

Nos últimos anos, pesquisas estão sendo realizadas com foco nas melhorias dos processos fermentativos do rumen, com ênfase em incrementar a produção de propionato, reduzir a metanogênese e a proteólise, resultando em melhoria da eficiência produtiva dos bovinos. Para que tais objetivos fossem alcançados, inicialmente optou-se pela manipulação da dieta e mais recentemente, uso de aditivos alimentares que auxiliem no alcance dos resultados. A utilização de aditivos nos confinamentos de bovinos de corte, reforça a preocupação com a sustentabilidade na produção de alimentos, redução dos gases como o metano e no aumento da eficiência alimentar pelos animais (VIANA et al., 2020).

A monensina sódica é o principal aditivo utilizado como modulador da fermentação ruminal, mas são crescentes os estudos que buscam substituí-la, uma vez que substâncias sintéticas estão sendo desaprovadas por produtores e pelo mercado consumidor (RIGOBELLO et al., 2014). Outro importante aspecto a ser considerado nesse contexto, trata-se da fixação de limites máximos para a utilização de aditivos na alimentação animal pela Food and Agriculture Organization (FAO) em 2008 e a proibição de antibióticos promotores de crescimento, como a monensina, pela União Europeia a partir de 2006 (BARDUCCI et al., 2013). A proibição baseia-se no efeito seletivo que apresentam sobre os microrganismos ruminais e seu impacto sobre a saúde pública, a partir da capacidade de interagir também sobre agentes patogênicos humanos, aumentando sua resistência a antimicrobianos (LOPES et al., 2023).

As alternativas naturais vistas como potenciais substitutos da monensina na modulação da fermentação ruminal incluem ácidos orgânicos, probióticos, leveduras e metabólitos secundários de plantas chamados de óleos funcionais (OSMARI et al., 2015).

2.3. A QUITOSANA E SEU USO COMO ADITIVO PARA BOVINOS CONFINADOS

A quitina é um polisacarídeo semelhante à celulose tanto em sua estrutura quanto em sua função (PAZ & SANTOS, 2024). A quitosana (poli β -1,4-D-glucosamina) é um biopolímero obtido a partir da quitina, presente nos exoesqueletos de crustáceos, insetos e parede celular de microrganismos (MACHADO et al., 2020), possuindo como características o baixo custo, efeito emulsificante, atóxico, ação antimicrobiana e biodegradável, não se acumulando na natureza (CAVALCANTI, et al., 2016).

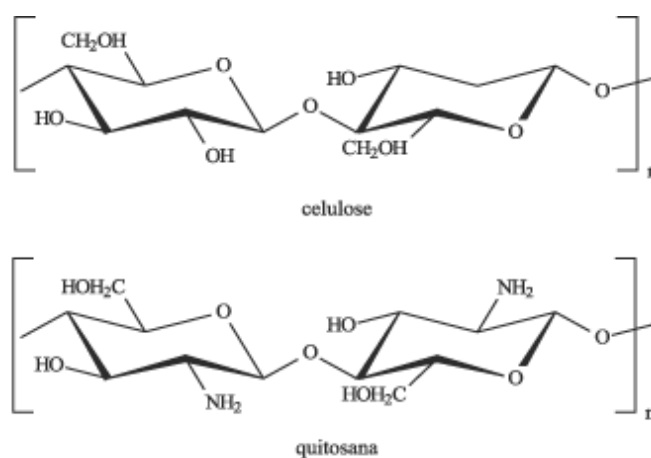


Figura 1. Representação esquemática da quitosana e da estrutura primária da celulose (n = grau de polimerização) (Fonte: Assis & Silva, 2003)

Para a produção de quitosana a partir dos crustáceos, inicia-se com o processo de moagem para uniformização da granulometria. A partir de então, faz-se a desmineralização para reduzir o teor de cinzas; em seguida, a etapa de desproteínização, diminuindo-se os teores de nitrogênio proteico com solução de hidróxido de sódio 5% p/v, sendo lavada até que atinja pH neutro. Para a despigmentação e desodorização, o material é agitado com solução de hipoclorito de sódio 0,36% v/v e lavada para novamente atingir a neutralidade. A quitina resultante é submetida a uma temperatura de 80°C por 4h e em seguida desacetilada com solução de NaOH (42,3%) aquecida e em agitação por 2h. Com a finalização do processo, deve-se lavar o material obtido e o pH acompanhado. Na etapa seguinte, será adicionado à quitina a solução de ácido acético (1%), obtendo-se como resultado a quitosana dissolvida com pH 6,0. Na sequência da extração, a quitosana deve ser precipitada em solução alcalina para que atinja o pH 12,5 e posteriormente, neutralizada até que atinja o pH de 7,0, sendo

submetida à secagem e finalmente obtendo-se a quitosana purificada (SANTOS et al., 2019).

A quitosana é um dos mais recentes aditivos utilizados na ração animal, com propriedades antimicrobianas, antioxidantes, hipocolesterolêmicas, antitumorais, imunoestimulantes e anti-inflamatórias. Na ração animal, melhora o sistema digestivo absorvendo as toxinas em excesso, melhora a microbiota no trato gastrointestinal e a digestibilidade de nutrientes. No entanto, seu efeito para animais está diretamente associado ao peso molecular que possui e a dosagem que é utilizada (KAMAL et al., 2023). Sua característica mais promissora na dieta de bovinos está associada ao seu efeito sobre a modulação ruminal devido sua propriedade antimicrobiana, acreditando-se que esteja associado à alteração da permeabilidade da membrana das bactérias com extravasamento do líquido intracelular, resultando na morte das bactérias (SILVA et al., 2024).

Seankamsorn et al. (2019) avaliaram a inclusão da combinação da quitosana e glicerina bruta *in vitro* com rações totalmente misturadas (TMR) sobre os aspectos da fermentação ruminal. Observou-se que houve aumento na concentração de propionato ruminal e redução do metano em 54% sem a ocorrência de prejuízos na cinética dos gases ou na digestibilidade dos nutrientes. Enquanto Jiménez-Ocampo et al. (2021) realizaram estudos *in vivo* com novilhas alimentadas à base de capim e TMR avaliando os efeitos do uso da quitosana e a naringina, constatando-se efeitos positivos sobre a fermentação ruminal com aumento das proporções de ácido propiônico e diminuição das concentrações de acetato e metano produzidos.

24. LÍQUIDO DE CASTANHA DE CAJU COMO ADITIVO PARA BOVINOS

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma planta originária do Nordeste brasileiro e distribuída amplamente em todo território nacional. A castanha é considerada o verdadeiro fruto do caju e em seu interior está o mesocarpo que contém um líquido de coloração marrom, viscoso e considerado uma fonte natural de lipídeos fenólicos, chamado de líquido de castanha de caju (LCC). Para extração do LCC, pode-se utilizar o método de extração à frio com uso de prensas e os métodos mais utilizados pela indústria que envolvem a utilização de solventes e processamento térmico-mecânico (DIAZ et al., 2015).

O líquido de castanha de caju possui em sua composição o ácido anarcádico,

cardanol e cardol. O ácido anarcádico está presente em torno de 90% do LCC extraído e apresenta como propriedades irritantes e causticas. Já os cardóis podem estar presentes em aproximadamente 10% do LCC e apresenta as mesmas propriedades irritantes que os ácidos anacárdicos. Quando o líquido de castanha de caju é extraído e submetido ao aquecimento, ocorre a descarboxilação do ácido anacárdico com formação do cardanol, obtendo-se o LCC técnico, que tem como principal característica ser atóxico e ação adicional antioxidante (OSMARI et al., 2015)

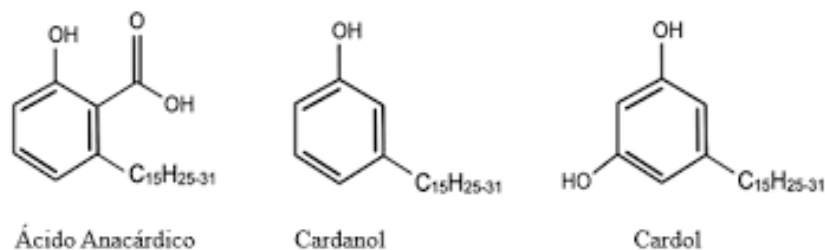


FIGURA 2. Estrutura química dos principais componentes do LCC (FONTE: CARNEIRO et al., 2021)

Para a alimentação animal, o líquido de castanha de caju está sendo avaliado como uma alternativa para substituição dos ionóforos como aditivos. Em dietas, o LCCt atua sobre a fermentação ruminal agindo principalmente sobre as bactérias gram positivas, podem aumentar a produção de propionato e reduzir a emissão de metano (OSMARI et al., 2017). Osmari et al (2019) avaliaram a utilização do líquido de castanha de caju técnico (LCCt) associado a fontes de nitrogênio não proteico (NNP) em dietas de alto grão sobre a digestibilidade dos nutrientes e a fermentação animal, não observando alterações sobre a síntese de proteína microbiana ou os compostos nitrogenados plasmáticos, sem influências sobre a fermentação ruminal ou digestibilidade de nutrientes. Para Branco et al. (2015) avaliando o LCC na emissão de gás metano e desempenho animal, observaram que houve tendência na redução da emissão de metano (kg/MS), aumentou a digestibilidade do FDN e não afetou a excreção de nitrogênio na urina e fezes.

3. HIPÓTESES

- Encontrar a dose exata para a associação entre a quitosana e o LCCt que possa contribuir positivamente para a modulação da fermentação ruminal;
- A inclusão de quitosana e LCCt aumenta a eficiência da fermentação ruminal,

com maior produção de AGCC e maior proporção de proprionato em dietas de alto grão;

- A combinação de quitosana e LCCT preserva o pH ruminal em níveis adequados, o que reduz os riscos de acidose subaguda em bovinos que são alimentados com dietas de alto grão;

- A quitosana e o LCCT quando associadas em doses precisas melhoram a eficiência da síntese microbiana sem impactos negativos sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes em dietas de alto grão.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da combinação de quitosana e líquido da casca da castanha de caju sobre os parâmetros da fermentação ruminal e emissão de gases, metabolômica, digestibilidade e parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com dietas à base de grãos inteiros.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros da fermentação ruminal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), N-amoniaco (N-NH_3) e pH in vivo;
- Avaliar o consumo e digestibilidade de bovinos, recebendo a combinação quitosana - líquido da casca da castanha de caju em dietas de grão inteiro;
- Avaliar se a combinação entre quitosana e líquido da castanha de caju reduz a emissão de gases efeito estufa em bovinos de corte alimentados com dietas de grão inteiro.
- Avaliar a metabolômica de bovinos confinados com dietas de grão inteiro, através de coletas de líquido ruminal e plasma sanguíneo.
- Determinar a melhor combinação entre quitosana e líquido da casca da castanha de caju para bovinos de corte alimentados com dietas de grãos inteiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, F. O. et al. Caracterização físico-química e microbiológica e população de fungos no conteúdo ruminal de novilhos de corte hípidos ou com acidose ruminal. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 37(1):7-14, jan/mar 2015

ASSIS, O. B. G.; SILVA, V. L. Caracterização Estrutural e da Capacidade de Absorção de Água em Filmes Finos de Quitosana Processados em Diversas Concentrações. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 13, nº 4, p. 223-228, 2003.

BARDUCCI, R.S. et al. Aditivos alimentares na dieta de bovinos confinados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.6, p.1593-1602, 2013

BRANCO, A. F. et al. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. *Journal of dairy science*, v. 98, n. 6, p. 4030-4040, 2015.

CARNEIRO et al. Avaliação do potencial de biomodificação dentinária do líquido da casca da castanha de caju. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v.4, n.1, p 1718-1735 jan./feb. 2021.

CATTELAM, J. et al. Characteristics of the carcass and quality of meat of male and female calves with different high-grain diets in confinement. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 39, n. 2, p. 667-681, 2018.

CAVALCANTI, C. F. et al. Produção de quitosana a partir da fermentação de casca de camarão. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.18, n. Especial, p. 503-515, 2016.

DIAS, A. M. et al. Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta alto grão. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 17, p. 45-54, 2016.

DÍAZ, T. G. et al. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. *Revista Campo Digital*, v. 10, n. 1, 2015.

FERRACINI, J. G. Bem-estar de bovinos terminados em confinamento: O que deve ser considerado. *PUBVET*, v. 16, n. Supl 1, p. a1306, 2022.

HONAN, M. et al. Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: modes of action, effectiveness and safety. *Animal Production Science*, 62, 1303–1317 2021.

IBGE. Rebanho de bovinos (bois e vacas). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br> . Acesso <07/03/2025, às 21:02>.

JIMÉNEZ-OCAMPO, R. et al. Efeito da quitosana e da naringina nas emissões entéricas de metano em novilhas mestiças alimentadas com capim tropical. *Animals*, v. 11, n. 6, p. 1599, 2021

KAMAL, M. et al. Multifunctional role of chitosan in farm animals: a comprehensive review. *Annals of Animal Science*, v. 23, n. 1, p. 69-86, 2023.

LIU, J. et al. Effects of corn acid-base treatment on ruminal fermentation and microbiota, inflammatory response and growth performance in beef cattle fed a high-concentrate diet. *Animal*, v. 14, n. 9, p. 1876-1884, 2020.

LOPES, L. S. et al. Replacing monensin and virginiamycin with essential oils and short-chain fatty acids in feedlot beef cattle fed a whole shelled corn-based diet: performance, dry matter intake, and ruminal fermentation. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 10, p. e125121043502-e125121043502, 2023

MACHADO, T. S. et al. Avaliação de processo alcalino para obtenção de quitosana fúngica. *Acta Brasiliensis*. 4(3): 168-172, 2020.

MENDES, D. F. D. J. et al. Sistemas de confinamento de bovinos de corte sob a dieta de alto grão: um estudo de caso em uma fazenda do município de João Pinheiro/MG no ano de 2023. *Scientia Generalis*, v. 4, n. 2, p. 407-418, 2023.

MINAMI, N. S. et al. Subacute ruminal acidosis in zebu cattle: clinical and behavioral aspects. *Animals*, v. 11, n. 1, p. 21, 2020.

OH, S. et al. Potency of cashew nut shell liquid in rumen modulation under different feeding conditions and indication of its surfactant action against rumen bacteria. *Journal of Animal Science and Technology*, v. 59, p. 1-7, 2017.

OSMARI, M. P. et al. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. *Archivos de Zootecnia*, v. 66, n. 255, p. 373-379, 2017.

OSMARI, M. P. et al. Technical cashew nut shell liquid associated with non-protein nitrogen sources in high-grain diets for ruminants: intake and digestibility of nutrients, ruminal fermentation, and microbial protein synthesis. *emina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 40, n. 1, p. 259-270, jan./fev. 2019.

OSMARI, M. P. et al. Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. *PubVet. Maringá*, v. 9, n. 3, p. 143- 149, Mar., 2015

PAULINO, P. V. R. et al. Dietas sem forragem para terminação de animais ruminantes. *Revista Científica de Produção Animal*, v. 15, n. 2, p. 161-172, 2013.

PAZ, L. R; SANTOS, L. A. L. D. Quitina e quitosana: uma revisão sobre os processos

de obtenção e aplicações. *Revistas FT Engenharias*. Volume 28 – Edição 130/JAN 2024. Disponível em: <https://revistaft.com.br/quitina-e-quitosana-uma-revisao-sobre-os-processos-de-obtencao-e-aplicacoes/> <acesso em 04/03/2025>.

REINHARDT, C.D.; HUBBERT, M.E. Control of liver abscesses in feedlot cattle: a review. *The Professional Animal Scientist*, v. 31, n. 2, p. 101-108, 2015.

RIGOBELLO, E. C. et al. Efeito da utilização de próbióticos em dietas para bovinos nelore terminados em confinamento. *Ars Veterinaria*, v. 30, n. 1, p. 57-62, 2014.

RODRIGUES, B. S. et al. Confinamento de bovinos na dieta puro grão. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v. 7, n. 3, p. e73260-e73260, 2024.

SANTOS, F. A. P.; MOSCARDINI, M. C. Substituição de fontes de amido por subprodutos ricos em pectina ou fibra de alta digestibilidade na ração de bovinos confinados. In: *Anais do 3º Simposio de Nutrição de Ruminantes*. 2007. p. 35-52.

SANTOS, G. C. D. L. et al. Uma revisão de quitosana: polímero que melhora a eficiência do rebanho e a sustentabilidade do sistema de produção. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v. 3, n. 1, p. 73-88, 2020.

SEANKAMSORN, A. et al. The combination of crude glycerin with chitosan can manipulate ruminal efficiency in vitro and inhibit methane synthesis. *Animals*, v. 10, n. 1, p. 37, 2019.

SILVA, T. I. S. et al. Effects of Replacing Dietary Antibiotic Supplementation with Chitosan Levels on Rumen Metabolism and Nitrogen Use in Finishing Steers Fed Forage-Free Diets. *Tropical Animal Science Journal*, v. 47, n. 2, p. 225-234, 2024.

SILVESTRE, A. M. et al. Adoption of adaptation protocols and feed additives to improve performance of feedlot cattle. *Journal of Applied Animal Research*, v. 51, n. 1, p. 282-299, 2023.

TAVARES, N. C. et al. Impact of high-energy diets on the rumen environment and digital cushion in confined cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 12, pág. 970-977, 2019.

VIANA, C. H. R. et al. Utilização de Aditivos para Bovinos de Corte em Confinamento. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 5-esp., p. 536-543, 2020.

CAPÍTULO II

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro de 2025. 78p. **Quitosana e Líquido de castanha de caju como aditivos para bovinos**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da combinação de quitosana e líquido da casca da castanha de caju sobre os parâmetros da fermentação ruminal e emissão de gases, metabolômica, digestibilidade e parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com dietas à base de grãos inteiros. Foram realizados dois experimentos simultâneos: 1: dose fixa de quitosana com doses crescentes de líquido de castanha de caju técnico (LCCt); 2: dose fixa de LCCt e doses crescentes quitosana. Cada ensaio contou com 4 animais, distribuídos aleatoriamente em delineamento quadrado latino (4 x 4). As dietas ofertadas basearam-se em 85% de grão de milho inteiro e 15% de péllet proteico-mineral- vitamínico. Os tratamentos do experimento da dose fixa de quitosana com doses crescentes de LCCt basearam-se em: controle com monensina (MON) (25mg/kg/MS); Q+LCCt1: 375mg/kg/MS de quitosana + 300mg/kg/MS de LCCt; Q+LCCt2: 375mg/kg/MS de quitosana + 600mg/kg/MS de LCCt; Q+LCC3: 375mg/kg/MS + 900mg/kg/MS. Para o experimento com a dose fixa de LCC e as doses crescentes de quitosana, utilizou-se: controle (CON) com monensina (25mg/kg/MS); LCCt+Q1: 600mg/kg/MS de LCCt + 375mg/kg/MS de quitosana; LCCt+Q2: 600mg/kg/MS de LCCt + 750mg/kg/MS de Quitosana; LCCt+Q3: 600mg/kg/MS de LCCt e 1125mg/kg/MS. No experimento 1 não houve efeito ($P>0,05$) sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, pH, derivados de purinas, AGCC e nitrogênio amoniacal. Para o experimento 2 houve efeito ($P<0,05$) para teores de alantoína, derivados de purina, proteínas absorvidas, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e eficiência microbiana. A dose 600mg/kg/MS + 375mg/kg/MS (tratamentos Q+LCCt2 e LCCt+Q1) mostrou-se como o tratamento potencial substituto à monensina em dietas de bovinos de corte alimentados com altas proporções de grãos.

Palavras-chave: Metano, aditivos alternativos, óleos funcionais, biopolímero, ruminantes.

CAPÍTULO II

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro de 2025. 78p. **Chitosan and cashew nut shell liquid as additives for cattle**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of combining chitosan and cashew nut shell liquid on ruminal fermentation parameters and greenhouse gas emissions, metabolomics, and digestibility in cattle fed whole grain-based diets. Two simultaneous experiments were conducted: 1: fixed dose of chitosan with increasing doses of technical cashew nut shell liquid (CNSL); 2: fixed dose of CNSL and increasing doses of chitosan. Each trial included 4 animals, randomly distributed in a Latin square design (4 x 4). The diets offered were based on 85% whole corn grain and 15% protein-mineral-vitamin pellets. The treatments in the fixed dose chitosan experiment with increasing doses of CNSL were based on: control with monensin (MON) (25 mg/kg DM); Q+CNSL1: 375 mg/kg DM of chitosan + 300 mg/kg DM of CNSL; Q+LCCt2: 375 mg/kg DM chitosan + 600 mg/kg DM LCCt; Q+LCC3: 375 mg/kg DM + 900 mg/kg DM. For the experiment with the fixed dose of LCCt and increasing doses of LCCt, the following were used: control (CON) with monensin (25 mg/kg DM); LCCt+Q1: 600 mg/kg DM LCCt + 375 mg/kg DM chitosan; LCCt+Q2: 600 mg/kg DM LCCt + 750 mg/kg DM chitosan; LCCt+Q3: 600 mg/kg DM LCCt and 1125 mg/kg DM. In experiment 1, there was no effect ($P>0.05$) on intake, nutrient digestibility, pH, purine derivatives, SCFA, and ammonia nitrogen. For experiment 2, there was an effect ($P<0.05$) for allantoin content, purine derivatives, absorbed proteins, microbial nitrogen, microbial protein, and microbial efficiency. The dose of 600 mg/kg DM + 375 mg/kg DM (treatments Q+LCCt2 and LCCt+Q1) proved to be a potential substitute treatment for monensin in diets of feedlot cattle fed with high grain proportions.

Keywords: Methane, alternative additives, functional oils, biopolymer, ruminants

1. INTRODUÇÃO

A terminação de bovinos de corte em confinamentos visa reduzir a idade ao abate e manter a produção de carne em níveis constantes. Para que estes objetivos sejam atingidos, é crescente a utilização de dietas de alto grão, com uso de maior proporção de concentrados. O emprego dessa estratégia é associada à sazonalidade das forrageiras e o baixo custo de grande parte dos grãos utilizados, redução da mão de obra e os custos com a produção de forrageiras (ARGENTA et al, 2019).

Para que os animais atinjam desempenho satisfatório no confinamento, a demanda energética precisa ser atendida através da alta produção e absorção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Mas a ingestão de dietas ricas em carboidratos altamente fermentáveis pode levar ao acúmulo de AGCC no rumen e a falhas no processo de absorção, desenvolvendo-se por consequência, quadros de acidose. Com o uso desse tipo de dieta nos confinamentos, o uso de aditivos alimentares nas dietas torna-se uma ferramenta benéfica na prevenção de distúrbios digestivos, promovendo modificações no epitélio ruminal que favoreçam a remoção dos AGCC e com elevada absorção energética (BARDUCCI et al., 2015).

Os ionóforos são a classe de aditivos mais utilizados na bovinocultura, mas desde 2006 países da União Europeia proibiram seu uso devido a possibilidade de resistência antimicrobiana que pode ser transferida dos produtos de origem animal para seres humanos, configurando-se como um problema de saúde pública. Por essa razão, novos compostos estão sendo estudados como potenciais substitutos dessa classe na modulação da fermentação ruminal (CARVALHO et al., 2021).

Os aditivos mais utilizados para dietas de ruminantes são os probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e extrato de ervas. A quitosana é obtida através da desacetilação da quitina e possui propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, imunoestimulatórias, antitumorais e hipocolesterolêmicas. Para bovinos, a quitosana é usada nas dietas auxiliando na melhora da fermentação ruminal e a digestibilidade ruminal (SHAH et al, 2022). O líquido de castanha de caju é um óleo funcional que tem como compostos bioativos o ácido anacárdico, cardanol e cardol, que atuam na diminuição da produção do metano ruminal e aumenta a proporção de propionato para bovinos (GRIGOLETTO et al, 2021).

Apesar das recentes pesquisas em busca de aditivos naturais, a maioria dos estudos envolve ensaios *in vitro* e volta-se para encontrar doses para que possam ser

utilizados como aditivos em maior escala para ruminantes. Outro importante aspecto é a ausência de estudos com a combinação de líquido de castanha de caju técnico com quitosana na dieta de bovinos e estudos *in vivo* permitem avaliar com maior precisão os efeitos no metabolismo dos ruminantes.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar os efeitos da combinação de quitosana e líquido da casca da castanha de caju sobre os parâmetros da fermentação ruminal e emissão de gases, metabolômica, digestibilidade e parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com dietas à base de grãos inteiros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. LOCAL, ANIMAIS E TRATAMENTOS

O ensaio foi conduzido conforme os princípios estabelecidos pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados sob o protocolo de aprovação: 023/2015-3. A etapa de campo foi realizada no setor de nutrição de ruminantes e as análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios de nutrição animal (LANA) e laboratório de co-produtos e oleaginosas (LACO- LAPAC/FINEP) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul.

Foram realizados dois experimentos simultâneos: o primeiro avaliando-se a dose fixa de quitosana com doses crescentes de líquido de castanha de caju técnico (LCCt) e o segundo com a dose fixa de LCCt e doses crescentes quitosana. A escolha das doses fixas para os aditivos, baseou-se em trabalhos anteriormente realizados pelo Grupo de Estudos em Nutrição e Produção de Ruminantes (NERU-UFGD), em que a dose fixa de quitosana (375mg/kg/MS) seguiu as recomendações de SILVA (2019); Já a dose fixa de LCCt (600mg/kg/MS) baseou-se nos achados de ANSCHAU (2020). Os tratamentos experimentais consistiram na seguinte divisão: Experimento 1 (quitosana fixa+ doses crescentes de LCCt): controle com monensina (MON) (25mg/kg/MS); Q+LCCt1: 375mg/kg/MS de quitosana + 300mg/kg/MS de LCCt; Q+LCCt2: 375mg/kg/MS de quitosana + 600mg/kg/MS de LCCt; Q+LCC3: 375mg/kg/MS + 900mg/kg/MS. O experimento 2 (dose fixa de LCCt+ doses crescentes de quitosana): controle (CON) com monensina (25mg/kg/MS); LCCt+Q1: 600mg/kg/MS de LCCt + 375mg/kg/MS de quitosana; LCCt+Q2: 600mg/kg/MS de LCCt + 750mg/kg/MS de Quitosana; LCCt+Q3: 600mg/kg/MS de LCCt e 1125mg/kg/MS de quitosana. Cada

ensaio contou com 4 animais, mestiços (Holadês x Zebu, providos de cânula ruminal permanente, com idade aproximada de 18 meses, castrados e com peso corporal de 400kg (± 150 kg) , mantidos em baias individuais cobertas de 8m² (2 x 4m) com piso de concreto, providas de comedouro e bebedouro individuais e , distribuidos aleatoriamente em delineamento quadrado latino (4 x 4).

Os animais foram previamente adaptados à dieta durante 14 dias. A alimentação neste período baseou-se em silagem de milho, milho grão inteiro e o pélet-proteico-vitamínico-mineral. A cada 3 dias a proporção dos alimentos era aumentada na relação volumoso: concentrado de 75:25, 50:50, 25:75 e 15:85. No processo de adaptação, o *péllet* passou a integrar a dieta a partir da proporção 50:50, sendo contabilizado como componente de fibra fisicamente efetiva. Os experimentos foram divididos em 4 períodos, de 11 dias cada, divididos em 5 dias de adaptação à suplementação e 6 dias para as coletas de adados, totalizando 44 dias totais de avaliações. As dietas ofertadas basearam-se em 85% de grão de milho inteiro e 15% de *péllet* proteico- mineral- vitamínico. A composição químico-bromatológica dos ingredientes está na tabela 1.

Tabela 1. Proporção e comoposição químico-bromatológica dos componentes da dieta dos novilhos alimentados com alto grão e com LCCt e quitosana como aditivos.

<i>Proporção dos ingredientes na dieta (g/kg de MS)</i>		
Milho grão (inteiro)		850
<i>Pellet</i>		150
<i>Composição químico-bromatológica da dieta (g/kg)</i>		
	Milho grão (inteiro)	<i>Péllet</i>
MS	871,4	875,2
MO	989,4	825,4
PB	77,6	415,1
FDN	435,7	378,1
FDA	42,5	675,3
Amido	750	38.9

MS= Matéria seca; MO= Matéria orgânica; PB= Proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido

O *péllet* proteico vitamínico mineral foi adquirido comercialmente da empresa Primato® (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil), com os níveis de garantia descritos na tabela 2.

Tabela 2. Ingredientes e níveis de garantia do *péllet* proteico vitamínico-mineral

Ingrediente	Níveis de garantia (a cada 100g/kg)
Ca	165,00 g/kg
N	100,00 g/kg
Ma	40,00 g/kg
S	50,00 g/kg
Tamponante	100,00 g/kg
Co	90,00 mg/kg
Cu	700,00 mg/kg
I	90,00 g/kg
Mn	1800,00 mg/kg
Zn	3000,00 mg/kg
I	15,00 mg/kg
F	350mg/kg

A aquisição da quitosana deu-se através da empresa Polymar® (Fortaleza, Ceará, Brasil) e tinha como características: $\geq 850\text{g/kg}$ de grau de desacetilação, $0,32\text{g/mL}$ de densidade, pH 7,90, viscosidade $<200\text{cPs}$, teor total de cinzas $1,35\text{g}/100\text{g}$ e $9,3\text{g}/100\text{g}$ de perdas na secagem.

O LCCt *Usibras Company* (Aquiraz, CE, Brazil), foi analisado por meio de cromatógrafo líquido de alto desempenho (modelo Varrian 210), detector de arranjo de diodo (DAD) e software Star WS (estação de trabalho 2.0). Utilizou-se a coluna de fase reversa C18 (25cm x 4,6mm x 5 μm) (Phenomenex). Para a eluição, fez-se uso do sistema de gradiente de acetonitrila/ água/ ácido acético (66/33/2 v:v:v) (A) e tetrahidrofurano (B) com eluição inicial de 10%, atingindo 100% após 40 minutos. A bomba possuía vazão de $1\text{mL}/\text{min}$ e o volume injetado correspondeu a $20\mu\text{L}$. A curva analítica e os procedimentos analíticos do produto foram realizados a uma temperatura de 22°C , com injeções em triplicata. Para a solubilização do produto fez-se uso de acetronila/ água (66/35v:v), chegando a uma concentração final de $1000\mu\text{g/mL}$. A quantificação do ácido anacárdico, cardanol, 2-metilcardol e cardol presentes no LCCt

deu-se por meio de curvas padrão externas preparadas a partir do uso de compostos de pureza de 97% nas concentrações de 10-100µg/mL. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra obtida a partir de uma curva de padronização externa, com coeficiente de correlação 0,9992 para todos os compostos analisados. Ao final, o LCCt analisado teve a composição: 10.03mg/g ácido anacárdico, 540.77mg/g de cardanol, 102,34mg/g de cardol e 19.17mg/g de 2-methylcardol.

Os animais foram arraçoados duas vezes ao dia: às 07:30 e às 14h, com o consumo diário sendo ajustado a partir do consumo de matéria seca (CMS) do dia anterior, com mistura homogênea dos ingredientes (milho e *péllet*) sob forma de dieta completa. O ajuste do CMS foi realizado diariamente a partir das sobras e obedecendo o excedente entre 5-10% para que o consumo não sofresse limitações.

A administração dos aditivos foi realizada às 7h da manhã, antes do recebimento da dieta, através da cânula ruminal. O material era pesado de acordo o consumo de matéria seca e de acordo a suas características físicas, acondicionado individualmente. A quitosana por se tratar de um material seco, foi pesada e envolvida em papel de celulose de rápida degradação; já o líquido de castanha de caju necessitava de um veículo para adquirir consistência firme e era misturado à pequenas quantidades de fubá de milho para posteriormente ser armazenado em papel do mesmo material que a quitosana.

2.2. DEGRADABILIDADE RUMINAL

Para a avaliação da degradabilidade *in situ* do *péllet* proteico-vitamínico-mineral utilizou-se três bovinos machos castrados, com peso ± 350 kg, providos de cânula ruminal permanente. As amostras foram preparadas de acordo as recomendações de NOCEK (1988), pesando-se 0,5g da amostra e condicionadas em saquinhos de TNT (5x5cm; 100g/m²) e introduzidos diretamente no rumen, em intervalos e ordens decrescentes de tempo: 48, 24, 18, 6, 3 e 0 horas (NRC, 2001) em triplicata por tempo de incubação.

A estimativa dos parâmetros de degradação seguiu o modelo assintótico de primeira ordem proposto por ORSKOV e McDONALD (1979): $DP = a + b(1 - e^{-ct})$, onde DP=degradabilidade potencial; a= fração solúvel; b=fração potencialmente degradável da fração insolúvel; c= tempo de incubação em horas. A degradabilidade efetiva foi determinada a uma taxa de passagem de 2, 5 e 8% h⁻¹. A fração indegradável

determinada apartir de $I=100 - (a+b)$.

2.3. FERMENTAÇÃO RUMINAL

No 11º dia de cada período experimental, coletou-se amostras de líquido ruminal manualmente para a determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal (NAR) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). O material foi coletado em diferentes horários: anteriormente ao arraçoamento e em seguida após 2h, 4h, 6h e 8h após a oferta da dieta. No ambiente ruminal, o material foi retirado da interface líquido/sólido e filtradas com gaze tripla. A avaliação do pH foi através de um pHmetro digital portátil (Meta química, Meta 210P) logo após a coleta. Aliquotas de aproximadamente 20mL do material filtrado foram centrifugadas a 3500rpm/5 minutos, retirando-se do seu sobrenadante 1800µL para serem misturadas à 100µL de solução de ácido ortofosfórico (20%), sendo posteriormente congeladas para as análises de AGCC. Para determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃), separou-se uma amostra de 40mL fixada a 1mL de HCl (1:1) e em seguida congelada a -18°C.

Os teores de N-NH₃ foram obtidos conforme o método INCT-CA N-007/2 descrito por DETMANN et al (2021), sem uso de digestão ácida e utilizando-se como base para a destilação o hidróxido de potássio (2N), com centrifugação prévia da amostra por 1000x 15 min, para separação dos fragmentos sólidos remanescentes e a fração líquida.

As amostras para avaliação dos AGCC foram preparadas com a retirada de alíquotas de 1600µL e posteriormente misturadas a 400µL de ácido metanóico (98-100% H₂CO₂), submetidas à centrifugação a 7000x g/15min at 4°C, onde o sobrenadante de cada amostra foi congelado para ser encaminhado para o laboratório em São Carlos/SP. A determinação dos AGCC presentes no líquido ruminal deu-se por meio de cromatografia gasosa utilizando-se o cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 Plus equipado com com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DA™ (30m, 0,25mm ID, 0,25µm df, Restek©) e detector de ionização em chama (FID) após a acidificação de cada amostra com 1M de ácido ortofosfórico P.A. (Ref. 46975, Supelco©). Em sequência, uma alíquota de 1µL de cada amostra foi injetada à uma taxa de split de 40:1, utilizando-se gás hélio para o arraste à uma velocidade linear de 42cm.s⁻¹, obtendo-se os analitos separados após uma corrida cromatográfica de 11,5 minutos. Para o procedimento, a temperatura do injetor foi de 250°C, do detector de 300°C e a da

coluna de 40°C (inicialmente). A rampa de temperatura da coluna foi iniciada à um gradiente de 40° até 120°C, à taxa de 40°C.min⁻¹, seguindo-se de um gradiente de 120° até 180°C, à uma taxa de 10°C.min⁻¹ e de 180° a 240°C à uma taxa de 120°C.min⁻¹, mantendo-se a temperatura a 240°C por um tempo adicional de 3 minutos antes da finalização. Para a centrifugação dos analitos, a calibração do método deu-se a partir das diluições do padrão WSFA-2 (Ref. 47056, Supelco©) e ácido acético glacial (Ref. 33209, Sigma-Aldrich©). A determinação e integração dos picos foram realizadas utilizando-se o software Gcsolution v. 2.42.00 (Shimadzu ©).

A produção de metano (mM/L) foi obtida a partir da equação= $0.45(C2) - .275(C3) + 0.4(C4)$ (MOSS et al., 2000)..

2.4. CONSUMO DE NUTRIENTES E DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

A determinação do consumo de matéria seca (CMS) foi obtida através da diferença entre a quantidade da dieta ofertada e as sobras obtidas das coletas dos cochos dos animais e a partir da excreção fecal total de MS. A determinação diária da excreção fecal foi realizada por meio da utilização do marcador externo dióxido de titânio (TiO₂) na dose de 5g/dia, acondicionados em cartuchos de papel, fornecido diariamente no rumen às 7h00min, via cânula por 10 dias consecutivos, divididos entre 5 dias para adaptação ao marcador e 5 dias para realização das coletas de fezes. Os aditivos foram fornecidos via cânula ruminal no mesmo momento em que o marcador externo era fornecido.

A partir do 6º dia do período experimental foram coletas aproximadamente 200g de fezes diretamente da ampola retal de cada animal, uma vez ao dia em horários distintos (8h, 10h, 12h, 14h e 16h). Posteriormente, as amostras eram identificadas e congeladas para que no final das coletas fosse retirada uma amostra composta (300g, aproximadamente) de cada animal por período e submetidas à pré-secagem em estufa de 55°C por 72h.

As concentrações de TiO₂ foram analisadas por meio de espectrofotometria UV/Vis, seguindo as recomendações descritas por MYERS et al (2004) e as adaptações do procedimento de COSTA (2018). Para a determinação da produção fecal, utilizou-se a fórmula: $EF=OF/COF$, em que: EF: excreção fecal diária (g/dia); OF: dióxido de titânio fornecido (g/dia); COF: Concentração de dióxido de titânio nas fezes (g/g MS).

A avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente e total de cada

componente seguiu as recomendações específicas da AOAC (1991) para a matéria seca (MS: método 930.15), proteína bruta (PB: Nx6,25; método 984.13) e matéria mineral (MM: método 942.05). Para os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) utilizou-se as recomendações descritas por VAN SOEST et al. (1991). A avaliação do teor de amido baseou-se nas diretrizes descritas por HENDRIX (1993). Ao final, calculou-se a ingestão de cada nutriente e a sua respectiva excreção fecal.

Para a avaliação da excreção fecal do grão de milho, no 10º dia do período experimental, coletou-se amostras das fezes diretamente da ampola retal de cada animal, entre os horários das 9h às 12h. A amostra de aproximadamente 300g foi pesada em balança analítica e posteriormente submetida à lavagem em peneira Granutest (2mm, Tyler 9, ABNT 10) em água corrente. Os grãos de milho foram coletados manualmente, pesados e submetidos à estufa de ventilação forçada (55°C) por 72 horas.

2.5. SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

A coleta de urina foi realizada no 11º dia de cada período experimental na forma de “spot” quatro horas após o fornecimento da dieta por meio da micção espontânea dos animais (CHIZZOTTI et al, 2006). Para a determinação da concentração de ureia, creatinina, alantoína e ácido úrico, separou-se uma alíquota de 10mL da urina diluída em 40mL de ácido sulfúrico (0,036N) para evitar a precipitação do ácido úrico e degradação dos derivados de purina. Uma segunda amostra foi preparada com 40mL de urina adicionando-se 1mL de ácido sulfúrico (36N) e reservada para a determinação da concentração de nitrogênio (N) total urinário.

Para a determinação dos teores de ácido úrico utilizou-se o kit comercial da Labtest®. A determinação da alantoína foi realizada através do método colorimétrico de FUJIHARA et al (1987) descrita por CHEN e GOMES (1992). A soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina (mmol/dia) foram utilizadas para calcular a excreção total de derivados de purina (DP). As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purina na urina (DP, mmol/dia) por meio da equação: $DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PC^{0,75}$, em que: 0,85 refere-se à recuperação das purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 * PC^{0,75}$ correspondendo à contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al. 1990).

A determinação do volume total de urina deu-se através da relação entre concentração de creatinina da urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se 27,36mg/kg PC como valor padrão (RENNÓ et al. 2020). As excreções diárias de N-creatinina e N-ureico foram obtidas através das concentrações de creatinina e ureia pelo volume de urina em um intervalo de 24 horas, sendo multiplicado por 0,466 correspondente ao teor de N na ureia ou utilizando-se o valor de 0,3715, que equivale aos teores de creatinina. A partir da excreção média diária de creatinina (mg/kg PC/dia) e da concentração de creatinina (mg/L) presentes na amostra *spot* de urina estimou-se o volume diário de urina: $VU (l/dia) = (27,36 \times PC) / [creatinina]$, em que: 27,36 refere-se a excreção média diária de creatinina (ppm/PC) em novilhos cruzados e zebuínos; PC refere-se ao peso corporal do animal e [creatinina] trata-se na concentração de creatinina (mg/L) presente nas amostras.

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido e o total excretado na urina e nas fezes. As concentrações de N nas fezes e urina foram determinadas a partir do sistema micro Kjeldahl. O nitrogênio retido (Nret) foi quantificado subtraindo-se do BN o valor estimado da exigência para nitrogênio endógeno basal (NEB), considerando-se o N endógeno tecidual como 0,35 e perdas dérmicas o valor de 0,018.

2.6. METABOLISMO DE UREIA E CREATININA

No 11º dia do período experimental, quatro horas após o fornecimento da dieta, coletou-se sangue através da punção da veia caudal em tubo específico com anticoagulante. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5000rpm x 15 minutos para separação do plasma, em seguida identificadas e armazenadas a -18°C. As concentrações de creatinina e ureia plasmáticas foram determinadas a partir do uso de kits comerciais Gold Analisa®.

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados através do uso do SAS (Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC 2009), onde foi verificado a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo comando PROC UNIVARIATE. Para os efeitos da avaliação da dieta adotou o seguinte modelo: $Y_{ijl} = \mu + A_i + P_j + D_l + e_{ijl}$; onde Y_{ijl} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 4), P_j = efeito do

período ($j = 1$ a 4), Dl = efeito da dieta e $eijl$ = erro experimental.

Os dados de fermentação ruminal foram analisados pelo comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + Ty + Ty(D_k) e_{ijk}$; onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 4), P_j = efeito do período ($j = 1$ a 4), D_k = efeito do tratamento ($k = 1$ to 4), Tk = efeito do tempo ($k = 1$ a 4), $Ty(D_k)$ = interação entre dieta e tempo e e_{ijk} = erro experimental. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED, utilizando o LSMEANS, aplicando-se o teste de média de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1 RESULTADOS EXPERIMENTO 1: QUITOSANA FIXA+ LCCt DOSES VARIADAS

Não houve efeito sobre o consumo de matéria seca, digestibilidade do amido e dos demais nutrientes com o uso da quitosana e as doses variadas de LCCt. Para a recuperação dos grãos de milho nas fezes, observou-se menor média para o tratamento Q+LCCt3 (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de consumo de MS e de amido e digestibilidade de nutrientes de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCCt (experimento 1).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	Q+LCCt1	Q+LCCt2	Q+LCCt3		
<i>Consumo (kg/dia)</i>						
Milho	7,33	9,01	9,07	8,05	0,2332	0,1047
<i>Pellet</i>	1,30	1,54	1,60	1,42	0,0042	0,1677
Mstotal	8,62	10,55	10,68	9,47	0,2760	0,1111
Amido	6,05	7,40	7,49	6,64	0,1919	0,1114
PB	0,96	1,17	1,19	1,06	0,0315	0,1297
<i>Coefficiente de Digestibilidade</i>						
MS	0,42	0,60	0,62	0,52	0,0395	0,3662
PB	0,86	0,92	0,91	0,89	0,0090	0,1561
Amido	0,78	0,89	0,80	0,91	0,0304	0,4343
<i>Excreção grão de milho inteiro (%)</i>						
Recup %	48,68	48,01	50,07	39,61	2,8433	0,6106

Recup = recuperação grãos nas fezes; MS= matéria seca; PB= proteína bruta; Q= quitosana; LCC= líquido de castanha de caju; EPM= erro padrão da média. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

Os derivados de purinas e a eficiência na síntese de proteína microbiana não foram influenciados ($P > 0,05$) com o uso da quitosana e das doses variadas de LCCt. O metabolismo de ureia foi influenciado ($P < 0,05$) com o uso da quitosana e das doses crescentes de LCCt. (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência da síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCC (experimento 1).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	Q+LCCt1	Q+LCCt2	Q+LCCt3		
	<i>mg/dL</i>					
Creatinina	276,75	350,91	240,21	330,50	31,3449	0,3008
Ureia	316,86a	184,64b	261,00a	297,71a	12,3183	0,0001
	<i>mmol/L</i>					
Ác. úrico	0,52	0,35	0,46	0,36	0,0953	0,7663
Alantoina	8,18	10,63	9,20	10,13	0,6203	0,2378
	<i>mmol/dia</i>					
Alantoina	58,14	64,44	78,69	59,14	6,5050	0,5108
Ác. úrico	3,58	3,05	3,84	2,77	0,8664	0,9226
DP	61,73	67,50	78,69	59,14	8,1520	0,5186
PABS	33,66	45,79	54,69	54,06	8,0773	0,3924
	<i>g/dia</i>					
N-Mic	24,47	33,29	39,76	24,76	5,0953	0,3924
PB-Mic	152,96	208,10	248,51	154,77	31,8491	0,3924
Eficiência	32,09	26,69	27,31	21,99	4,2131	0,6989

Q= quitosana; LCCt= líquido de castanha de caju técnico; EPM= erro padrão da média; MON= monensina; N= Nitrogênio; PB= Proteína Bruta; MiC= microbiana; DP= derivados de purinas; PABS= proteínas absorvidas. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

O pH, o nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) e os AGCC não foram afetados ($P > 0,05$) com o uso da quitosana e com as variações das doses de LCCt. Não houve influência nas concentrações de metano ($P > 0,05$) com o uso dos tratamentos (tabela 5).

Tabela 5. Média dos valores de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de quitosana e doses variadas de LCCt (experimento 1).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	Q+LCCt1	Q+LCCt2	Q+LCCt3		
	<i>mg/dL</i>					
pH	7,33	6,01	6,07	6,05	0,1774	0,1047
N-NH ₃	1,30	1,54	1,60	1,42	0,0408	0,1677
	<i>mmol/l</i>					
Acético	103,36	102,50	85,73	92,21	2,8329	0,1901
Propionico	75,90	69,80	60,88	69,35	5,6617	0,8265
Isobutirico	1,76	2,14	1,75	1,02	0,2390	0,4690
Butirico	45,74	50,34	48,44	35,09	3,1948	0,4074
Isovalérico	9,76	10,50	9,96	9,65	0,6526	0,9672
Valérico	6,12	5,04	7,51	3,80	1,0238	0,6416
Hexaenóico	0,37	0,41	0,56	0,59	0,0312	0,9346
Total	243,05	240,76	214,86	212,42	8,1144	0,4425
Metano	43,94	47,07	41,22	36,77	2,6132	0,5863
C2:c3	1,45	1,61	1,99	1,57	0,0983	0,3354

Q= quitosana; LCCt= líquido de castanha de caju técnico ; EPM= erro padrão da média; MON= monensina; Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS). Metano (mM/L)= 0.45(C2) - .275 (C3) + 0.4 (C4)

3.2 RESULTADOS EXPERIMENTO 2: LCCt FIXA+ DOSES DE QUITOSANA VARIADAS

Não houve influência sobre o consumo de matéria seca (MS), digestibilidade do amido e MS com o uso do LCCt fixo e as doses variadas de quitosana (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios de consumo de MS e a digestibilidade do amido e da MS de bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana (Experimento 2).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	LCCt+Q1	LCCt+Q2	LCCt+Q3		
	<i>Consumo (kg/dia)</i>					
Milho	8,27	8,39	8,42	8,43	0,1026	0,9494
Pellet	1,45	1,48	1,49	1,49	0,0189	0,8991
CMS total	9,74	9,88	9,92	9,92	0,1075	0,9371
Amido	6,83	6,98	6,95	6,96	0,0854	0,9347
PB	1,24	1,26	1,28	1,27	0,0158	0,9214

Coefficientes de Digestibilidade

MS	0,64ab	0,67ab	0,72a	0,54b	0,0205	0,0915
PB	0,97	0,98	0,98	0,97	0,0010	
Amido	0,84	0,9	0,9	0,9	0,0279	0,8251

Excreção grão de milho inteiro (%)

Recup %	64,28	49,54	60,74	64,64	6,2696	0,3136
---------	-------	-------	-------	-------	--------	--------

Recup = recuperação grãos nas fezes; MS= matéria seca; PB= proteína bruta; Q= quitosana; LCCT= líquido de castanha de caju técnico; EPM= erro padrão da média. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCT+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCT+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCT+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

Os teores de alantoína, derivados de purina, proteínas absorvidas, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e eficiência microbiana apresentaram efeito ($P < 0,05$) com o uso do LCCT e das doses variadas de quitosana, com resultados mais expressivos no tratamento LCCT+ Q1 (Tabela 7). As concentrações de nitrogênio amoniacal e o pH apresentaram variações nas diferentes horas de avaliação (Figura 3).

Tabela 7. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência da síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCT e doses variadas de quitosana (Experimento 2).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	LCCT+Q1	LCCT+Q2	LCCT+Q3		
	mg/dL					
Creatinina	456,50	850,50	800,50	877,00	80,5628	0,3130
Ureia	143,50	157,45	181,26	162,14	13,9542	0,8160
	mmol/dia					
Ác. Úrico	9,83	8,64	5,55	7,45	0,9126	0,4559
Alantoína	226,65b	318,94a	207,43b	198,23b	10,7313	0,0245
DP	236,48b	327,59a	212,98b	205,68b	10,3002	0,0191
PABS	230,13b	337,32a	202,49b	193,90b	12,1203	0,0192
	g/dia					
N-Mic	167,31b	245,23a	147,21b	140,97b	8,8116	0,0191
PB-Mic	1045,68b	1532,70a	920,08b	881,04b	47,7313	0,0191
Eficiência	201,67ab	240,27a	112,88b	120,77b	14,2507	0,0497

Q= quitosana; LCCT= líquido de castanha de caju técnico; EPM= erro padrão da média; MON= monensina; N= Nitrogênio; PB= Proteína Bruta; MiC= microbiana; DP= derivados de purinas; PABS= proteínas absorvidas. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCT+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCT+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCT+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

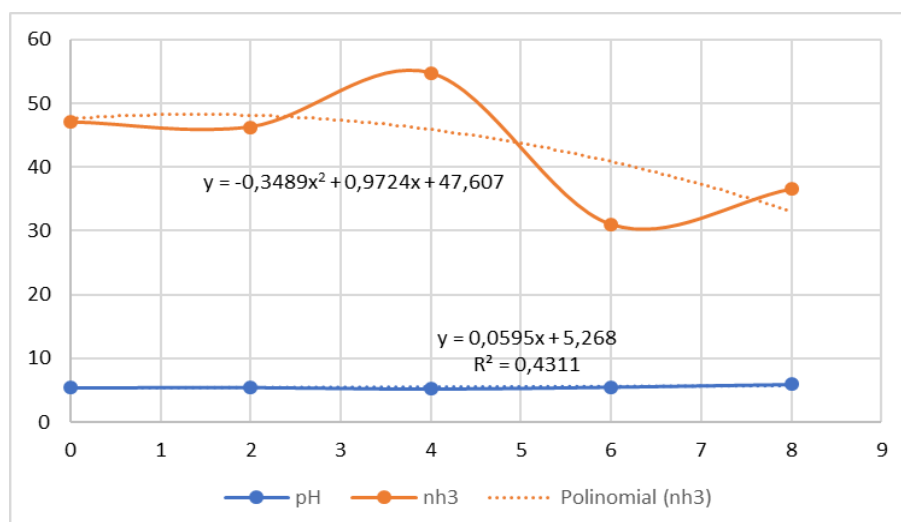


Figura 3. Efeito do tempo sobre o pH e o nitrogênio amoniacal (N-NH₃) de bovinos alimentados com dieta alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana.

O pH, o nitrogênio amoniacal e os AGCC não sofreram influência ($P > 0,05$) com o uso do LCCt e as doses variadas de quitosana. A concentração de metano não foi influenciada ($P > 0,05$) com a utilização dos tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8. Média dos valores de pH, o nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com dose fixa de LCCt e doses variadas de quitosana (Experimento 2).

	Tratamentos				EPM	p- valor
	MON	LCCt+Q1	LCCt+Q2	LCCt+Q3		
	mg/dL					
pH	5,44	5,46	5,5	5,63	0,4947	0,9891
N-NH ₃	45,42	42,83	44,54	39,72	0,5714	0,8780
	mmol/L					
Acético	83,89	86,35	72,71	74,15	3,4346	0,4573
Propionico	83,06	84,47	77,74	59,78	7,3975	0,6438
Isobutirico	1,74	1,46	1,51	2,01	0,1848	0,7185
Butirico	26,62	34,14	21,56	25,74	2,2449	0,3414
Isovalérico	8,68	8,61	7,90	10,59	1,1879	0,8690
Valérico	11,77	8,01	5,45	4,74	2,2215	0,6891
Hexaenóico	0,78	1,42	0,38	0,07	0,4290	0,7239
Total	216,56	224,46	187,28	177,10	13,3596	0,5741
Metano	25,56	29,28	19,97	27,22	2,1720	0,5167
C2:c3	1,16	1,16	1,09	1,42	0,0576	0,3047

Q= quitosana; LCCt= líquido de castanha de caju técnico; EPM= erro padrão da média; MON= monensina; N-NH₃= nitrogênio amoniacal; Metano (mM/L)= $0,45(C2) - 0,275 (C3) + 0,4 (C4)$. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

4. DISCUSSÃO

A associação da quitosana e o LCCT não afetou o consumo de matéria seca e por consequência não houve influência sobre a digestibilidade dos nutrientes no experimento 1 e no experimento 2. O resultado difere-se do encontrado por SILVA et al (2023) que avaliaram a associação de quitosana (900mg/kg/MS) e LCCT (600mg/kg/MS) em pastejo e observaram redução no consumo de MS, mas sem alterações sobre a digestibilidade dos nutrientes. A divergência entre os trabalhos pode ser associada aos diferentes componentes da base da dieta: forragem e grãos inteiros em maiores proporções, que podem influenciar diretamente sobre o consumo. O consumo pode ser regulado por dois fatores: físicos em que a distensão causada pela fibra da forragem que resulta no enchimento ruminal; também pode ser influenciado através da regulação química a partir dos metabólitos produzidos no processo digestivo (WANG, et al. 2024). A dieta com altas proporções de grão de milho inteiro, similares à utilizada no presente estudo, possuem elevada densidade energética e impacta diretamente o consumo. Para CARVALHO et al (2015), a regulação do consumo é apenas para atender o seu requerimento energético, reduzindo a ingestão de alimentos. PEREIRA et al (2019), em um estudo *in vitro* com a associação de quitosana e LCCT identificaram redução na digestibilidade da matéria seca. Em condições onde são avaliadas separadamente, a quitosana (KIRWAN et al. 2021) e o LCCT (OSMARI et al, 2019; COUTINHO et al, 2014) não promoveram alterações sobre o consumo de MS.

A combinação dos aditivos afetou metabolismo de ureia no experimento 1 (Tabela 4) e os teores de proteínas absorvidas e os derivados de purina no experimento 2 (Tabela 7), o que diverge do achado por SILVA et al (2023). Acredita-se que os bovinos de corte tenham eficiência do uso de nitrogênio entre 10-20%, sendo considerada baixa (KIRWAN et al, 2021). A suplementação com a combinação da quitosana e o LCCT pode vir a melhorar o aproveitamento desses nutrientes devido às suas ações sobre as bactérias proteolíticas presentes no rúmen (DIAS et al, 2017; GOETZ et al, 2023) e devido a similaridade que possuem com os mecanismos de ação dos ionóforos (PEREIRA et al, 2019; OSMARI et al, 2017). Os resultados deste estudo podem ser associados à diminuição da proteólise ruminal, que gera o acúmulo de nitrogênio microbiano e amônia, onde a partir da redução da população de bactérias que

sintetizam amônia há uma diminuição da desaminação da proteína no rumen (MARQUES & COOKE, 2021).

As diferentes combinações de doses de LCCT e Quitosana não influenciaram os AGCC. Este resultado está em consonância com os achados por SILVA et al. (2023), mas diverge dos achados por OLIVEIRA et al. (2025) nos AGCC e nas concentrações de metano. A diminuição da concentração de metano pode atribuída ao ácido anacárdico presente no LCCT que atua sobre as bactérias metanogênicas (BRANCO et al, 2015; SAENAB et al, 2017) que são destruídas através do aumento da permeabilidade da sua membrana; ambos aditivos possuem habilidade em modular a fermentação ruminal a ponto de alterar as proporções da produção de AGVs, com incremento na produção de propionato que utilizará os íons H_2 do meio para sua síntese e reduz a disponibilidade do hidrogênio para a formação do metano (HARAHAP et al, 2019 ,JIMÉNEZ-OCAMPO et al, 2019; DIAZ et al, 2015).

A partir dos resultados do experimento 1, os tratamentos Q+LCCT2 e Q+LCCT3 apresentaram valores significativos sobre o metabolismo ureico. Para o experimento 2, a eficiência na síntese microbiana e derivados de purina apresentaram valores significativos apenas para o tratamento LCCT+Q1. Os resultados obtidos estão de acordo com as recomendações nos estudos de ANSCHAU et al. (2025) e SILVA (2019). O incremento no metabolismo proteico pode ser associado a mecanismo de ação dos aditivos que provoca a morte das bactérias, que posteriormente serão utilizadas como fonte de proteína microbiana e absorvidas no intestino delgado.

Estudos prévios (SHAH et al. 2022; OLIVEIRA et al. 2025; JIMENEZ-OCAMPO 2019; KIRWAN et al. 2021) indicam que a ação antimicrobiana da quitosana é ampla. Sua atuação está associada com alterações na superfície das células e interações eletrostáticas na membrana externa, com a substituição de íons Mg^{2+} e Ca^{2+} , que torna a membrana celular instável a ponto de ocasionar o extravasamento de líquidos intracelulares causando a morte dos microrganismos. Nesse contexto, atua significativamente sobre as bactérias gram positivas, pois possuem a membrana externa peptídeoglina mais acessível quando comparadas às bactérias gram negativas. O ácido anacárdico presente em maior proporção no LCCT atua como surfactante natural age sobre as bactérias Gram- positivas, alterando a permeabilidade de sua membrana (ANSCHAU et al. 2025) através da atividade anfipática dos lipídios fenólicos presentes em sua composição (ácido anacárdico, caldol e cardanol), que levam ao aumento da permeabilidade da membrana e fazendo com haja extravasamento de conteúdo

citoplasmático até que haja a lise completa do microrganismo (VIEIRA et al., 2022) .

Além da ação antibacteriana, o LCCT possui ação antiprotozoária (OSMARI et al., 2017) que acontece devido a alteração na permeabilidade de sua membrana, assim como ocorre nas bactérias. A ausência de protozoários impacta o aproveitamento de proteínas no ambiente ruminal, resultando na diminuição da sua degradação (KIRWAN et al., 2021). A quitosana e do LCCT associadas de forma moderada podem apresentar ação sinérgica no ambiente ruminal, com redução de populações de microrganismos que competem entre si no processo fermentativo, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos que sejam mais eficientes no aproveitamento e incorporação do nitrogênio em proteína microbiana.

5. CONCLUSÃO

A associação da quitosana e do LCCT em dietas de alto grão para bovinos mostrou-se efetiva na manutenção do ambiente ruminal, sendo capaz de modular os parâmetros de fermentação, o pH e sem afetar o consumo de matéria seca. O Uso combinado dos dois aditivos apresenta influência mais expressiva sobre o metabolismo proteico. Dessa forma, a dose mais eficiente da associação é a de 600mg/kg/MS + 375mg/kg/MS (tratamentos Q+LCCT2 e LCCT+Q1), com melhores resultados sobre a síntese e eficiência da proteína microbiana, A combinação de doses exatas dos aditivos com seus efeitos positivos sobre o ambiente ruminal, mostrou-se efetiva como potencial substituto à monensina em dietas de bovinos de corte alimentados com altas proporções de grãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSCHAU, D. G. Líquido da casca de castanha de caju em suplemento para bovinos no período seco. 2020. 48p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, 2020.
- ANSCHAU, D. G. et al. Cashew nutshell liquid as an additive on rumen fermentation dynamics and nitrogen utilization in pasture-supplemented steers. *Ciência Animal Brasileira | Brazilian Animal Science*, v.26, 82271E, 2025.
- AOAC, 1990, Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 1990, Association of Official Analytical Chemists
- ARGENTA, F.M. et al. Padrões comportamentais de bovinos confinados com grãos de milho, aveia branca ou arroz com casca. *Cienc. anim. bras.*, Goiânia, v.20, 1-13, e-49508, 2019.
- BARDUCCI, R. S. et al. Incidência de ruminite e abscesso hepático em bovinos jovens confinados alimentados com dietas contendo aditivos alimentares. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, Salvador, v.16, n.1, p.161-169jan./mar., 2015.
- BRANCO, A. F. et al. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. *Journal of dairy science*, v. 98, n. 6, p. 4030-4040, 2015.
- CARVALHO, S. et al. Efeito de dietas de alto grão sobre o comportamento ingestivo de cordeiros em confinamento. *Zootecnia Tropical*, 33 (2): 145-152. 2015
- CARVALHO, R. A. et al. Efeito do Uso de aditivo a Base de Óleos Essenciais no Desempenho de Bovinos Confinados. 23 p. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Cerrados*, 2021.
- CHEN, X.B., GOMES, M.J., 1992. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives – an Overview of the Technical Details. International Feed Research Unit. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK, pp. 22.
- CHIZZOTTI, M.L., et al 2006. Intake, digestibility and urinary excretion of urea and purine derivatives in heifers with different body weights. *R. Bras. Zootec.* 35, 1813–1821.
- COSTA, M.C.M. 2018. Metodologias para estimativas de consumo de forragem em ovinos. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
- COUTINHO, D. A. et al. Dietary nutrient intake and digestibility, milk production and composition in dairy cows fed diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 36, p. 311-316, 2014
- DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos-INCT. 2.ed. Viçosa, MG,

Brazil: Suprema Gráfica, 2021.

DIAS, AOC et al. Increasing chitosan doses in grazing beef steers: nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and nitrogen utilization. *Ciência e Tecnologia da Alimentação Animal*, v. 225, p. 73-80, 2017.

DÍAZ, T. G. et al. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. *Revista Campo Digital*, v. 10, n. 1, 2015.

FUJIIHARA, T, et al. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J. of Agri. Sci.* 109, 7-12

GOETZ, B. M. et al. Effects of cashew nut shell extract supplementation on production, rumen fermentation, metabolism, and inflammatory biomarkers in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 106, n. 12, p. 9843-9854, 2023.

GRIGOLETTO, N. T. S. Efeitos de aditivos alimentares para vacas holandesas sob estresse térmico. *Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal/Organização Gobesso, A. A. D. O. [et al.]. 345 p. : il.. Pirassununga: 5D Editora, 2021.*

HARAHAP, R. P. et al. Enteric methane emissions and rumen fermentation profile preated by dietary chitosan: A meta-analysis of In vitro experiments. *Tropical Animal Science Journal*, September 2020, 43(3):233-239

HENDRIX, DL, 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Science*. v.33, n.6, p.1306-1311.

JIMÉNEZ-OCAMPO, R. et al. The role of chitosan as a possible agent for enteric methane mitigation in ruminants. *Animals*, v. 9, n. 11, p. 942, 2019.

KIRWAN, S. F. et al. Effect of chitosan inclusion and dietary crude protein level on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and N excretion in beef heifers offered a grass silage based diet. *Animals*, v. 11, n. 3, p. 771, 2021.

MARQUES, R. D. S. COOKE, R. F. Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animais*, v. 11, n. 10, pág. 2871, 2021.

MOSS, A, et al. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 49 (3), pp.231-253. [ff10.1051/animres:2000119f](https://doi.org/10.1051/animres:2000119f).

MYERS, W.D. et. al. 2004. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *J. Anim. Sci.* 82, 179-183.

NOCEK, J.E. 1988. In situ and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.2051-2069

NRC, 2001. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7thed. Washington, D.C.: National Academy Press.

OLIVEIRA, R. T. D. et al. Chitosan and cashew nut shell liquid as sustainable additives: improving starch digestibility and reducing methane emissions in grain-rich

diets for feedlot cattle.. Polymers , v. 17, n. 13, p. 1860, 2025.

ORSKOV, ER, MCDONALD, I, 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, v.92, p.499- 508

OSMARI, M. P. et al. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. Archivos de zootecnia, v. 66, n. 255, p. 375-381, 2017.

OSMARI, M. P. et al. Technical cashew nut shell liquid associated with non-protein nitrogen sources in high-grain diets for ruminants: intake and digestibility of nutrients, ruminal fermentation, and microbial protein synthesis. Semina: Ciências Agrárias, v. 40, n. 1, p. 259-270, 2019.

PEREIRA, D. C. et al. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut shell liquid as additives for ruminants. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador, v.20, 01 - 12, e05102019, 2019.

RENNÓ, LN, et al.RS, 2000. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. R. Bras. Zootec. 29, 1235-1243.

SAENAB, A. et al. Anacardic Acid Isolated From Cashew Nut Shell (Anacardium occidentale) Affects Methane and Other Products in the Rumen Fermentation. Media Peternakan, 40(2):94-100. August 2017.

SHAH, A. M. et al. Role of chitin and chitosan in ruminant diets and their impact on digestibility, microbiota and ruminant performance. Fermentação. 8(10):549. 2022.

SILVA, N. G. et al. 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 , p. 1-21, 2023.

SILVA, T. I.S. Quitosana como aditivo em dieta de grão inteiro em bovinos. 2019. 59p. Dissertação (mestrado em Zootecnia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, 2019.

VAN SOEST, P.J. et al. 1991. Methods for dietary fiber, neutraldetergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition, Journal of dairy Science, v.74, p.3583-3597.

VERBIC, J. et al. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. J. Agricultural Sci. 114, 243-248.

VIEIRA, E. R. Q. et al. Chitosan combined with technical cashew nut shell liquid improves in vitro ruminal parameters and gas production kinetics. R. Bras. Zootec., 51:e20200186, 2022

WANG, K. et al. Effects of a high-grain diet on performance, ruminal fermentation, and rumen microbial flora of lactating Holstein cows. Animals **2024**, 14, 2522.

CAPÍTULO III

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro de 2025. 78p. **Quitosana e Líquido de castanha de caju como aditivos para bovinos**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da combinação entre quitosana e líquido da casca da castanha de caju parâmetros da fermentação ruminal e emissão de gases, metabolômica, a digestibilidade e parâmetros sanguíneos de bovinos alimentados com dietas à base de grãos inteiros. Foram realizados dois experimentos simultâneos: 1: dose fixa de quitosana com doses crescentes de líquido de castanha de caju técnico (LCCT); 2: dose fixa de LCCT e doses crescentes quitosana. Cada ensaio contou com 4 animais, distribuídos aleatoriamente em delineamento quadrado latino (4 x 4). As dietas ofertadas basearam-se em 85% de grão de milho inteiro e 15% de péllet proteico-mineral- vitamínico. Os tratamentos do experimento da dose fixa de quitosana com doses crescentes de LCCT basearam-se em: controle com monensina (MON) (25mg/kg/MS); Q+LCCT1: 375mg/kg/MS de quitosana + 300mg/kg/MS de LCCT; Q+LCCT2: 375mg/kg/MS de quitosana + 600mg/kg/MS de LCCT; Q+LCCT3: 375mg/kg/MS + 900mg/kg/MS. Para o experimento com a dose fixa de LCC e as doses crescentes de LCCT, utilizou-se: controle (CON) com monensina (25mg/kg/MS); LCCT+Q1: 600mg/kg/MS de LCCT + 375mg/kg/MS de quitosana; LCCT+Q2: 600mg/kg/MS de LCCT + 750mg/kg/MS de Quitosana; LCCT+Q3: 600mg/kg/MS de LCCT e 1125mg/kg/MS. A análise metabolômica do plasma e do líquido ruminal do experimento 1 mostrou que a monensina e a Q+LCC1 são semelhantes entre si, mas diferem da Q+LCC2 e Q+LCC3. O tratamento Q+LCCT2 apresentou a maior diferença visível na geração de calor e o tratamento Q+ LCCT1 a maior similaridade quando comparado ao tratamento controle (monensina). A análise metabolômica do plasma no experimento 2 mostrou que a monensina, o tratamento LCCT+Q2 e LCCT+Q3 são semelhantes entre si, mas diferem da LCCT+Q1. A análise dos metabólitos do líquido ruminal mostrou que a monensina e o tratamento LCCT+Q1 são semelhantes, mas que ambos diferem dos LCCT+Q2 e LCCT+Q3. Assim, considerando os efeitos similares desejáveis e o perfil metabolômico equivalente, o tratamento que apresentou os

resultados mais similares ao uso da monensina foi o LCCT+Q1.

Palavras-chave: aditivos alternativos, óleos funcionais, biopolímero, ruminantes; perfil metabólico.

CAPÍTULO III

CRUZ, Fernanda Naiara Fogaça da. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. Dezembro de 2025. 78p. **Chitosan and cashew nut shell liquid as additives for cattle**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the combination between chitosan and cashew nut shell liquid (CNSL) on ruminal fermentation parameters, gas emissions, metabolomics, digestibility, and blood parameters of cattle fed whole-grain-based diets. Two simultaneous experiments were conducted: 1: fixed dose of chitosan with increasing doses of technical cashew nut shell liquid (CNSLt); 2: fixed dose of CNSLt with increasing doses of chitosan. Each trial included 4 animals, randomly distributed in a 4×4 Latin square design. The diets consisted of 85% whole corn grain and 15% protein-mineral-vitamin pellet. The treatments for the fixed chitosan dose experiment with increasing CNSLt doses were: monensin control (MON) (25 mg/kg DM); Q+CNSLt1: 375 mg/kg DM chitosan + 300 mg/kg DM CNSLt; Q+CNSLt2: 375 mg/kg DM chitosan + 600 mg/kg DM CNSLt; Q+CNSLt3: 375 mg/kg DM chitosan + 900 mg/kg DM CNSLt. For the fixed CNSLt dose experiment with increasing chitosan doses, the treatments were: control (CON) with monensin (25 mg/kg DM); CNSLt+Q1: 600 mg/kg DM CNSLt + 375 mg/kg DM chitosan; CNSLt+Q2: 600 mg/kg DM CNSLt + 750 mg/kg DM chitosan; CNSLt+Q3: 600 mg/kg DM CNSLt + 1125 mg/kg DM chitosan. Metabolomic analysis of plasma and ruminal fluid from experiment 1 showed that monensin and Q+CNSLt1 are similar to each other, but differ from Q+ CNSLt2 and Q+ CNSLt3. The Q+ CNSLt2 treatment showed the greatest visible difference in heat generation, and the Q+CNSLt1 treatment showed the greatest similarity when compared to the control treatment (monensin). Metabolomic analysis of plasma in experiment 2 showed that monensin, the CNSLt+Q2 and CNSLt+Q3 treatments are similar to each other, but differ from CNSLt+Q1. Analysis of ruminal fluid metabolites showed that monensin and the LCCT+Q1 treatment are similar, but both differ from CNSLt+Q2 and CNSLt+Q3. Thus, considering the desirable similar effects and equivalent metabolomic profile, the treatment that presented the results most similar to the use of monensin was CNSLt+Q1.

Keywords: alternative additives, functional oils, biopolymer, ruminants, Metabolic profile

1. INTRODUÇÃO

O Processo de intensificação da bovinocultura de corte brasileira fez crescer o número de rebanhos confinados. A implantação do sistema permite que os animais sejam arraçoados com alimentos de alta qualidade nutricional mesmo em períodos de seca e reduzindo a sazonalidade de animais disponíveis para o abate. As dietas com alto teor de grãos possibilita o maior ganho de peso, com produção de animais em menor intervalo de tempo e com lotes mais uniformes, refletindo também em menor utilização de mão de obra dentro da propriedade e redução dos custos com a produção do volumoso e seu armazenamento (DIAS, et al., 2016).

O amido oriundo de cereais como o milho é melhor utilizado energeticamente pelos ruminantes quando comparado ao carboidrato das forragens. No entanto, o excesso dos carboidratos de alta fermentação pode provocar acúmulo dos ácidos graxos voláteis, mudança em seu padrão de fermentação, queda no pH ruminal e morte de bactérias ruminais, elevando o risco de ocorrência da acidose ruminal subaguda (SARA) (YANG, et al., 2018-a). As intensas modificações ruminais provocadas pela acidose podem comprometer o aproveitamento eficiente das dietas. Assim, torna-se necessária a utilização de aditivos com mecanismos de ação que modulem a atividade no rúmen e que atenda aos requisitos de segurança alimentar dos países importadores do produto brasileiro. É nesse contexto que o uso de aditivos naturais moduladores da fermentação ruminal como quitosana e o líquido de castanha de caju estão sendo testados (OLIVEIRA, et al., 2025).

As tecnologias ômicas vem ganhando espaço no estudo da fisiologia dos animais ruminantes na tentativa de compreender os efeitos das dietas de alto grão sobre o organismo dos animais (GUO, et al., 2019). Grande parte dos estudos já realizados, estão concentrados na avaliação do líquido ruminal e nas classes principais de seus metabólitos: como os aminoácidos, carboidratos e ácidos graxos voláteis (AGVs). No entanto, os avanços recentes permitem que biofluidos como o plasma sanguíneo seja avaliado, possibilitando o monitoramento do funções orgânicas, da saúde metabólica dos ruminantes, do aproveitamento de nutrientes dietéticos e tornando-se uma alternativa em potencial para estudos em bovinos de corte (YANG, et al., 2018- b).

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. LOCAL, ANIMAIS E TRATAMENTOS

O ensaio foi conduzido conforme os princípios estabelecidos pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados sob o protocolo de aprovação: 023/2015-3. A etapa de campo foi realizada no setor de nutrição de ruminantes e as análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios de nutrição animal (LANA) e laboratório de co-produtos e oleaginosas (LACO- LAPAC/FINEP) da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados, Mato Grosso do Sul.

Foram realizados dois experimentos simultâneos: o primeiro avaliando-se a dose fixa de quitosana com doses crescentes de líquido de castanha de caju técnico (LCCt) e o segundo com a dose fixa de LCCt e doses crescentes quitosana. Os tratamentos experimentais consistiram na seguinte divisão: Experimento 1 (quitosana fixa+ doses crescentes de LCCt): controle com monensina (MON) (25mg/kg/MS); Q+LCCt1: 375mg/kg/MS de quitosana + 300mg/kg/MS de LCCt; Q+LCCt2: 375mg/kg/MS de quitosana + 600mg/kg/MS de LCCt; Q+LCC3: 375mg/kg/MS + 900mg/kg/MS. O experimento 2 (dose fixa de LCCt+ doses crescentes de quitosana): controle (CON) com monensina (25mg/kg/MS); LCCt+Q1: 600mg/kg/MS de LCCt + 375mg/kg/MS de quitosana; LCCt+Q2: 600mg/kg/MS de LCCt + 750mg/kg/MS de Quitosana; LCCt+Q3: 600mg/kg/MS de LCCt e 1125mg/kg/MS de quitosana. Cada ensaio contou com 4 animais, mestiços (Holadês x Zebu, providos de cânula ruminal permanente, com idade aproximada de 18 meses, castrados e com peso corporal de 400kg (± 150 kg) , mantidos em baias individuais cobertas de 8m² (2 x 4m) com piso de concreto, providas de comedouro e bebedouro individuais e), distribuídos aleatoriamente em delineamento quadrado latino (4 x 4)

Os animais foram previamente adaptados à dieta durante 14 dias. A alimentação neste período baseou-se em silagem de milho, milho grão inteiro e o *pélet*-proteico-vitamínico-mineral. A cada 3 dias a proporção dos alimentos era aumentada na relação volumoso:concentrado de 75:25, 50:50, 25:75 e 15:85. No processo de adaptação, o *pélet* passou a integrar a dieta a partir da proporção 50:50, sendo contabilizado como componente de fibra fisicamente efetiva. Os experimentos foram divididos em 4 períodos, de 11 dias cada, divididos em 5 dias de adaptação à suplementação e 6 dias para as coletas de adados, totalizando 44 dias totais de avaliações. As dietas ofertadas basearam-se em 85% de grão de milho inteiro e 15% de

péllet proteico- mineral- vitamínico. A composição químico-bromatológica dos ingredientes está na tabela 1:

Tabela 1. Proporção e composição químico-bromatológica dos componentes da dieta dos novilhos alimentados com alto grão e com LCCt e quitosana como aditivos.

<i>Proporção dos ingredientes na dieta (g/kg de MS)</i>		
Milho grão (inteiro)		850
<i>Pellet</i>		150
<i>Composição químico-bromatológica da dieta (g/kg)</i>		
	Milho grão (inteiro)	<i>péllet</i>
MS	871,4	875,2
MO	989,4	825,4
PB	77,6	415,1
FDN	435,7	378,1
FDA	42,5	675,3
Amido	750	38.9

MS= Materia seca; MO= Materia orgânica; PB= Proteína bruta; FDA= fibra em detergente ácido; FDN= fibra em detergente neutro

O *péllet* proteico vitamínico mineral foi adquirido comercialmente da empresa Primato® (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil), com os níveis de garantia descritos na tabela 2.

Tabela 2. Ingredientes e níveis de garantia do *péllet* proteico vitamínico-mineral

Ingrediente	Níveis de garantia (a cada 100g/kg)
Ca	165,00 g/kg
N	100,00 g/kg
Ma	40,00 g/kg
S	50,00 g/kg
Tamponante	100,00 g/kg
Co	90,00 mg/kg
Cu	700,00 mg/kg
I	90,00 g/kg
Mn	1800,00 mg/kg

Zn	3000,00 mg/kg
I	15,00 mg/kg
F	350mg/kg

A aquisição da quitosana deu-se através da empresa Polymar® (Fortaleza, Ceará, Brasil) e tinha como características: $\geq 850\text{g/kg}$ de grau de desacetilação, $0,32\text{g/mL}$ de densidade, pH 7,90, viscosidade $<200\text{cPs}$, teor total de cinzas $1,35\text{g}/100\text{g}$ e $9,3\text{g}/100\text{g}$ de perdas na secagem.

O LCCt Usibras Company (Aquiraz, CE, Brazil), foi analisado por meio de cromatógrafo líquido de alto desempenho (modelo Varrian 210), detector de arranjo de diodo (DAD) e software Star WS (estação de trabalho 2.0). Utilizou-se a coluna de fase reversa C18 ($25\text{cm} \times 4,6\text{mm} \times 5\mu\text{m}$) (Phenomenex). Para a eluição, fez-se uso do sistema de gradiente de acetonitrila/ água/ ácido acético (66/33/2 v:v:v) (A) e tetrahydrofurano (B) com eluição inicial de 10%, atingindo 100% após 40 minutos. A bomba possuía vazão de $1\text{mL}/\text{min}$ e o volume injetado correspondeu a $20\mu\text{L}$. A curva analítica e os procedimentos analíticos do produto foram realizados a uma temperatura de 22°C , com injeções em triplicata. Para a solubilização do produto fez-se uso de acetronila/ água (66/35v:v), chegando a uma concentração final de $1000\mu\text{g/mL}$. A quantificação do ácido anacárdico, cardanol, 2-metilcardol e cardol presentes no LCCt deu-se por meio de curvas padrão externas preparadas a partir do uso de compostos de pureza de 97% nas concentrações de $10\text{-}100\mu\text{g/mL}$. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra obtida a partir de uma curva de padronização externa, com coeficiente de correlação 0,9992 para todos os compostos analisados. Ao final, o LCCt analisado teve a composição: 10.03mg/g ácido anacárdico, 540.77mg/g de cardanol, $102,34\text{mg/g}$ de cardol e 19.17mg/g de 2-methylcardol.

Os animais foram arraçoados duas vezes ao dia: às 07:30 e às 14h, com o consumo diário sendo ajustado a partir do consumo de matéria seca (CMS) do dia anterior, com mistura homogênea dos ingredientes (milho e *péllet*) sob forma de dieta completa. O ajuste do CMS foi realizado diariamente a partir das sobras e obedecendo o excedente entre 5-10% para que o consumo não sofresse limitações.

A administração dos aditivos foi realizada às 7h da manhã, antes do recebimento da dieta, através da cânula ruminal. O material era pesado de acordo o consumo de matéria seca e de acordo a suas características físicas, acondicionado

individualmente. A quitosana por se tratar de um material seco, foi pesada e envolvida em papel de celulose de rápida degradação; já o líquido de castanha de caju necessitava de um veículo para adquirir consistência firme e era misturado à pequenas quantidades de fubá de milho para posteriormente ser armazenado em papel do mesmo material que a quitosana.

2.2. ANÁLISES METABOLÔMICAS

No 11º dia do período experimental as amostras dos biofluidos para a análise foram coletadas quatro horas após a suplementação. As alíquotas sanguíneas foram coletadas por meio de punção da veia caudal utilizando heparina como anticoagulante. O líquido ruminal foi extraído manualmente na interface líquido-sólido do ambiente ruminal, filtrando-se o material através de gaze tripla, resultando em aproximadamente 5 mL de filtrado. As amostras do sangue foram centrifugadas a 5000 rpm por 15 min, e o sobrenadante de cada material identificado e armazenado a -80°C para análise por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H). Alíquotas de 2 mL do fluido ruminal foram centrifugadas por 60 min a $10000 \times g$ a 4°C para remover partículas finas do alimento e microrganismos que resistiram à filtração em fase. O sobrenadante desse material foi coletado e transferido para um novo tubo, permanecendo armazenado a -80°C até a análise metabólica.

Os biofluidos foram preparados por meio de filtros centrífugos (corte de 3 kDa, Amicon Ultra -0,5, Merck Millipore Ltd., Irlanda) de acordo com MATIAS et al. 2024. Os filtros utilizados foram lavados com 500 μL de água MilliQ por 5 minutos, procedimento repetido cinco vezes. Posteriormente, 500 μL de cada amostra foram adicionados aos filtros e centrifugados a $13.000 \times g$ por 30 minutos a 4°C . As amostras foram centrifugadas a vácuo para remoção do solvente durante a noite (SpeedDry RCV 2-18 CD plus, Christ; Osterode am Harz, Alemanha).

As amostras foram ressuspensas em 500 μL de tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,40; [fosfato monobásico de sódio, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $137,99 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ sintético; fosfato dibásico de sódio, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $268,07 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$]) preparado em D_2O (99,9%; Sigma-Aldrich, San Luis, CA, EUA), contendo 0,5 mM de 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato (DSS) como padrão interno. A mistura foi homogeneizada brevemente em vórtex e centrifugada a $14.000 \times g$ por 5 min. Posteriormente, o sobrenadante foi cuidadosamente transferido para tubos de RMN de 5 mm e inserido no espectrômetro de

RMN para análise.

Os espectros de RMN de ^1H foram registrados usando um espectrômetro de RMN Bruker AVANCE III HD 600 (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Alemanha) operando a 14,1 T, com ^1H observado a 600,13 MHz, equipado com uma sonda de banda larga (BBO) de 5 mm com capacidade de gradiente em z. Todas as medições foram realizadas a 298,15 K, de acordo o protocolo de DA COSTA et al. 2019. Para suprimir o sinal residual da água, empregou-se a sequência de pulsos noesygppr1d, com supressão do sinal da água por irradiação a 2824,5 Hz (O1). Cada espectro de RMN de ^1H consistiu em 128 varreduras, com os seguintes parâmetros de aquisição: largura espectral (sw) de 12019 Hz (20,0276 ppm), pulso de 90° (P1) de 13,1 μs , tempo de aquisição (aq) de 4,50 s, atraso de relaxamento (d1) de 25 s, pontos de dados (TD) de 108170 (106 K), tempo de mistura (d8) de 5 ms e varreduras de descarte (ds) de 4.

Os dados obtidos foram processados utilizando o software TopSpin 3.7.6. Todos os espectros foram processados com alargamento de linha de 0,3 Hz (lb) para atenuar o ruído nos sinais espectrais. Após a aquisição do espectro, correções de fase e de linha de base foram aplicadas para garantir a qualidade espectral ideal, utilizando o software Processor Chenomx NMR Suite Professional v10 (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canadá).

Os metabólitos nos espectros de RMN de ^1H unidimensionais foram identificados através do software Chenomx NMR Suite Professional v10 (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canadá). Correções de fase e de linha de base foram aplicadas para garantir a qualidade espectral ideal. Todos os espectros foram referenciados aos picos de metila do DSS em 0,00 ppm, que também atuou como padrão interno para quantificação.

Um total de 45 metabólitos foram identificados e quantificados a partir dos espectros de RMN de ^1H unidimensionais de extratos séricos utilizando o módulo Profiler do software Chenomx NMR Suite. Este software utiliza uma biblioteca espectral unidimensional integrada para a identificação precisa de metabólitos. A quantificação foi realizada comparando-se a área dos picos dos metabólitos selecionados com a área sob o pico do metil DSS (0,5 mM, sinal em 0,00 ppm), que representava uma concentração conhecida de 0,5 mM em todas as amostras.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados metabolômicos foram analisados utilizando o MetaboAnalyst 6.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>). As tabelas de concentração de metabólitos foram carregadas no MetaboAnalyst e os dados foram transformados logaritmicamente e escalonados por Pareto antes das análises. A estimativa de valores ausentes foi realizada utilizando o método k-vizinhos mais próximos (KNN) com base em amostras semelhantes. Métodos multivariados foram aplicados para melhor explorar as diferenças entre os tratamentos. A análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) foi realizada para obter uma visão geral dos dados e detectar outliers.

A importância da variável na projeção (VIP) foi utilizada para identificar potenciais características responsáveis pelas variações entre o tratamento controle (monensina) e os demais tratamentos por meio de validação cruzada (procedimento leave-one-out e acurácia como medida) realizada por PLS-DA para avaliar a validação do modelo pela qualidade da predição (Q^2) e pela qualidade do ajuste (R^2). Características com valores de $VIP > 1$ foram consideradas significativas. Para identificar processos ou vias biológicas associadas às alterações metabólicas observadas, uma análise de enriquecimento foi realizada para comparar o tratamento controle e os demais tratamentos, com um limiar de $p < 0,1$ e a função “Análise de Super-representação”. Essa abordagem avalia se metabólitos específicos estão significativamente super-representados em algumas vias, oferecendo *insights* sobre a relevância biológica dos módulos metabólicos. A análise de vias foi conduzida utilizando o banco de dados KEGG, garantindo uma cobertura abrangente das vias metabólicas estabelecidas.

3. RESULTADOS

3.1. EXPERIMENTO 1: QUITOSANA FIXA + DOSES CRESCENTES DE LCCT

A análise metabolômica do plasma no experimento 1 mostrou que a monensina e a Q+LCC1 são semelhantes entre si, mas diferem da Q+LCC2 e Q+LCC3 (Figura 4). Ao analisar o líquido ruminal dos animais submetidos às condições do experimento 1, a monensina é mais próxima metabolicamente do tratamento Q+LCC2 (Figura 5).

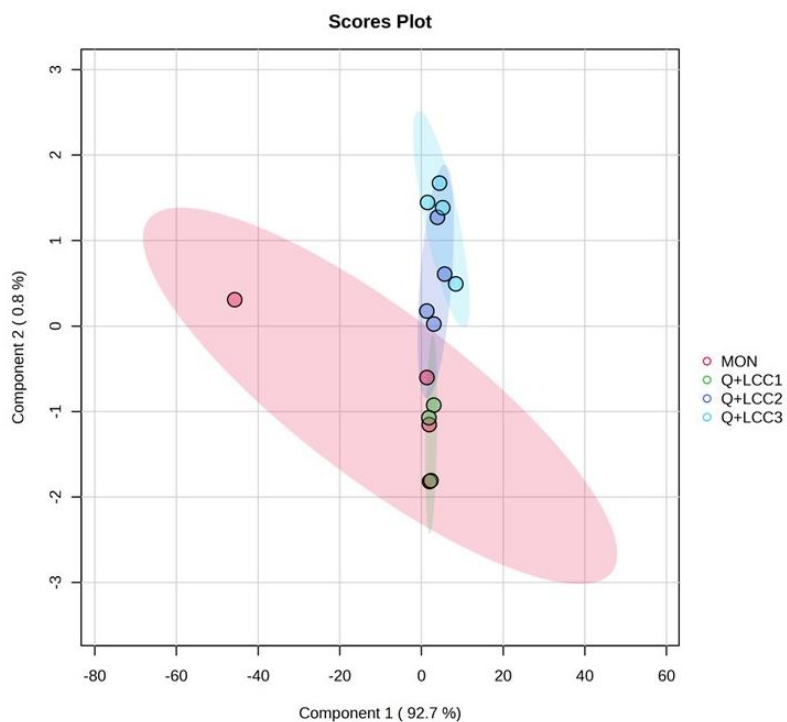


Figura 4. Principais componentes metabólicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCT. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

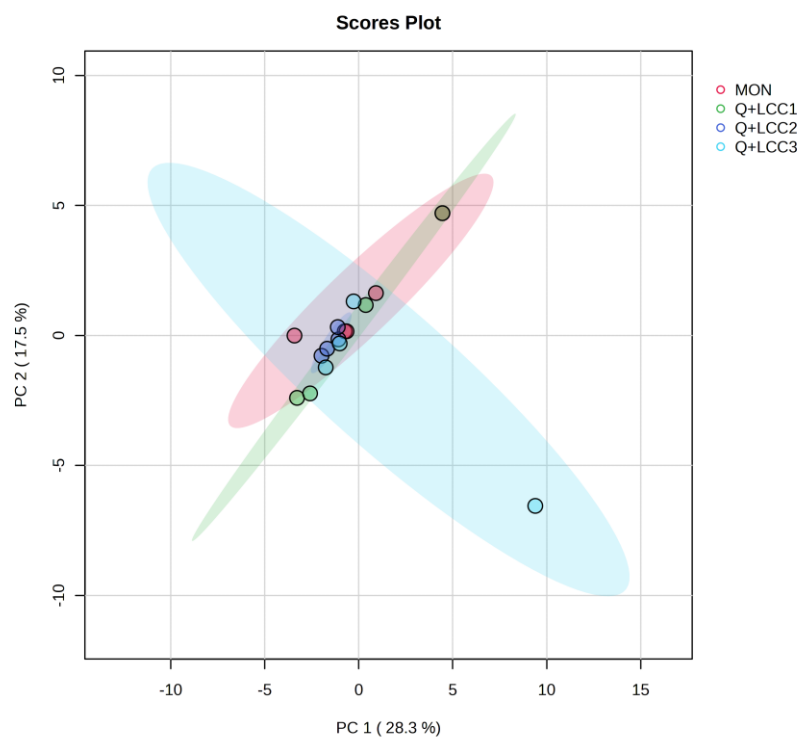


Figura 5. Principais componentes metabólicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCT. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

Com os resultados obtidos no *plot* e a distribuição dos tratamentos na PCA (coloração dos círculos) (Figura 4), fez-se a comparação entre pares que mais se divergem metabolicamente, neste caso entre a monensina e o Q+LCC2 (figura 6). O VIP gerado da comparação entre a monensina e o Q+LCC2 (figura 7) mostrou maior proporção de metabólitos na presença da monensina, com destaque para a prolina, seguida carnitina, 2- metilglutamina, citrulina, 4- piridoxato, creatina fosfato, ácido acetilsalicílico, teofilina, glutamina, propionato, creatinina, citrato, valina e isoleucina. Apenas a piridoxina esteve elevada no uso da Q+LCC2.

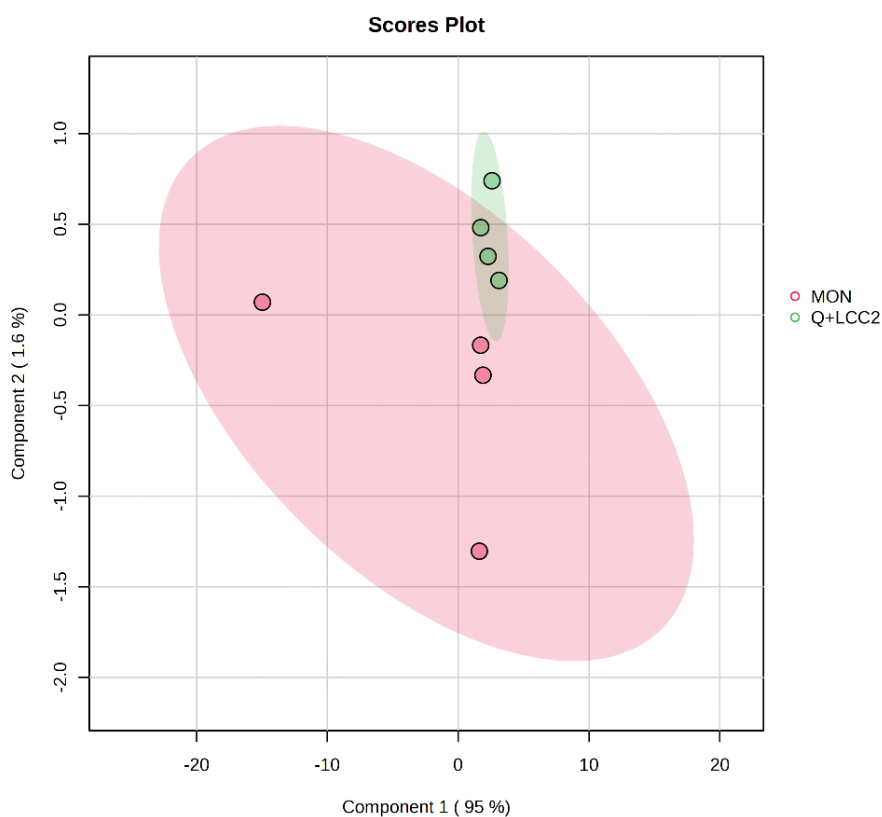


Figura 6. Principais componentes metabólicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)

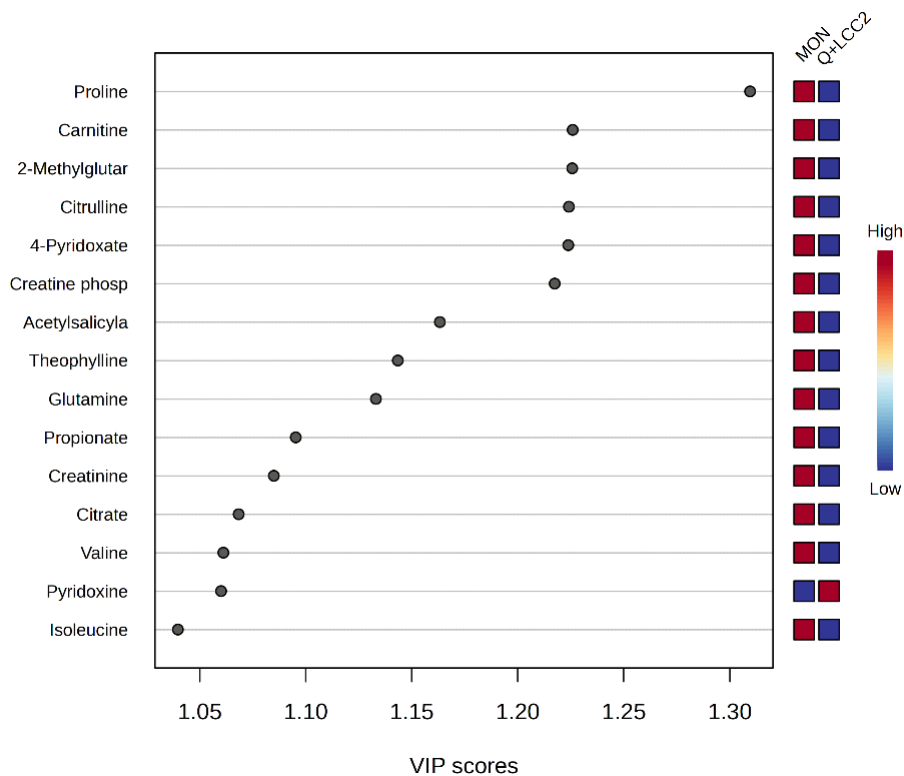


Figura 7. Índices VIP de metabólitos plasmáticos em bovinos alimentados com dietas à base de grãos de milho integral suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)

Na análise de conjunto de enriquecimento de metabólitos do plasma (figura 8) os produtos com maior metabolismo foram o piruvato, biotina, piruvaldeído, gliconeogênese, a lisina e a cisteína.

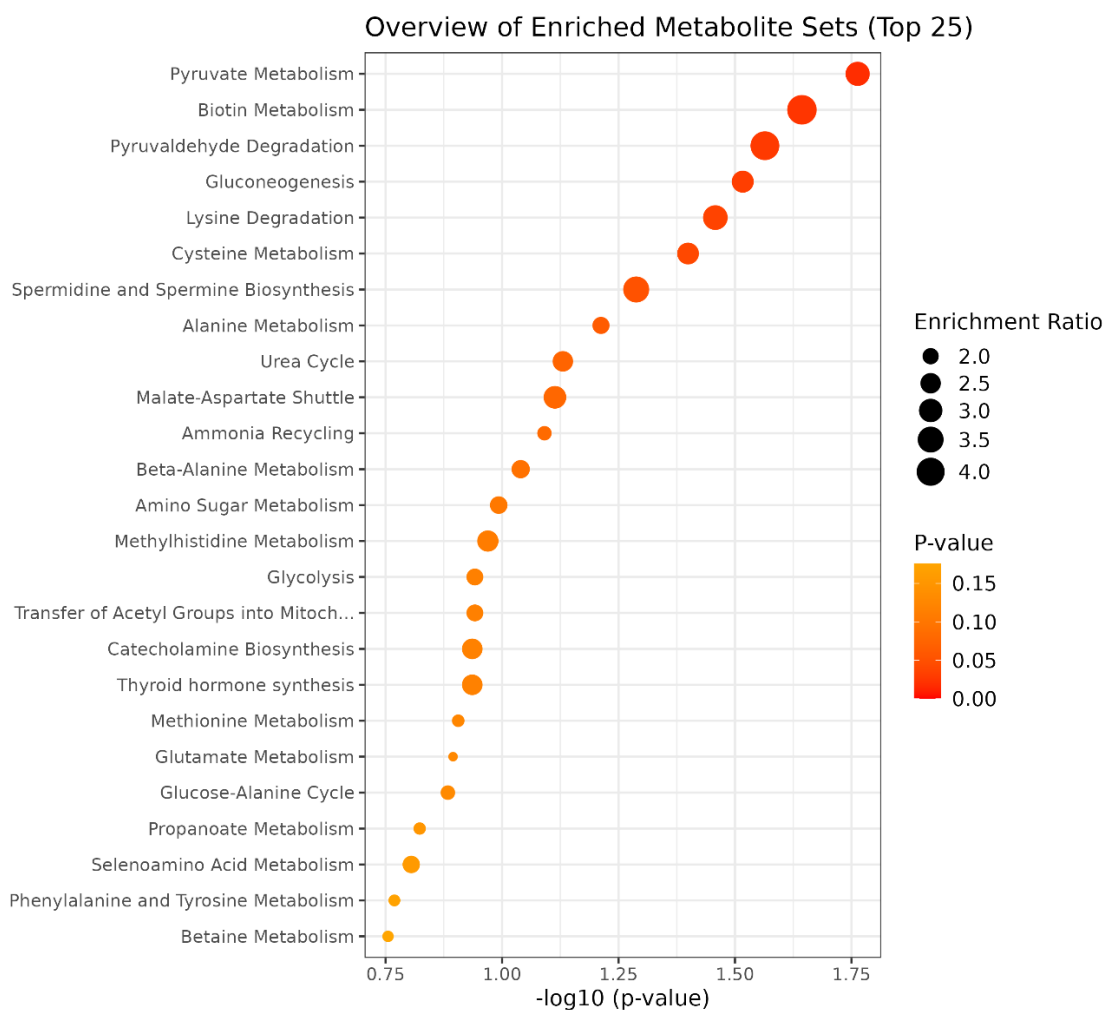


Figura 8. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral, suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)

O perfil metabólico do líquido ruminal (figura 9) evidenciou que a monensina e o tratamento Q+LCCt1 são semelhantes entre si, mas que há diferença nos produtos do metabolismo entre o Q+LCCt2 e Q+LCCt3. Resultado semelhante ao encontrado na avaliação do plasma sanguíneo.

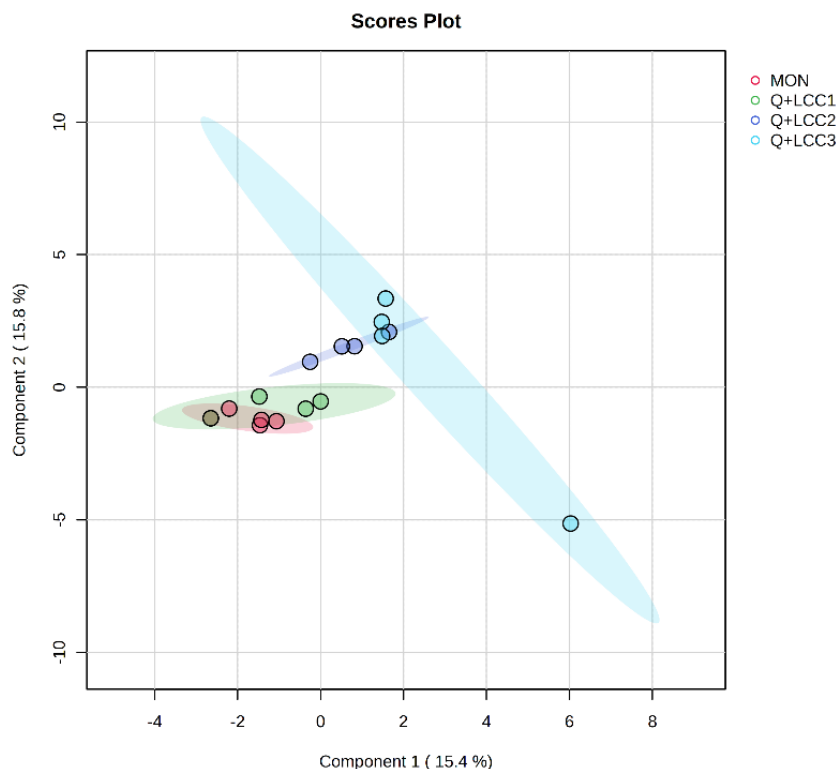


Figura 9. Principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCT. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

Para se obter uma visão aprofundada das variações entre os tratamentos, criou-se um mapa de calor (figura 10) com os principais metabólitos ruminiais encontrados para dar melhor ênfase às diferenças. O tratamento Q+LCCt2 apresentou a maior diferença visível na geração de calor e o tratamento Q+LCCt1 a maior similaridade quando comparado ao tratamento controle (monensina). A partir da divergência entre o tratamento Q+LCCt2 e o tratamento controle, realizou-se a análise de conjunto de enriquecimento de metabólitos do líquido ruminal (figura 11) em que os produtos com maior metabolismo foram o piruvato, biotina, piruvaldeído, gliconeogênese, a lisina e a cisteína.

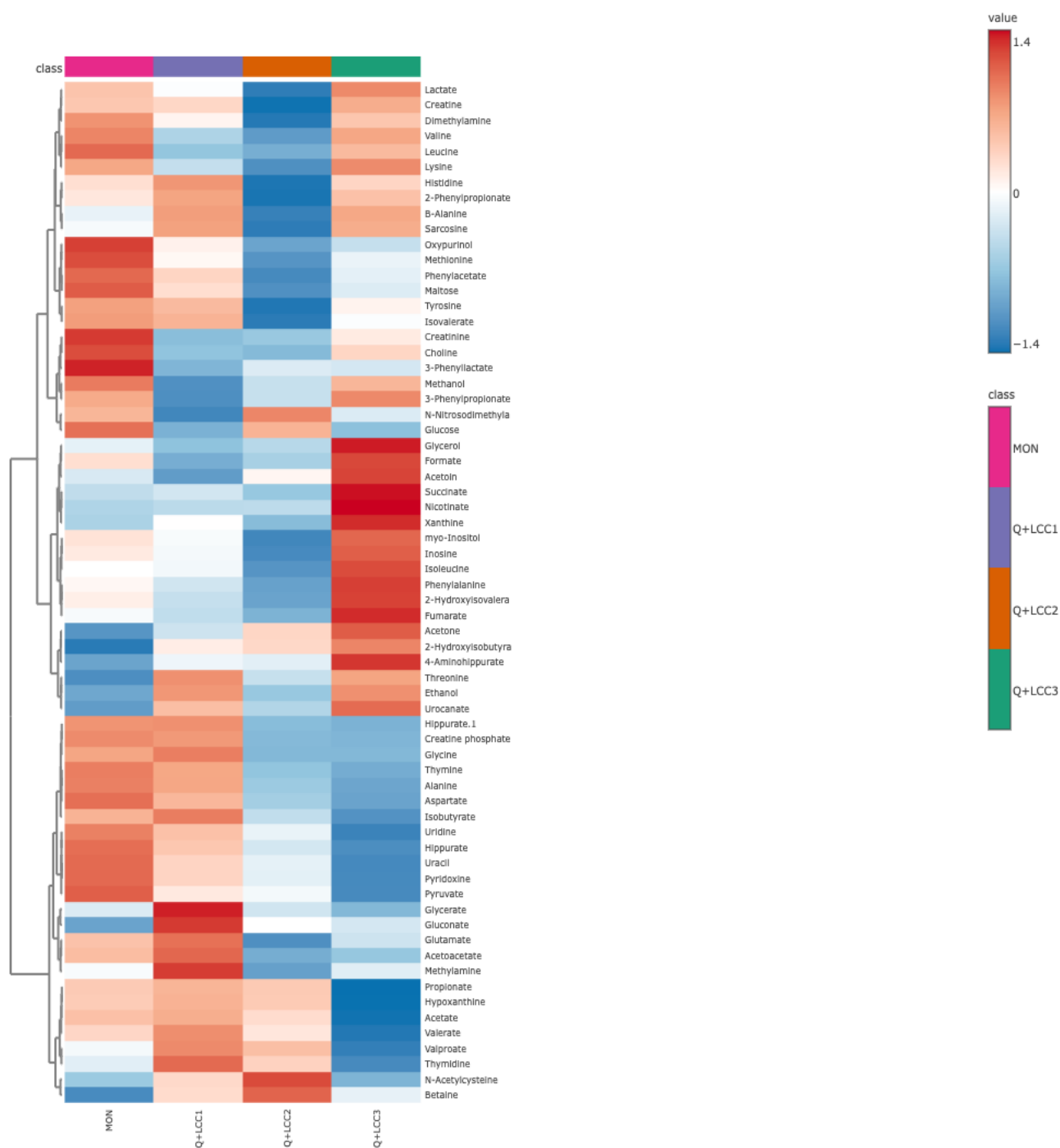


Figura 10. Análise de agrupamento por mapa de calor de Cluster dos principais componentes metabólicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de quitosana e doses crescentes de LCCT. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); Q+LCCt1(375mg+300mg/kg/MS); Q+LCCt2(375mg+600mg/kg/MS); Q+LCCt3(375mg+900mg/kg/MS)

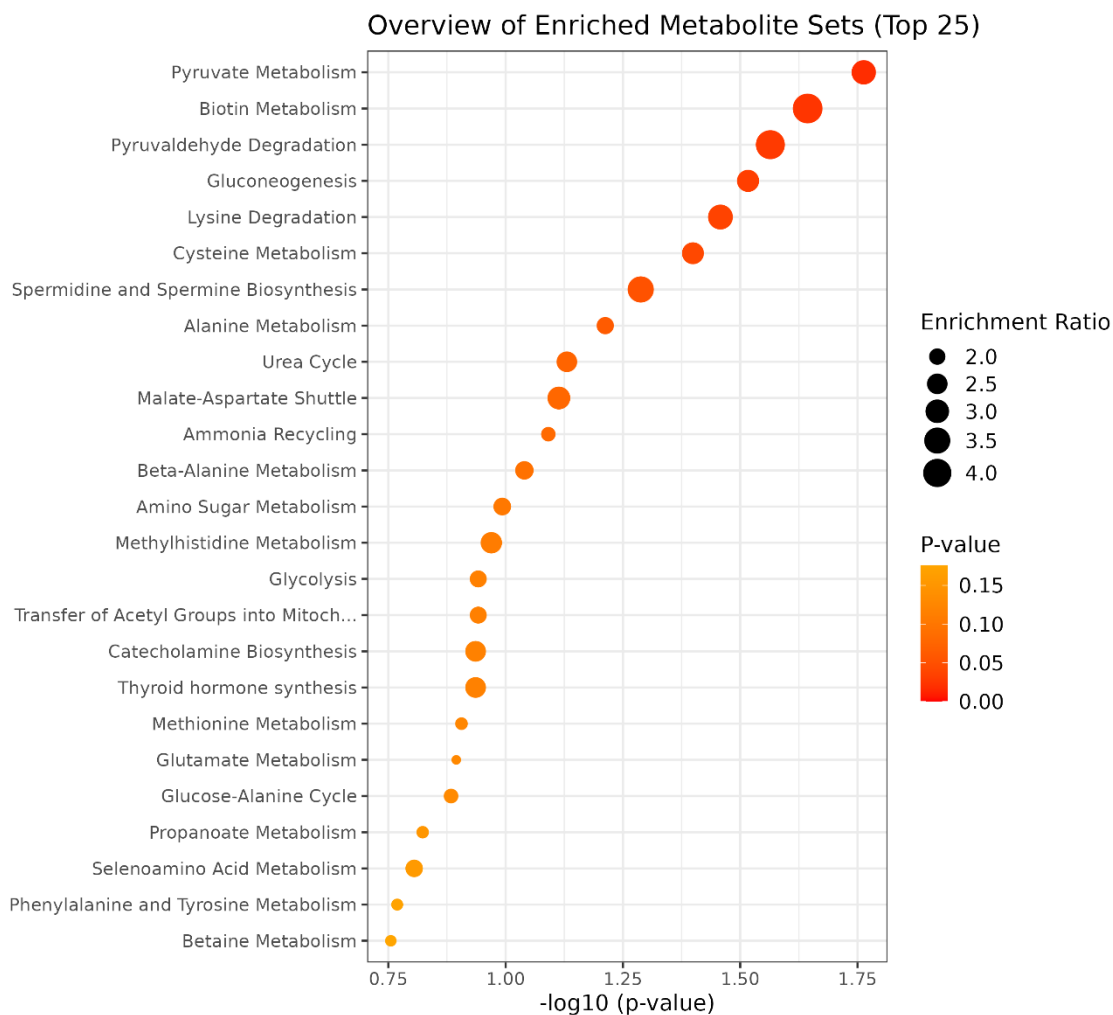


Figura 11. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral, suplementados com o tratamento Q+LCC2 (375mg+600mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)

3.2. EXPERIMENTO 2: LCCT FIXO+ DOSES CRESCENTES DE QUITOSANA

A análise metabolômica do plasma no experimento 2 mostrou que a monensina, o tratamento LCCT+Q2 e LCCT+Q3 são semelhantes entre si, mas diferem da LCCT+Q1 (Figura 12).

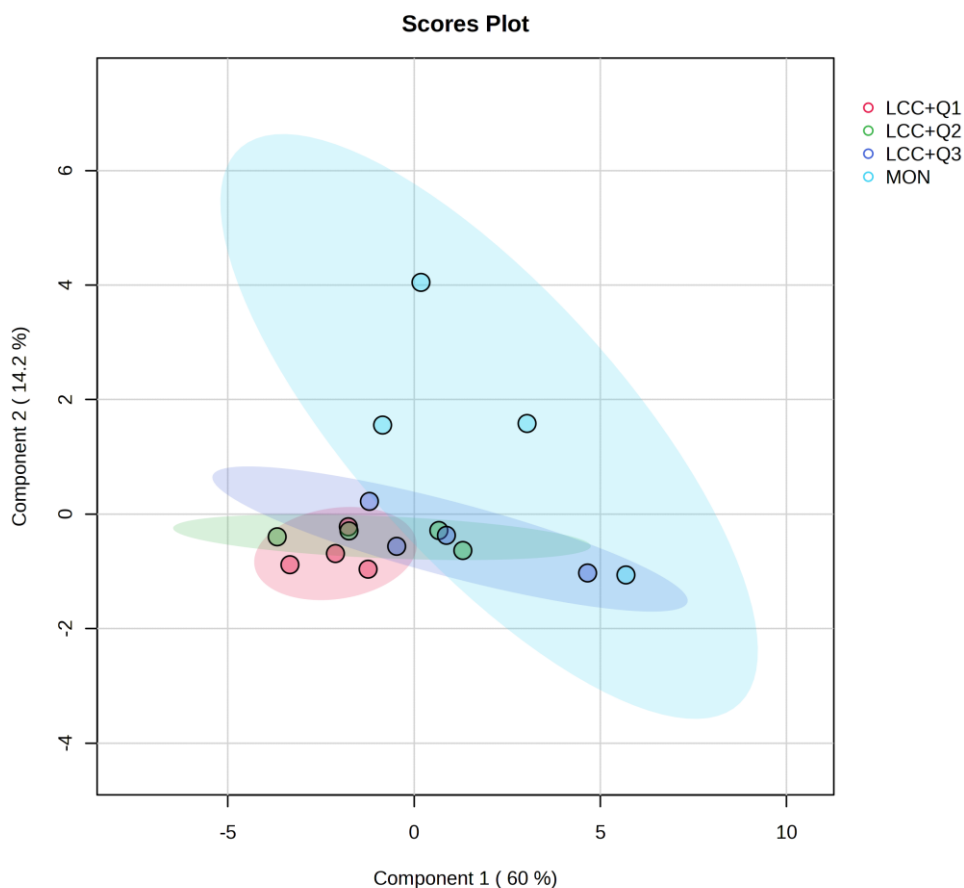


Figura 12. Principais componentes metabólicos do plasma de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

A análise dos metabólitos do líquido ruminal mostrou que a monensina e o tratamento LCCt+Q1 são semelhantes, mas que ambos diferem dos LCCt+Q2 e LCCt+Q3 (Figura 13), resultado que divergiu do encontrado no plasma. Para identificar as diferenças entre os tratamentos, criou-se um mapa de calor (Figura 14) com os principais metabólitos ruminais encontrados. O tratamento LCCt+Q3 apresentou a maior diferença visível na geração de calor e o tratamento Q+LCCt1 a menor geração de calor comparado ao tratamento controle (monensina). A partir da divergência entre os tratamentos, realizou-se a análise de conjunto de enriquecimento de metabólitos do líquido ruminal (figura 15) em que os produtos com maior metabolismo foram a vitamina B6, amido e sucralose, vitamina K, porfirina, ácidos biliares e glicerolipídeos.

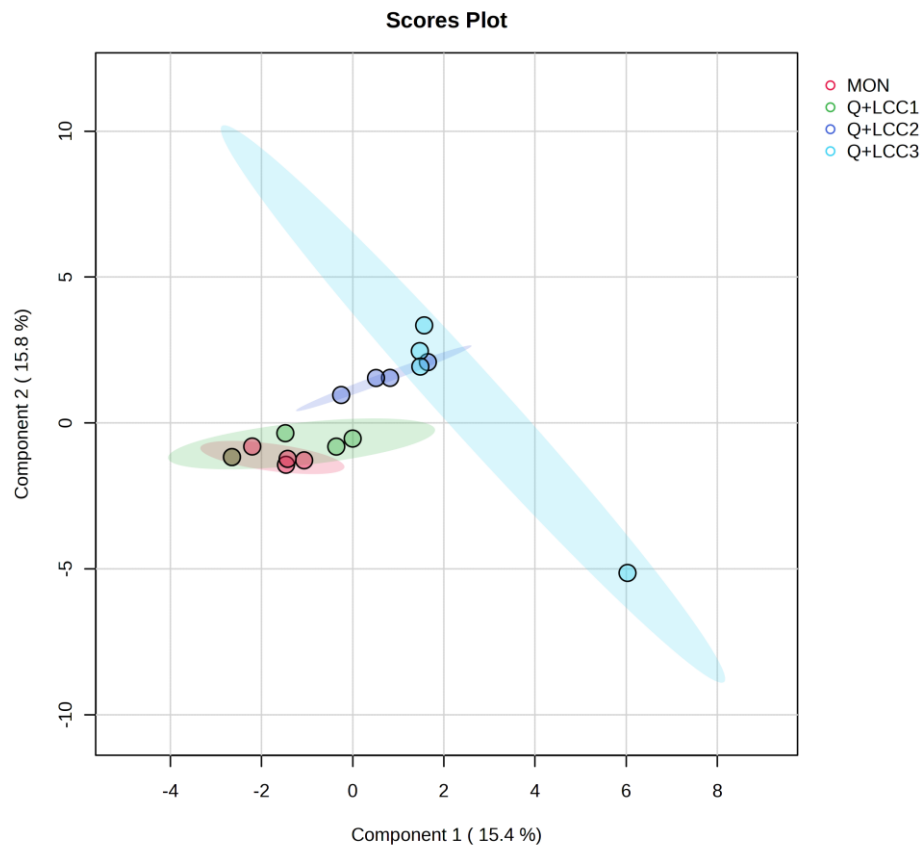


Figura 13. Principais componentes metabólicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

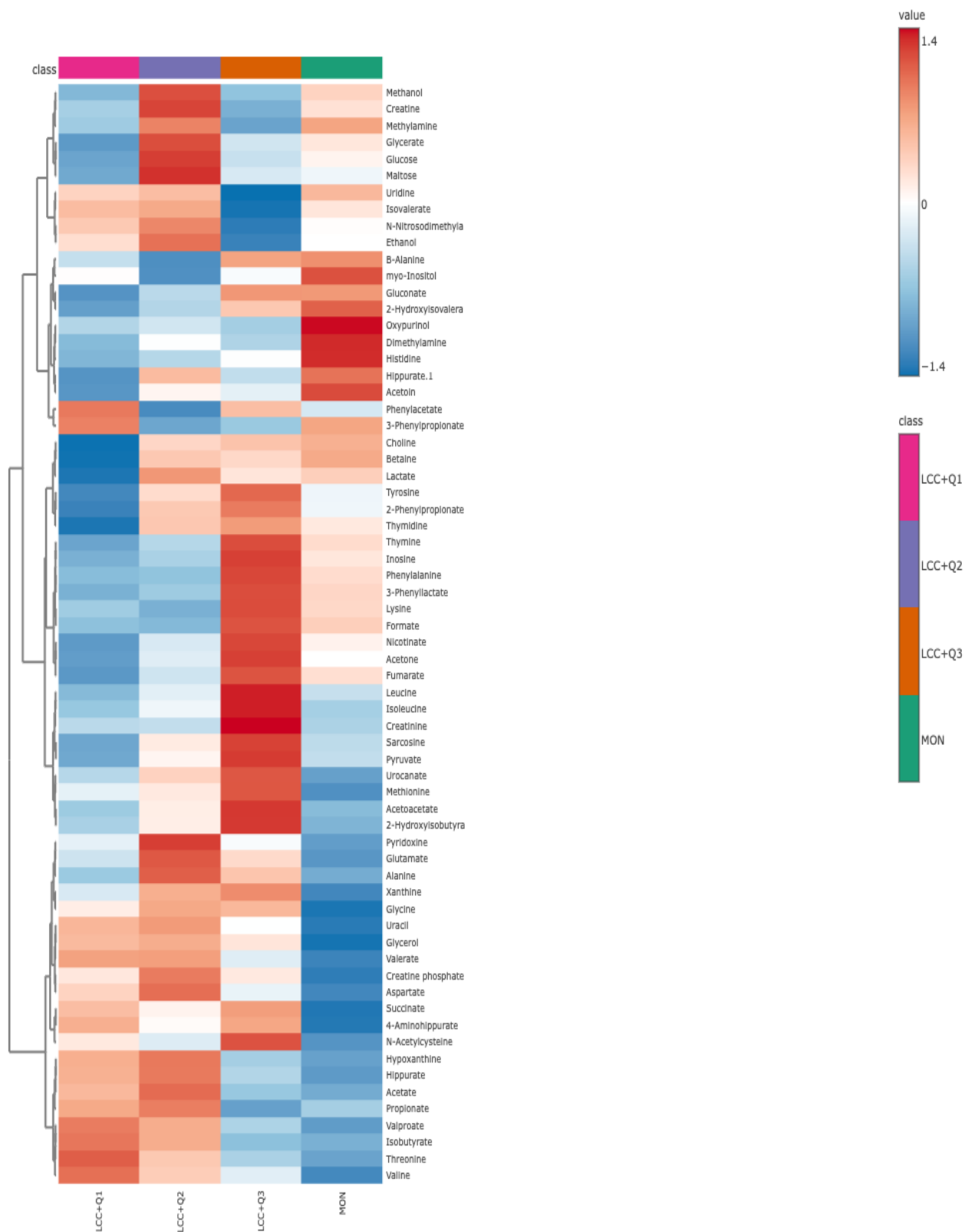


Figura 14. Análise de agrupamento por mapa de calor de Cluster dos principais componentes metabolômicos do líquido ruminal de bovinos alimentados com dietas de grãos de milho integral suplementados com dose fixa de LCCt e doses crescentes de quitosana. Tratamentos: Controle (mon: 25mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 375mg/kg/MS); LCCt+ Q2 (600mg+ 750mg/kg/MS); LCCt+ Q1 (600mg+ 1125mg/kg/MS)

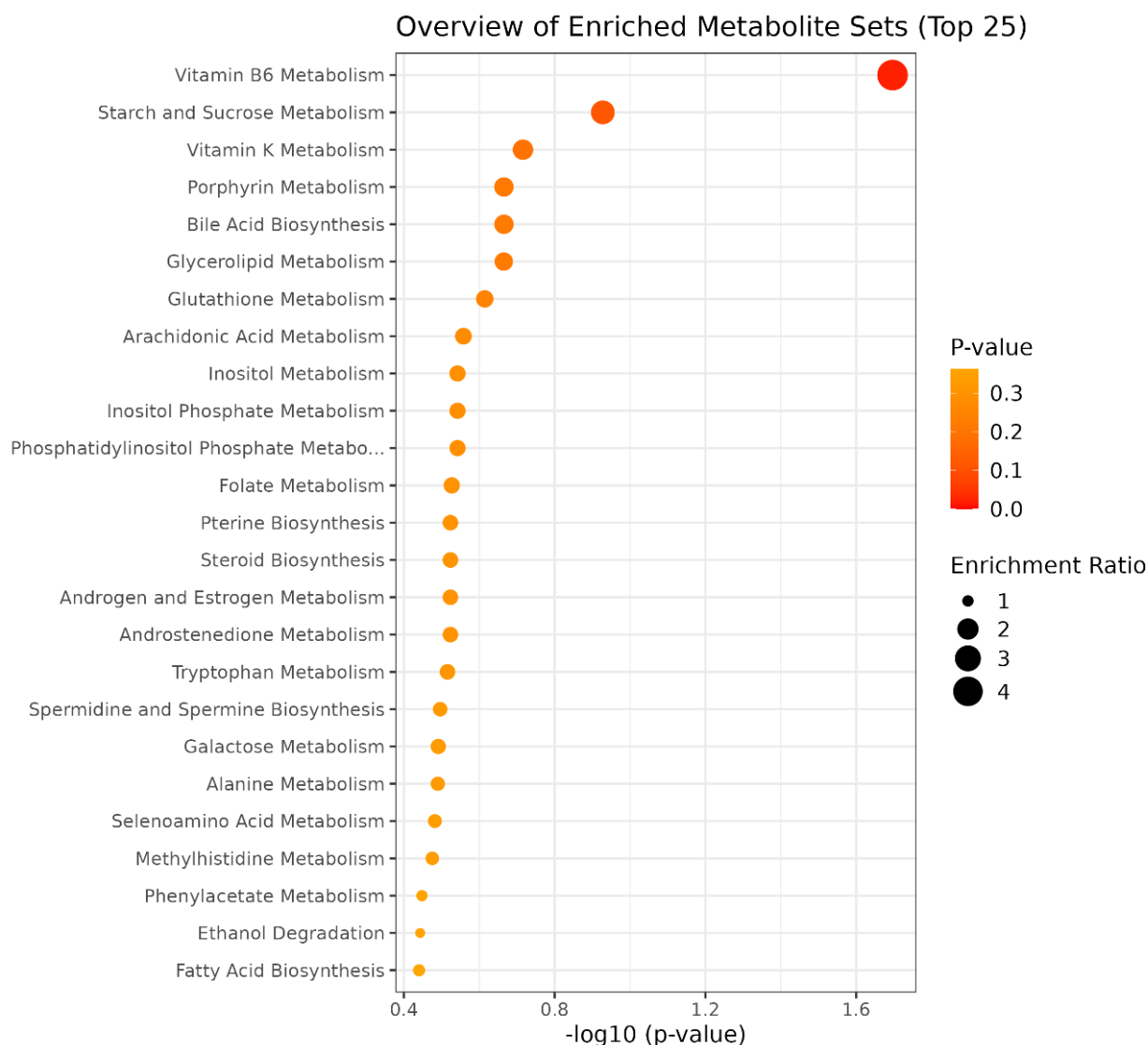


Figura 15. Análise de enriquecimento de conjuntos de metabólitos comparando o plasma de bovinos alimentados com grãos de milho integral, suplementados com o tratamento LCC+ Q2 (600mg+750mg/kg/MS) e controle (monensina: 25mg/kg/MS)

4. DISCUSSÃO

O perfil metabolômico do plasma sanguíneo do experimento 1 evidenciou diferenças nos metabólitos oriundos metabolismo proteico como a carnitina, prolina, 2-metilglutamina, creatina fosfato, glutamina, valina, isoleucina, lisina e cisteína; também no metabolismo energético com o propionato, citrato, piruvato, piruvaldeído e estimulação de vias metabólicas importantes como a gliconeogênese. De acordo com MOREIRA et al., 2025 os ruminantes possuem uma dependência direta da gliconeogênese para produção da glicose e suprimento da sua demanda energética, de modo que utilizam produtos do metabolismo intermediário e vias metabólicas

alternativas como os aminoácidos.

A identificação de produtos do metabolismo proteico no plasma pode estar associada a retenção desses compostos e diminuição da excreção. Para MARQUES & COOKE (2021) a degradação de proteínas e aminoácidos a nível de rumen é ineficiente, pois ultrapassa a capacidade de aproveitamento dos microorganismos e o excedente do metabolismo é perdido via excreção. Neste estudo, a suplementação da combinação da quitosana e o LCCT pode ter contribuído para melhorar o aproveitamento dos produtos do metabolismo, pois os aditivos agem sobre as bactérias proteolíticas presentes no rumen (GOETZ et al, 2023) e com o mecanismo ação similar aos ionóforos (PEREIRA et al, 2019; OSMARI et al, 2017) reduziu a proteólise ruminal a partir do controle das bactérias que utilizam amônia e com redução da desaminação ruminal (MARQUES & COOKE, 2021).

A diferenciação dos compostos dos produtos do metabolismo energético como o propionato pode estar diretamente relacionado com o tipo de dieta que está sendo ofertada, devido às elevadas concentrações de amido das dietas ricas em grãos promove a maior produção de ácido propiônico (propionato) ruminal (WANG et al., 2024) e essa produção é facilmente absorvida pelo epitélio e ganha a circulação sanguínea. O citrato é o responsável por iniciar o ciclo de Krebs ou ciclo do ácido cítrico (CHANDEL, 2021) que está envolvido primariamente no metabolismo de carboidratos e também de proteínas. O piruvato é o produto final da degradação dos carboidratos. A degradação dessas moléculas se inicia no meio extracelular onde os polissacarídeos são degradados até monossacarídeos; somente a partir da molécula mais simples de monossacarídeos é que torna-se possível penetrar a membrana celular das bactérias sendo finalmente metabolizado a piruvato e posteriormente dando origem aos AGVs (KOZLOSKI, 2017). O piruvaldeído é um produto da degradação do ácido ascórbico (PEDRINI et al., 2024) também denominado como vitamina C e que pode atuar como regulador do estresse (KIM et al. 2024), antioxidante (BEENKEN-BOBB et al., 2023) e protege contra danos celulares produzidos pelos radicais livres (BEENKEN et al., 2021).

A lisina é um aminoácido que possui papel importante como molécula bioativa em vias de regulação metabólica e sinalização no metabolismo energético da glicose e também dos lipídios (KONG et al., 2021). A Cisteína é um produto do metabolismo da metionina. De acordo com ZHANG et al. 2022 a metionina é um aminoácido limitante para o ruminante, sendo necessária obtê-la por meio das proteínas dietéticas e dos microrganismos ruminais. A presença da cisteína a nível sérico e ruminal indica

proporções satisfatórias deste aminoácido e o melhor aproveitamento da proteína da dieta. A biotina é equivalente uma vitamina com complexo B (B8) que atua como coenzima no metabolismo de aminoácidos e da gliconeogênese (DUPLESSIS et al., 2022). A vitamina B6 age no metabolismo de aminoácidos, em vias importantes como a transaminação e transsulfuração tornando-se vital para a síntese de proteínas (PROMBOOD et al., 2025). A presença desses metabólitos reforça a influência positiva da associação dos aditivos sobre o metabolismo proteico.

O amido é um carboidrato não estrutural e a sacarose é um monossacarídeo oriundo do metabolismo de carboidratos (RAVELO et al. 2022), produtos que são esperados em maiores proporções quando a dieta ofertada possui maior teor de grãos ricos em carboidratos (milho). A vitamina K é uma vitamina lipossolúvel sintetizada em grande quantidade pelas bactérias ruminais e está associada à função no controle da hemostasia (cascata de coagulação) e remodelação óssea (VALADARES FILHO, et al. 2017).

5. CONCLUSÃO

A presença de grande variedade de metabólitos a níveis séricos e ruminais evidencia que a associação entre os aditivos conseguiu modular e controlar o ambiente ruminal com produção de metabólitos esperados sob as condições a que os animais foram submetidos. Assim, considerando os efeitos similares desejáveis e o perfil metabolômico equivalente ao tratamento controle (monensina), a dose com melhores resultados está em 600mg/kg/MS + 375mg/kg/MS, presente tratamento LCCT+Q1, podendo ser utilizada em dietas de alto grão para bovinos de corte

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avaliou a associação entre quitosana e líquido de castanha de caju técnico (LCCT) como potenciais substitutos da monensina sódica em dietas de alto grão para bovinos de corte, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre aditivos naturais na nutrição de ruminantes. A partir dos dois experimentos conduzidos simultaneamente, foi possível estabelecer relações importantes entre as doses testadas e os efeitos sobre o metabolismo animal.

Os resultados obtidos demonstraram que a combinação dos aditivos não

comprometeu o consumo de matéria seca nem a digestibilidade dos nutrientes, aspectos fundamentais para a manutenção do desempenho produtivo em sistemas de confinamento. Adicionalmente, a manutenção dos parâmetros fermentativos ruminais (pH, AGCC e N-NH₃) em níveis semelhantes ao tratamento com monensina reforça o potencial da associação como ferramenta moduladora do ambiente ruminal.

Os efeitos mais expressivos foram observados sobre o metabolismo proteico, com destaque para o incremento na síntese de proteína microbiana, derivados de purinas e eficiência microbiana, especialmente no tratamento LCct+Q1 (600 mg/kg MS de LCct + 375 mg/kg MS de quitosana). Esses achados sugerem que a ação sinérgica entre os compostos bioativos da quitosana e do LCct — atuando sobre bactérias gram-positivas e proteolíticas — favorece o direcionamento do nitrogênio para a formação de proteína microbiana, melhorando o aproveitamento dos compostos nitrogenados.

A metabolômica revelou que o perfil metabólico do tratamento LCct+Q1 foi o mais similar ao da monensina, tanto no plasma sanguíneo quanto no líquido ruminal, indicando que essa combinação é capaz de igualar aos efeitos metabólicos do ionóforo. A presença de metabólitos relacionados ao metabolismo energético (propionato, citrato, piruvato) e proteico (prolina, glutamina, lisina, cisteína) evidencia que os aditivos atuam de forma integrada sobre as principais vias metabólicas.

Dessa forma, recomenda-se que futuras pesquisas avaliem os efeitos da combinação em condições de longo prazo, considerando o desempenho animal, a qualidade da carcaça, estratégias de fornecimento e a viabilidade econômica para sistemas de produção.

REFERÊNCIAS

- BEENKEN, A. M. et al. Effect of injectable vitamin C and road transport duration on inflammation, muscle fatigue, and performance in pre-conditioned beef calves. *Journal of Animal Science* , v. 99, n. 12, p. skab312, 2021.
- BEENKEN-BOBB, Aubree M. et al. Effects of injectable vitamin C at weaning and before transport on the growth performance of early-weaned beef steers.. *Journal of animal science* , v. 101, p. skac307, 2023.
- CHANDEL, Navdeep S. Carbohydrate metabolism. *Perspectivas de Cold Spring Harbor em biologia* , v. 13, n. 1, p. a040568, 2021.
- DA COSTA, M. B. et al. Performance, carcass traits and serum metabolomic profile of Nelore males with different genetic potential for post-weaning growth. *animal*, v. 14, n. 4, p. 873-880, 2020.
- DIAS, A. M. et al. Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta alto grão. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 17, p. 45-54, 2016.
- DUPLESSIS, M. et al. Supplementation of biotin, folic acid, and vitamin B12 administered at the beginning of lactation to Holstein dairy cows: its effects on propionate, glucose, and protein metabolism throughout the body.. *Animal Feed Science and Technology* , v. 292, p. 115441, 2022.
- GOETZ, B. M. et al. Effects of cashew nut shell extract supplementation on production, rumen fermentation, metabolism, and inflammatory biomarkers in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 106, n. 12, p. 9843-9854, 2023.
- GUO, C. et al. A combined metabolomics and proteomics study revealed differences in the expression profiles of metabolites and proteins in the rumen tissue of goats fed hay or grain-rich diets. *Frontiers in Physiology*. February 2019, V
- KIM, Y-L. et al. Efeito do L-triptofano ou do ácido L-ascórbico protegidos no rúmen sobre os metabólitos plasmáticos e as características de produção de leite de vacas Holstein em lactação durante condições de verão. *Animals* , v. 14, n. 12, p. 1820, 2024.
- KONG, Fanlin et al. The crucial role of lysine in hepatic metabolism of growing Holstein dairy heifers, revealed by non-targeted LC-MS-based metabolomics.. *Nutrição Animal* , v. 7, n. 4, p. 1152-1161, 2021.
- KOZLOSKI, Gilberto Vilmar. *Bioquímica dos ruminantes*. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia-Editora UFSM, 2017.

MARQUES, R. D. S.; COOKE, R. F.. Effects of ionophores on ruminal function in beef cattle. *Animais* , v. 11, n. 10, pág. 2871, 2021.

MATIAS, I.F.B. et al. Preparation of rumen fluid and serum samples from beef cattle for nuclear magnetic resonance-based metabolomics.. *New Zealand Journal of Agricultural Research* , v. 68, n. 6, p. 1401-1414, 2025.

MOREIRA, J. B. S. et al. Serum metabolomic profile reveals differences in energy metabolism in Nellore bulls with divergent growth rates during feedlot finishing. *ACS omega* , v. 10, n. 41, p. 48272-48281, 2025.

OLIVEIRA, R. T. de et al. Chitosan and cashew nut shell liquid as sustainable additives: improving starch digestibility and reducing methane emissions in grain-rich diets for feedlot cattle.. *Polymers* , v. 17, n. 13, p. 1860, 2025.

OSMARI, M. P. et al. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. *Archivos de zootecnia*, v. 66, n. 255, p. 375-381, 2017.

PEDRINI, C. A. et al. Dosages of PSXIV-3 3-nitrooxypropanol to reduce methane emissions from feedlot cattle.. *Journal of Animal Science* , v. 101, n. Suplemento 3, p. 556-557, 2024.

PEREIRA, D. C. et al. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut shell liquid as additives for ruminants. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, Salvador, v.20, 01 - 12, e05102019, 2019.

PROMBOOD, S. et al. Evaluation of vitamin B6 status using plasma vitamers and homocysteine in lactating dairy cows and its relationship with ruminal fermentation, plasma metabolites, and milk production under different environmental conditions.. *Animal Science Journal* , v. 96, n. 1, p. e70084, 2025.

RAVELO, AD et al. Effects of sucrose and lactose as partial substitutes for corn in the diet of lactating dairy cows: a review. *Translational Animal Science* , v. 6, n. 2, p. txac044, 2022.

VALADARES FILHO, S. D. C. et al. Vitamins for beef cattle. *BR-CORTE* , p. 353. 2017

WANG, K. et al Effects of a high-grain diet on performance, ruminal fermentation, and ruminal microbial flora of lactating Holstein dairy cows. *Animals* , v. 14, n. 17, p. 2522, 2024.

YANG, You et al. Metabolomic profiling of rumen and plasma by UHPLC-QTOF/MS revealed metabolic alterations associated with a high-corn diet in beef steers.. *PloS one* ,

v. 13, n. 11, p. e0208031, 2018. (b)

YANG, You et al. Treating corn with lactic acid or hydrochloric acid modulates rumen and plasma metabolic profiles, as well as inflammatory responses in beef steers. BMC Veterinary Research , v. 14, n. 1, p. 408, 2018. (a)

ZHANG, Xirui et al. Effect of methionine analogues on growth performance, serum biochemical parameters, serum free amino acids and rumen fermentation of yaks. Animals, v. 12, n. 22, p. 3175, 2022.