

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

# QUITOSANA E LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS À BASE DE GRÃOS PARA BOVINOS

RAQUEL TENÓRIO DE OLIVEIRA

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



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

# QUITOSANA E LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS À BASE DE GRÃOS PARA BOVINOS

# RAQUEL TENÓRIO DE OLIVEIRA

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

Co-orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

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

Dourados, MS Agosto de 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

O48q Oliveira, Raquel Tenorio De

QUITOSANA E LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS À BASE DE GRÃOS PARA BOVINOS [recurso eletrônico] / Raquel Tenorio De Oliveira. -- 2021. Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

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

1. Aditivos alternativos. 2. Biopolímero. 3. Ruminates. 4. Metabolismo ruminal. 5. Cardanol. I. Goes, Rafael Henrique De Tonissi E Buschinelli De. II. Gandra, Jefferson Rodrigues. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

# QUITOSANA E LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS À BASE DE GRÃOS PARA BOVINOS

por

# RAQUEL TENÓRIO DE OLIVEIRA

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

Aprovado em: 31/08/2021

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

Juliun - 22 11 4000 1

Dra. Milene Puntel Osmari UFSC

Dra. Nara Regina Brandão Cônsolo UFGD/PNPD

#### **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Raquel Tenório de Oliveira, filha de Valdomiro Barbosa de Oliveira e Sebastiana Tenório de Oliveira, nasceu em 09 de Outubro de 1994, na cidade de Fátima do Sul-MS. Em fevereiro de 2012 ingressou no curso de Zootecnia pelo Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), graduando-se em Maio de 2018. Em Março de 2019 iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes.

# **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Valdomiro Barbosa de Oliveira e Sebastiana Tenório de Oliveira, meu irmão Rodrigo Tenório de Oliveira, minha melhor amiga Hulle Lívia Costa Brito e minha amiga e irmã de coração Nayara Gonçalves da Silva.

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, à Deus, pela vida, por guiar meus caminhos, pela força para continuar lutando e por me proporcionar tantas conquistas.

À minha família, meus pais (Valdomiro e Sebastiana) e meu irmão Rodrigo, pela paciência, compreensão e pelos ensinamentos que levei por toda à vida.

A minha melhor amiga e Médica Veterinária favorita Hulle Lívia, pelas consultorias à distância, ajuda e por se fazer presente em todos os momentos.

As minhas amigas Nayara Gonçalves e Hayne Araki, pela paciência, apoio, por toda ajuda prestada durante o experimento à campo e nas analises laboratoriais e pela companhia nos finais de semana.

Ao meu Orientador, Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, pelos oito anos de orientação, amizade, paciência, confiança, pela realização desse trabalho e sua valiosa influência na minha formação.

Ao professor Jefferson Gandra que também auxiliou na elaboração deste trabalho.

Aos integrantes do Grupo de Estudo em Nutrição e Produção de Ruminantes - NERU, Luiz Miguel Anschau, Heitor Paz, Calebe Corcino, Paloma Rufino, Emanulle Fetter, Thalisom Marques, Lavinya Rodrigues, Greicy Arguelho, Jeinny Wenglia, Douglas Anschau, Sullyvan Oliveira. Em que ajudaram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

Aos técnicos de Laboratório, Giza Gressler, Phaena Moraes, Adriana Hirata e João Machado, pela orientação e paciência na condução das análises laboratoriais.

Aos funcionários do setor de bovinocultura, em especial ao Seu Valdemar e Seu Sassá por toda ajuda e atenção depositada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, a Faculdade de Ciências Agrárias e a Universidade Federal da Grande Dourados, que tornaram possível a realização deste trabalho.

A AGROCRIA Nutrição Animal, pelo fornecimento dos pellets.

Aos animais, carinhosamente chamados de Mistura, Costela, Picanha, T-Bone, Tiago-PY e Jhow Snow, que foram fundamentais para realização desse trabalho.

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

# SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
CAPÍTULO 1	14
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Dietas de alto grão em confinamentos	15
2.2 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos	16
2.3 Quitosana	17
2.4 Líquido da Castanha de Caju (LCC)	20
3. OBJETIVO GERAL E HIPÓTESE	23
3.1 Objetivos específicos	23
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 2	29
1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAIS E MÉTODOS	32
2.1 Local, animais e tratamentos	32
2.2 Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total	34
2.3 Fermentação ruminal	35
2.4 Síntese de proteína microbiana	36
2.5 Metabolismo da ureia e creatinina	38
2.6 Análise estatística	38 38
4. DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÃO	
6 REFERÊNCIAS RIBLIOGRÁFICAS	42

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Pr	roporção e composição química dos ingredientes	e degradabilidade potencial
e	efetiva	dos
ingredi	entes	Erro!
Indica	dor não definido.5	
Tabela 2. V	alores médios de consumo e digestibilidade apar	rente total da matéria seca e
nutrient	tes de acordo com as dietas experimentaisErro	! Indicador não definido.6
Tabela 3.V	Valores médios dos parâmetros de fermentaç	ção ruminal em novilhos
suplem	entados de acordo com as dietas experimentais.E	erro! Indicador não
definid	<b>lo.</b> 7	
Tabela 4. V	alores médios dos derivados de purina e da efici-	ência de síntese de proteína
microbi	iana em novilhos suplementados de acordo com a	as dietas experimentais 48
Tabela 5. V	Valores médios do balanço de nitrogênio em 1	novilhos suplementados de
acordo	7com as dietas experimentais <b>Err</b>	o! Indicador não definido.
Tabela 6. V	alores médios dos derivados de purina e da efici-	ência de síntese de proteína
microbi	iana em novilhos suplementados de acordo co	m as dietas experimentais.
	Err	o! Indicador não definido.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da quitosana	17
Figura 2. Esquema da desacetilação da quitina que origina a quitosana	18
Figura 3. Principais constituintes do líquido da casca da castanha de caju	21
Figura 4. Solubilidade do pellet	.34

#### LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC - Ácido graxo de cadeia curta

AOAC - Association Of Analytical Chemists

BN - Balanço de compostos nitrogenados

CHODR - Carboidratos degradados no rúmen

CON - Controle

CZ - Cinza

DP - Derivados de purina

EU – União Europeia

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

FDNi – Fibra em detergente neutro indigestível

HCl - Ácido cloridrico

LCC - Líquido de castanha de caju

LCCt - Líquido de castanha de caju técnico

MAPA – Ministério da Agricultura e Pecúaria

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-NH<sub>3</sub> – Nitrogênio amoniacal

Nret - Nitrogênio retido

PB - Proteína bruta

PC - Peso corporal

QUI - Quitosana

TiO2 - Dióxido de titânio

#### **RESUMO**

OLIVEIRA, Raquel Tenório, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados MS, julho de 2021. **Quitosana e líquido da casca da castanha de caju em dietas à base de grãos para bovinos**. Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Coorientador: Jefferson Rodrigues Gandra

Propôs-se com este trabalho avaliar a adição do Líquido da Castanha de Caju técnico (LCCt) e da Quitosana como aditivos naturais para bovinos confinados rebendo dieta de milho grão inteiro. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350 kg, distribuídos aleatoriamente em delineamento em quadrado latino 5x5 e mantidos em baias individuais, recebendo uma dieta constituida de 85% de milho grão inteiro e 15% de pellet proteico-mineral-vitaminico. As dietas experimentais foram acrescidas de monensina (25 mg/Kg de MS); quitosana (375 mg/Kg de MS); LCCt (500mg/kg de MS); quitosana + LCCt (375mg + 500mg/kg de MS); além da dieta controle. Os animais alimentados com a associação de LCCt+QUI apresentaram menor consumo de MS (6.60 Kg/dia) e PB (0.872 Kg/dia) e maior coeficiente de digestibilidade em comparação ao tratamento com monensina. A inclusão de LCCt+QUI na dieta levou a uma redução na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato. Não houve efeito para a inclusão dos aditivos, na síntese de nitrogênio, proteína microbiana e nas concentrações de ureia e creatinina no sangue e na urina. A associação dos aditivos LCCt+QUI promoveu redução no consumo de nitrogênio e balanço de nitrogênio em relação ao tratamento com monensina. A associação entre quitosana e líquido da castanha de caju, apresentou os melhores resultados em dietas de milho grão inteiro, podendo substituir a monensina.

Palavras-Chave: aditivos alternativos, biopolímero, ruminates, metabolismo ruminal, cardol

#### **ABSTRACT**

OLIVEIRA, Raquel Tenório, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados MS, julho de 2021. **Chitosan and cashew nut liquid in grain-based diets for cattle.** Advisor: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-Advisor: Jefferson Rodrigues Gandra

The aimed of this work was to evaluate the addition of technical Cashew Nut Liquid (CNLt) and Chitosan as natural additives for confined cattle fed whole grain corn diet. Five (5) rumen-cannulated crossbred steers with an average weight of 350 kg were used, randomly distributed in a 5x5 Latin square design and kept in individual pens, receiving a diet consisting of 85% whole grain corn and 15% protein mineral-vitamin pellet. The experimental diets were added with monensin (25 mg/kg of DM); chitosan (375 mg/kg MS); CNLt (500mg/kg MS); chitosan + CNLt (375mg + 500mg/kg of MS); in addition to the control diet. The animals fed with the association of CNLt+CHI had lower consumption of DM (6.60 Kg/day) and CP (0.872 Kg/day) and higher coefficient of digestibility compared to the treatment with monensin. The inclusion of CNLt+CHI in the diet led to a reduction in the molar concentration of acetate and a greater production of propionate. There was no effect for the inclusion of additives, on the synthesis of nitrogen, microbial protein and on the concentrations of urea and creatinine in blood and urine. The association of CNLt+CHI additives promoted a reduction in nitrogen consumption and nitrogen balance in relation to the treatment with monensin. The association between technical cashew nut liquid and chitosan showed the best results in whole grain maize diets, being able to replace monensin.

**Keywords**: alternative additives, biopolymer, ruminants, rumen metabolism, cardol, cardanol.

#### CAPÍTULO 1

## 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Na pecuária de corte, a alimentação representa a maior parte dos custos dentro do sistema de produção, tornando essencial a necessidade de buscar medidas que potencializem a eficiência do sistema produtivo. A utilização de dietas com milho grão inteiro vem sendo bastante utilizada como alternativa para otimizar ganho de peso dos animais e minimizar o de tempo de abate.

No entanto, o uso de dietas de alto grão pode proporcionar distúrbios metabólicos aos animais, pelo excesso de carboidratos não estruturais, o que leva a redução do pH do rúmen, influenciando negativamente a digestibilidade e o aproveitamento dos nutrientes da dieta, além de aumentar a incidência de problemas como acidose, abscessos hepáticos e laminite. Uma opção para reduzir esses distúrbios metabólicos e melhorar o aproveitamento dos nutrientes é a inclusão de aditivos alimentares na dieta.

O objetivo do uso de aditivos na alimentação de ruminantes, é a prevenção de doenças e atuação sobre a microbiota ruminal através de seleção de bactérias, melhorando assim a eficiência da produção animal. Os aditivos comumente utilizados, são em grande parte antimicrobianas, substâncias com atividades tendo destaque ionóforos (CALSAMIGLIA et al., 2007). No entanto, no ano de 1999, a União Europeia (UE), baniu a utilização de antibióticos promotores do crescimento e em 2006 (artigo nº 11 do regulamento 1831/2003), proibiu o uso de ionóforos, por causa de possíveis potencias de transferência de resistência antimicrobiana dos animais para os seres humanos, impactando diretamente na saúde pública. Diante disso, a busca por aditivos alternativos com efeitos similares aos ionóforos tem-se intensificado.

A Quitosana, vem sendo estudada como um aditivo natural com objetivo de modular a fermentação e digestão ruminal. Segundo Goiri et al, (2009a) a quitosana pode ser incluída na dieta animal, com o intuito de modificar a flora ruminal e consequentemente fornecer rotas energéticas mais eficientes devido a sua ação semelhante aos aditivos já utilizados, alcançando resultados favoráveis. Os oléos funcionais, são outro exemplo de aditivo que são citados na literatura, por ser considerado um produto natural extraído principalmente de plantas oleaginosas, constituídos por triglicerídeos, com uma alta quantidade de ácidos graxos insaturados. O líquido da castanha de caju (LCC) está dentro da classe de óleos funcionais, podendo atuar como um aditivo natural em dieta de ruminantes (DIAZ et al., 2015).

Portanto a hipótese avaliada neste estudo, é que a inclusão de aditivos nas dietas experimentais mostre efeito positivo nas variáveis de consumo, digestibilidade, parâmetros de fermentação ruminal, balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana em comparação com a monensina.

#### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Dietas de alto grão em confinamentos

As dietas de alto grão são compostas de baixos níveis ou ausência de alimentos volumosos, usualmente são uma combinação de grãos de milho inteiro com pellet proteico, mineral e vitamínico, em proporção aproximada de 85% e 15%, respectivamente. As dietas tradicionais de confinamento com altas proporções de volumosos, passam por várias limitações, pois demandam de maiores áreas para a produção do volumoso, bem como exigem maiores quantidades de maquinários e equipamentos, é são alimentos menos estáveis no cocho, e podem não suprir o consumo de energia exigido para maximizar o desempenho produtivo (PAULINO et al. 2013).

A utilização de altas proporções de milho em dietas de confinamento, se deve ao alto teor energético, e valor nutricional do grão (MILLEN et al. 2009). Dietas de alto grão proporciona aumento em seu valor energético, favorecendo melhor eficiência produtiva do rebanho em função da redução na quantidade necessária de matéria seca total ingerida pelo animal para suprir suas demandas de mantença e produtividade (SANTANA et al. 2014).

Apesar das vantagens que a dieta de alto grão traz, existe também as desvantagens para o animal, pois a ingestão de dietas com altas proporções de carboidratos não fibrosos (CNF), são rapidamente fermentadas no rúmen, promovendo a proliferação de bácterias ácidos tolerante (*Streptococcus bovis e Lactobacillus* spp), elevando as taxas de fermentação, produzindo elevados teores de ácidos, como o ácido lático, que promove a queda brusca no pH do rúmen, prejudica a motilidade ruminal e favorece maior produção de gases oriundos da fermentação, o que gera o acúmulo dos mesmos. Portanto, é importante a inclusão de aditivos alimentares em dietas com altas proporções de grãos, com o intuito de manipular a fermentação ruminal por meio da seleção de bactérias gramnegativas, proporcionando menor incidência de distúrbios metabólicos e contribuindo para melhorar o desempenho animal (SILVA, 2014a).

Em trabalho de Silva (2014a), avaliando a inclusão de aditivos alimentares (monensina, monensina + virginiamicina e óleos da mamona e caju), ao se alterar bruscamente de 0 para 92% de concentrado na dieta de bovinos nelore, não foi observado alterações no desempenho e nas características da carne e carcaça dos animais. Sugerindo assim, que a inclusão desses aditivos proporcionou proteção a falta de adaptação e ao elevado nível energético da dieta.

#### 2.2 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos

Segundo Pires (2010), os estudos na nutrição de ruminantes têm buscado potencializar ao máximo a eficiência produtiva do animal, buscando aprimorar o desempenho dos animais, por meio da inclusão de aditivos, pois estes agem manipulando a fermentação ruminal. O objetivo da inclusão de aditivos na dieta, é de utilizar substâncias que proporcione aumento na digestibilidade da fibra, maior proporção de ácido propiônico no rúmen, pH próximo à neutralidade, redução de incidência de: acidose ruminal, timpanismo, metanogênese, proteólise ruminal e desaminação de aminoácidos.

Os ionofóros, são os aditivos mais utilizados na produção intensiva de bovinos, que compreendem um tipo de antibiótico, sendo produzido principalmente por linhagens de bactérias do gênero *Streptomyces*. Entre os os diversos tipos de ionofóros existentes, os três mais utilizados em bovinos são: lasalocida, monensina sódica e salinomicina.

Dentre os aditivos autorizados para utilização, a monensina sódica, tem sido a mais estudada e utilizada, com o intuito de potencializar o desempenho dos animais bem como a eficiência energética (FERELI et al., 2010). A propriedade da monensina é proporcionar melhor eficiência alimentar, por meio de alteração na população microbiana do rúmen e no padrão de fermentação dos alimentos. Assim, quando incluída na dieta de ruminantes, tem atuação no crescimento das bactérias gram-positivas, proporcionando vantagens nutricionais, metabólicas e no desempenho animal, isso se deve a produção de alguns produtos gerados durante o metabolismo das bactérias gram-positivas (OLIVEIRA et al., 2005). Pois, Os ionóforos aumentam a participação de bactérias gram-negativas no rúmen, com aumento da proporção de propionato e redução das proporções de acetato e butirato e da produção de metano em até 30% (RODRIGUES et al., 2007), o que pode aumentar a energia líquida (MCGUFFEY et al., 2001).

Apesar da monensina sódica apresentar resultados sastisfatórios, a busca por compostos naturais que apresentem atividade antimicrobiana semelhantes ou superiores tem se intensificado.

#### 2.3 Quitosana

A quitosana (polímero N-acetil-D-glicosamina) é um biopolímero natural derivado da desacetilação da quitina, sendo o componente principal do exoesqueleto de crustáceos. A quitina é o segundo biopolímero mais abundante da natureza, ficando atrás apenas da celulose, sendo polissacarídeo mundialmente distribuído como componente principal do exoesqueleto de crustáceos e insetos, assim como faz parte da parede celular de algumas bactérias e fungos (SENEL et al., 2004). Como polímero biodegradável, carboidratos, não tóxico, a quitosana tem recebido uma atenção especial para o potencial diversificado de aplicações tanto na medicina como na preservação de alimentos devido às suas propriedades antimicrobianas. O nome "quitosana" não indica um único composto, mas sim uma família de compostos em que cada produto possui diferente peso molecular e grau de acetilação.

A quitosana é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalina, composta predominantemente por unidades 2- amino-2- desoxi-D-glicopiranose (GlcN) unidas por ligações glicosídicas (1-4) (ROBERTS, 1992) (Figura 1).

Figura 1. Estrutura química da quitosana

Não existem muitas informações sobre a descoberta dessa substância, segundo Roberts (1992), em 1811 o professor francês Henri Braconnot identificou a quitina pela primeira vez. Em suas pesquisas pode observar que nas paredes celulares de plantas haviam substâncias análogas a encontradas em determinados fungos, com isto surgiu uma nova descoberta. Já em 1823 uma substância de caráter insolúvel foi encontrada em carapaças de insetos, ganhando o nome de quitina, de origem grega da palavra "chiton", que significa túnica, envelope ou cobertura. No ano de 1859 a partir da desacetilação da quitinina em solução concentrada de hidróxido de potássio resultou na formação da quitosana.

A quitina é um polissacaridio com grupos acetil-laterais, com a desacetilação esses grupos laterais são alterados e a quitina torna-se quitosana. Em relação as propriedades

físico-quimicas, ela é um pó incolor, insolúvel em água, possui solventes orgânicos e se dissolve em ácidos minerais concentrados (ROBERTS, 1992).

As fontes principais para a obtenção de quitina em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos, como caranguejos e camarões. A remoção das proteínas e desacetilação da quitina, pode ocorrer através de uma solução alcalina (por exemplo, solução de hidróxido de sódio - NaOH), nesta reação os grupos acetamido (-NHCOCH<sub>3</sub>) são convertidos em grupos amino (-NH<sub>2</sub>), dando origem a quitosana (YOUNES e RINAUDO, 2015). No processamento de cascas de crustáceos, é realizado a retirada de proteínas e a dissolução do carbonato de cálcio (RAVI KUMAR, 2000) (Figura 2).

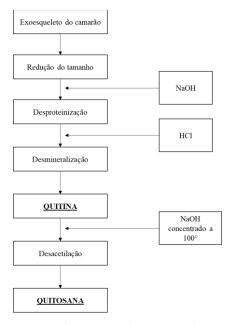


Figura 2. Esquema da desacetilação da quitina, que origina a quitosana (Adaptado de Streit, 2004).

A quitosana apresenta propriedades que a torna muito promissora para uso, pois alcança uma grande variedade de produtos e aplicações. Bem como sua utilização pode reduzir o seu impacto no meio ambiente, pois as carapaças de crustáceos em excesso que são descartadas são consideradas poluentes. Assim como, a sua molécula apresenta flexibilidade química, proporcionando um ótimo perfil biológico (KEAN; THANOU, 2010). Desta forma, este biopolimero pode ser utilizado em variados setores, como: na agricultura, farmacêutica, cosmética, biomédica, tratamento de poluentes industriais, no setor alimentício, entre outros (RINAUDO, 2006).

O potencial antibacteriano da quitosana, é uma de suas principais funções, e foi descoberto pela primeira vez por Allan e Hardwiger (1979). Através dos estudos pertinentes que foram surgindo com a utilização da quitosana, pesquisas relacionadas com

os benefícios que este produto poderia trazer a saúde animal começaram a aparecer. Fadel El-Seed et al. (2003), relataram um dos primeiros trabalhos que avaliou a digestão e degradação da quitosana em ruminantes, e foi observado que a quitosana não é degradada no rúmen, assim, provavelmente sua digestão ocorrerá no intestino delgado.

O grau de desacetilação, é uma das características mais importantes da quitosana e pode variar entre 40 a 95% dependendo da metodologia utilizada. Sendo um parâmetro fundamental a ser observado, uma vez que determina a quantidade de grupos amino presentes no biopolímero (KUMAR, 2000). Entretanto, existe dificuldade na obtenção da quitosana com elevado grau de desacetilação, isso por que, à medida que o grau aumenta, a probabilidade de degradação desta aumenta de forma similar (LE DUNG et al., 1994).

O grau de desacetilação da quitosana pode influenciar a sua atividade microbiana (KONG et al, 2008). Baseado nisso, Goiri et al. (2009b) utilizando seis diferentes graus de desacetilização da quitosana em ensaios "in vitro", conferiu que a quitosana reduz a digestão e modifica o padrão de fermentação ruminal, tornando rotas energeticamente mais eficientes. O grau de desacetilação >95, reduziu a relação CH4:AGCC, sugerindo melhoras na fermentação ruminal pelo aumento da relação acetato: propionato, aumentando a quantidade de energia obtida por unidade de substrato fermentado.

Avaliando o efeito da inclusão de quitosana sobre a população bacteriana em vacas suplementadas com dietas de grão de soja crua, Zanferari et al., (2018), observaram que a quitosana reduziu a população do grupo *Butyrivibrio*.

Goiri et al (2009a), avaliaram que a inclusão de quitosana na dieta de ruminantes mostrou efeitos sobre alguns parâmetros fermentativos no rúmen, indicando a ação da quitosana como um possível modulador ruminal, pois apresenta atividade antibacteriana. Segundo Helander et al (1998), o seu modo de ação está relacionado com a interação e a ruptura da estrutura da parede/membrana celular da bactéria com a quitosana.

Em trabalho de Mingoti et al. (2016), avaliando os efeitos de doses de quitosana (50, 100 e 150 mg / kg de PC) sobre a ingestão de MS e a digestibilidade dos nutrientes de vacas em lactação, foi observado que a inclusão da quitosana não influenciou o consumo de MS, mas elevou a digestibilidade da PB sem comprometer o desempenho produtivo dos animais. Já Dias et al. (2017), avaliando os efeitos da inclusão de doses crescentes de quitosana para novilhos em pastejo, observaram que as doses de quitosana influenciaram de forma positiva o consumo e a digestibilidade aparente da MS, assim como a concentração de propionato e a síntese de proteína microbiana em novilhos.

Avaliando o efeito de óleos essenciais, monensina e quitosana, Vendramini et al. (2016), observaram que a inclusão dos aditivos não influenciou a ingestão dos nutrientes, e que a inclusão de quitosana proporcionou maior digestibilidade da MS. Avaliando a produção de nitrogênio microbiano, Paiva et al. (2016) e Gandra et al. (2016) observaram que a inclusão de quitosana não influenciou quando testado em vacas em lactação, porém a quitosana reduziu o fluxo de nitrogênio microbiano em novilhas leiteiras.

Dias et al. (2017), trabalhando com novilhos em pastejo teve como objetivo determinar a influência de doses crescentes de quitosana, os resultandos mostraram que as diferentes doses do aditivo afetaram positivamente o consumo e a digestibilidade aparente da MS, assim como a concentração de propionato e a síntese de proteína microbiana em novilhos.

Considerando os resultados obtidos, a quitosana traz características e ações promissoras a nutrição animal, podendo ser utilizada como uma fonte de aditivo alternativo, otimizando a eficiência alimentar em ruminantes e trazendo vantagens no ponto de vista econômico devido a sua abundante matéria prima, com isto a necessidade de pesquisas se tornam cada vez mais necessárias com objetivo de melhorias na produção animal. Silva (2019b), avaliou doses crescentes de quitosana (0, 375, 750 e 1500 mg/Kg de MS) em novilhos confinados recebendo uma dieta de 85% de milho grão inteiro e 15% de pellet, observaram que na dosagem de 375 mg/Kg de MS, mostrou melhor desempenho da digestibilidade de nutrientes.

#### 2.4 Líquido da Castanha de Caju (LCC)

A castanha de caju como é conhecido o fruto do cajueiro, é composto de apenas uma semente que apresenta variação no seu comprimento e largura, a casca é coriácea lisa com mesocarpo alveolado repleto de líquido escuro próximo a cor preta, cáustico e inflamável, sendo chamado de líquido da casca da castanha de caju (LCC). Na parte interna da castanha é encontrada a amêndoa, que é composta por dois cotilédones carnosos e oleosos, que fazem parte da composição da parte comestível do fruto, sendo revestida por uma película em tons avermelhados (MAZZETTO et al., 2009). O líquido da casca da castanha de caju (LCC) é considerado um óleo funcional por causa de suas funções, além de aporte energético e características seletivas no organismo, representando 25% do peso da castanha (MURAKAMI et al., 2009; ROBERFROID,2000).

No processamento de obtenção da amêndoa, é isolado o LCC técnico, resultado da extração térmico-mecânica ou por solvente, que pode ser utilizado como matéria-prima na fabricação de inseticidas, germicidas, tinta entre outros. (LUBI e THACHIL, 2000; MITCHELL e MORI,

1987). Já o LCC natural obtido da extração a frio com prensa é considerado uma fonte rica de lipídios fenólicos não-isoprenóides e formado por uma combinação de quatro constituintes: ácidos anacárdicos (60-65%), cardóis (15-20%), cardanóis (10%) e metilcardóis (figura 4), (KUMAR et al., 2002). O LCC técnico possui especialmente cardanol e cardol, considerados menos potentes que o ácido anacárdico, e assim uma menor ação contra microrganismos (MAZZETTO et al., 2009).

Figura 3. Principais constituintes do líquido da casca da castanha de caju (Adaptado de Oliveira et al., 2011)

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

Os óleos funcionais são metabólitos secundários dos organismos vegetais, que são obtidos por destilação a vapor ou por extração com solventes (PATRA e SAXENA, 2010). Os extratos das plantas apresentam diversas propriedades, entre elas aromáticas, antissépticas e conservantes, o que acaba estimulando a pesquisa e utilização destes. Sendo assim, na literatura autores descrevem sobre a possibilidade de utilizar os aditivos alternativos na nutrição animal, devido suas características antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antifúngica, que são oriundas dos compostos secundários existentes nos óleos funcionais (BENCHAAR et al., 2008; CALSAMIGLIA et al., 2007; RASOOLI e ABYANEH, 2004).

Segundo KUBO et al. (2003) o modo de ação dos princípios ativos do óleo de caju demonstra que o ácido anacárdico apresenta ação sobre a membrana física das bactérias, ocasionando ruptura e inibindo a cadeia respiratória das bactérias. Os ácidos anacárdicos apresentam atividade antimicrobiana, principalmente em bactérias gram-positivas

(MUROI e KUBO, 1993). Pois, a redução de bactérias gram positivas pode ocasionar em reduções de acidose lática e timpanismo, beneficiando assim as bactérias gram negativas, que são produtoras de propionato, resultando assim em melhorias na eficiência dos processos fermentativos (WATANABE et al., 2010; NAGAJARA e TITGEMEYER, 2007). Devido atuar como aditivo, o líquido da casca da castanha de caju é considerado uma alternativa na alimentação animal, pois proporciona melhoria no metabolismo microbiano e favorece o aumento das concentrações de propionato no rúmen e, a digestibilidade total da dieta (MAIA et al., 2006; HESS et al., 2008).

Em estudo de Jesus et al. (2016), avaliando a substituição do óleo funcional pela monensina, foi observado que o LCC misturado com óleo de mamona não influenciou o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, porém alterou a fermentação ruminal para rotas que são energeticamente mais eficientes, elevando assim a produção de propionato e reduzindo a concentração de uréia no sangue. Já em trabalho de Martins et al. (2015), avaliando dietas de 58% de silagem de milho e 42% de concentrado, compostas de controle sem aditivos; 0,5 g/kg da MS de óleo funcional e 30 mg/kg da MS de monensina para vacas no terço médio de lactação, observaram que a inclusão do óleo funcional ocasionou em aumentos no consumo de matéria seca e de proteína quando comparado as demais dietas. Enquanto Osmari et al. (2017), trabalhando com novilhos da raça Holandesa, e alimentados com dietas ricas em grão e diferentes dosagens de LCC observaram que o aditivo não afetou a ingestão e digestibilidade total dos nutrientes, porém o LCC causou aumento no pH ruminal.

Nesse sentido, estudos sobre a utilização de aditivos alternativos na alimentação de ruminantes tem sido cada vez mais frequentes e são de suma importância, visto que com base nas características desses produtos eles podem vir a substituir os ionóforos. Nesse sentido, os óleos funcionais vêm apresentando ser uma boa opção para uso na alimentação animal, havendo assim a necessidade de mais estudo na bovinocultura de corte (SILVA, 2019c). Anschau et al. (2020), trabalhando com bovinos suplementados a pasto com diferentes dosagens de LCC, observaram que o aditivo não afetou a consumo de nutrientes e que na dosagem de 600 mg/Kg de MS apresentou melhor fermentação ruminal. Já Díaz et al. (2018), avaliando o efeito do LCC em ensaios in vitro com níveis crescente de concentrado, observaram que adição de LCC na dieta reduziu a produção de amônia e evitou reduções drásticas no pH ruminal.

#### 3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da inclusão de quitosana e líquido da castanha de caju (LCC) sobre a digestibilidade e parâmentros sanguíneos de bovinos de corte alimentados com dietas à base de grãos inteiros.

## 3.1 Objetivos específicos

- Avaliar o consumo e digestibilidade de bovinos alimentados com dietas de milho grão inteiro;
- -Avaliar os parâmetros de fermentação ruminal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), N-amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e pH;
  - Avaliar o balanço de compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, C, R; HADWIGER, L. A. 1979. The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying in cell wall composition. **Experimental Micology**, v. 3, p. 285-287, 1979.
- ANSCHAU, D, G. Líquido da casca de castanha de caju em suplemento para bovinos no período seco. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal da Grande Douradados, MS. 2020.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; FRASER, G.R.; COLOMBATTO, D.; McALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition ant production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p. 209-228.
- CALSAMIGLIA., S; BUSQUET. M; CARDOZO, P.W; CASTILLE, L; FERRET, A. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2580-2595.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. 2006. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300.
- DIAS, A. O. C; GOES, R. H.T.B; GANDRA, J. R; TAKIYA, C. S; BRANCO, A. F; JACAÚNA, A. G; OLIVEIRA, R.T; SOUZA, C. J.S; VAZ, M. S.M. 2017. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 73-80.
- DÍAZ, T, G.; BRANCO, A, F.; ÍTAVO, L, C, V.; SANTOS, G, T.; CARVALHO, S, T.; TEODORO, A, L.; OLIVEIRA, R, L. 2018. In vitro gas production kinetics and digestibility in ruminant diets with different levels of cashew nut shell liquid. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 39, no. 4, July-August, pp. 1669-1682.
- DIAZ, T.G.; TEODORO, A.L.; OSMARI, M.P.; SALAB, B.L.; MATOS, L.F.; GIOTTO, F. M. 2015. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 1-10.
- FADEL EL-SEED, A. N. M. A; KAMEL, H. E. M; SEKINE, J; HISHINUMA, M; HAMANA, K. 2003. Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 1, p. 161-163.
- FERRELI, F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CONEGLIAN, S.M.; GRANZOTTO, F.; BARRETO, J.C. 2010. Monensina sódica eSaccharomycescerevisiae em dietas para bovinos:fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.183-190.
- GANDRA, J.R., TAKIYA, C.S., OLIVEIRA, E.R., PAIVA, P.G., GOES, R.H.T.B., GANDRA, E.R.S., ARAKI, H.M.C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, andblood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **RevistaBrasileira de Zootecnia**.45, 130-137, 2016.
- GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUEZ, A.; OREGUI, L. M. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2-4, p. 276–287, 2009a.

- GOIRI, I.; OREGUI, L. M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose response effects of chitosan on "in vitro" rumen digestion and fermentation mixtures differing in forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, n. 2, p. 215-227, 2009b.
- HELANDER, I. M.; LATIVA-KALA K.; LOUNATMAA, K. Permeabilizing action of polyethyleneimine on Salmonella typhimurium involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. **Great Britain**, v. 144, n. 1 998, p. 385-390, 1998.
- HESS, B.W.; MOSS, G.E.; HULE, D.C.A. 2008. Decade of developments in the area of fatsupplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science**. v.86, p.188-204.
- HIMEJIMA, M.; KUBO I. Antibacterial Agents from the Cashew Anacardium occident ale (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.418-421, 1991.
- INSTRUÇÃO NORMATIVA 13/06. 2021. In: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos">http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos</a> Acesso em: junho de 2021.
- JESUS, E.F.; DEL VALLE, T.A.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; SILVA, G.G.; NETTO, A.S.; RENNO, F.P.2016. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Animal FeedScience and Technology**, v. 219 p. 1-32.
- KEAN, T.; THANOU, M. 2010. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 3-11.
- KONG, M.; CHEN, X. G.; LIU, C. S.; YU, L. J.; JI, Q. X.; XUE, Y. P.; CHA, D. S.; PARK, H. J. Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. **Frontiers of Materials Science in China**, v. 2, p. 214–220, 2008.
- KUBO, I., NIHEI, K., TSUJIMOTO, K. 2003. Antibacterial action of anacardicacids againstmethicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA). **Journal of Agricultural and FoodChemmistry**. v.51, p.7624-7628.
- KUMAR, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n.1, p. 1-27, 2000.
- KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J.; SURBBA RAO, P.V.; SRINIVASA RAO, A. 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut shell liquid. **Jounal os agriculture and food chemistry**, v. 50, p. 4705-4708.
- LE DUNG, P.; MILAS, M.; RINAUDO, M.; DESBRIÈRES, J. Water soluble derivatives obtained by controlled chemical modifications of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 24, n. 3, p. 209-214, 1994.
- LUBI, M. C.; THACHIL, E. T. 2000. Cashew nut shell liquid a versatile monomer for polymer synthesis. **Monomers and polymers**, v. 3, n. 2, p. 123-153.

- MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G. F.; CONEGLIAN, S.M.; SANTOS, G.T.dos.; MINELLA, T.F.; MACEDO, F. A.F. 2006. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras emlactação: Digestibilidades dos nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos. **RevistaBrasileira da Zootecnia**. v.35 n.4, Viçosa, p. 1496-1503.
- MARTINS, M.F.; SARAN NETTO, A.; LEME, P.R.; PINHEIRO, M.G.; TORRENT, J.; WELTER, K. C.; ARRUDA, I. 2015. Effects of funcional oils and monensin supplementation on ruminal fermentation and milk production and composition in Holstein cows under heat stress. **Journal of Animal Sciense**, v. 98, Suppl.2.
- MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741.
- MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. 2001. Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E194-E203.
- MILLEN D, PACHECO R, ARRIGONI M, GALYEAN M, VASCONCELOS J. A. 2009. snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**. 87(10):3427-39.
- MINGOTI, R. D; FREITAS, J. E; GANDRA, J. R; GARDINAL, R; CALOMENI, G. D; BARLETTA, R. V; VENDRAMINI, T. H.A; PAIVA, P. G; RENNÓ, F. P. 2016. Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 187, p. 35-39.
- MITCHELL, J. D.; MORI, S. A. 1987. The Cashew and its Relatives (Anacardium: Anacardiaceae). **The New York Botanical Garden**, v. 42, p. 1-76.
- MURAKAMI, A. E.; SILVA, L. M. G. S.; FAVERI, J.C.; TORRENT, J. 2009. Effects of functional oils on chickens challenged with coccidiosis. **Poultry Science**, (Suppl.1), 81-39.
- MUROI, H., KUBO, I. 1993. Bactericidal activity of anacardic acids against Streptococcusmutans and their potentiation. **Journal Agricultural and Food Chemiristry.** v.41, p.1780-1783.
- NAGAJARA, T.G. & TITGEMEYER, E.C.2007.Ruminal acidosis in beef cattle: thecurrent microbiological and nutritional outlook. **Journal of Daury Science**, v. 90, p.17-18.
- NAGARAJA, T. G; NEWBOLD, C. J; VAN NEVEL, C. J. Manipulation of ruminal fermentation, In: Hobson, P.N.; Stewart, C.S. (Eds). The rumen microbial ecosystem. **Blackie Academy & professional**, London.P. 523, 1997.
- OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. 2005. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v.6, n.11, p.1695-7504.
- OLIVEIRA, M. S. C.; MORAIS, S. M.; MAGALHÃES, D. V. 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **ActaTropical**, v. 117, p. 165-170.

- OSMARI, M.P.; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; DIAZ, T.G.; MATOS, L.F. 2017. 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(255) p. 373-379.
- PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; DEL VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F.; COSTA, A.G. B.V. B.; CONSENTINI, C. E. C.; ZANFERARI, F.; TAKIYA, C. S.; BUENO, I. C.S.; RENNÓ, F. P. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, andmilk yield and composition of dairy cows. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p.301, 2016.
- PATRA A.K.; SAXENA J. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1198-1222.
- PAULINO, P. V. R.; OLIVEIRA, T.S.; GIONBELI, M.P.; GALLO, S. B. Dietas semforragem para terminação de animais ruminantes. **Revista Científica de ProduçãoAnimal**, v.15, n.2, p.161-172, 2013
- PIRES, A.V. **Bovinocultura de corte**/ Alexandre Vaz Pires. Piracicaba: FEALQ, v. 1,760p. ilust. Color 28 cm, 2010.
- RASOOLI, I., ABYANEH, M.R. 2004. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by Aspergillus parasiticus. **Food Control**, v. 15 p. 479-483.
- RAVI KUMAR, M. N. V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27.
- RINAUDO, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, n. 7, p. 603-632.
- ROBERFROID, M.B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1660-1664.
- ROBERTS, G. A. F. 1992. Chitin chemistry. London: Mc Millan Press, p. 350-103.
- RODRIGUES, P. H. M., PEIXOTO, J.R.K.C.; FRANCO, S.C. 2007. Avaliação da monensina sódica administrada pela forma convencional ou por dispositivo de liberação lenta (bólus) em bovinos alimentados com forragens de baixo valor nutritivo esuplementados ou não com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 36(6):1937-1944.
- SANTANA, A.E. M.; NEIVA, J.N.M.; RESTLE, J.; SOUSA, L. F.; MIOTTO, F.R.C.; ALENCAR, W.M.; SILVA, R.O.; ARAÚJO, V.L. 2014. Feeding behavior of crossbred steersfed diets containing babassu mesocarp meal and corn in kernels or ground. **Revista Brasileira de Zootecnia** (Online) v. 43, p. 266-272.
- SENEL, S.; MCCLURE, S. J. 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1467-1480.
- SILVA, A. P. S. Efeito da monensina, da virginiamicinae dos óleos funcionais de mamona e caju em bovinos Nelore submetidos a mudança abrupta para dietas comelevado teor de concentrado. 2014. 103 f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) -Universidade de São Paulo, 2014a.
- SILVA, N. G. Uso de líquido da castanhade caju e quitosana em suplemento para bovinosa pasto. **Dissertação** (Mestrado) —Universidade Federal da Grande Dourados, MS. 2019c.

SILVA, T, I. Quitosana como aditivo em dieta degrãointeiro em bovinos. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal da Grande Dourados, MS. 2019b.

STREIT, F. 2004. Estudo do aproveitamento do bagaço da maçã para produção de quitosana fúngica. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 101.

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

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FORESTER, R. J.; KOBAYASHI, Y. 2010. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methaneenhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5258-5267.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. 2015. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. **Marine Drugs**, v. 13, p. 1133-1174.

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

#### **CAPÍTULO 2**

# QUITOSA E LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS À BASE DE GRÃOS PARA BOVINOS

Raquel Tenório de Oliveira<sup>1\*</sup>, Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Zootecnia, Faculdade de Ciência Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, Brasil.

<sup>2</sup>Docente da Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, Brasil.

Autor correspondente: <u>raqueltennorio@gmail.com</u>

**Resumo:** Propôs-se com este trabalho avaliar a adição do Líquido da Castanha de Caju técnico (LCCt) e da Quitosana como aditivos naturais para bovinos confinados rebendo dieta de milho grão inteiro. Foram utilizados cinco (5) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350 kg, distribuídos aleatoriamente em delineamento em quadrado latino 5x5 e mantidos em baias individuais, recebendo uma dieta constituida de 85% de milho grão inteiro e 15% de pellet proteico-mineral-vitaminico. As dietas experimentais foram acrescidas de monensina (25 mg/Kg de MS); quitosana (375 mg/Kg de MS); LCCt (500mg/kg de MS); quitosana + LCCt (375mg + 500mg/kg de MS); além da dieta controle. Os animais alimentados com a associação de LCCt+QUI apresentaram menor consumo de MS e PB e maior coeficiente de digestibilidade em comparação ao tratamento com monensina. A inclusão de LCCt+QUI na dieta levou a uma redução na concentração molar de acetato e uma maior produção de propionato. Não houve efeito para a inclusão dos aditivos, na síntese de nitrogênio, proteína microbiana e nas concentrações de ureia e creatinina no sangue e na urina. A associação dos aditivos LCCt+QUI promoveu redução no consumo de nitrogênio e balanço de nitrogênio em relação ao tratamento com monensina. A associação entre quitosana e líquido da castanha de caju, apresentou os melhores resultados em dietas de milho grão inteiro, podendo substituir a monensina.

**Palavras-Chave:** aditivos alternativos, biopolímero, ruminantes, metabolismo ruminal, cardol, cardanol.

**Abstract** The aimed of this work was to evaluate the addition of technical Cashew Nut Liquid (CNLt) and Chitosan as natural additives for confined cattle fed whole grain corn diet. Five (5) rumen-cannulated crossbred steers with an average weight of 350 kg were used, randomly distributed in a 5x5 Latin square design and kept in individual pens, receiving a diet consisting of 85% whole grain corn and 15% protein mineral-vitamin pellet. The experimental diets were added with monensin (25 mg/kg of DM); chitosan (375 mg/kg MS); CNLt (500mg/kg MS); chitosan + CNLt (375mg + 500mg/kg of MS); in addition to the control diet. The animals fed with the association of CNLt+CHI had lower consumption of DM and CP and higher coefficient of digestibility compared to the treatment with monensin. The inclusion of CNLt+CHI in the diet led to a reduction in the molar concentration of acetate and a greater production of propionate. There was no effect for the inclusion of additives, on the synthesis of nitrogen, microbial protein and on the concentrations of urea and creatinine in blood and urine. The association of CNLt+CHI additives promoted a reduction in nitrogen consumption and nitrogen balance in relation to the treatment with monensin. The association between technical cashew nut liquid and chitosan showed the best results in whole grain maize diets, being able to replace monensin.

**Keywords:** alternative additives, biopolymer, ruminants, rumen metabolism, cardol, cardanol.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos alimentares é uma estratégia muito utilizada para prevenir o desenvolvimento de desordens digestivas como a acidose, já que ajudam a manter o equilíbrio do ambiente ruminal, favorecendo o aproveitamento dos nutrientes da dieta. Aditivos como os ionóforos têm sido usados com sucesso na prevenção de distúrbios metabolicos, pois podem inibir o crescimento das bactérias produtoras de ácido lático, ajudando a regular o pH ruminal, além de controlar a produção de metano no rúmen, reduzindo o gasto de energia.

Entretanto, as maiores exigências do consumidor em relação à segurança alimentar restringiram a utilização de antibióticos ionóforos na alimentação animal. Assim, é necessário a busca de aditivos alternativos que sejam capazes de produzir efeitos positivos sobre a fermentação ruminal e que melhorem os índices zootécnicos dos animais.

Desta forma, vem se estudando a potencialidade antimicrobiana de compostos naturais como a quitosana e o líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt) por serem considerados aditivos alternativos que podem melhorar o metabolismo microbiano, as características da fermentação ruminal e a digestibilidade total da dieta em animais ruminantes.

A quitosana (polímero N-acetil-D-glicosamina) é um biopolímero natural derivado da desacetilação da quitina, sendo o componente principal do exoesqueleto de crustáceos (SENEL et al., 2004). Goiri et al. (2009), observaram que a inclusão de quitosana na dieta de ruminantes mostrou efeitos sobre alguns parâmetros fermentativos no rúmen, indicando a ação da quitosana como um possível modulador ruminal, pois apresenta atividade antimicrobiana.

O líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt) é considerado um óleo funcional por causa de suas funções, além de aporte energético e características seletivas no organismo (Murakami et al., 2009). O LCC natural é considerado uma fonte rica de lipídios fenólicos não-isoprenóides e formado por uma combinação de quatro constituintes: ácidos anacárdicos (60-65%), cardóis (15-20%), cardanóis (10%) e metilcardóis (Kumar et al., 2002). Já o LCC técnico possui especialmente cardanol e cardol (Mazzetto et al., 2009). Por suas características químicas, o LCCt pode ser capaz

de influenciar positivamente a digestibilidade da dieta e induzir mudanças sobre os produtos finais da fermentação, assim como com a regulação do pH ruminal.

No entanto, as pesquisas com animais ruminantes incluindo a quitosana e o LCC como aditivo na dieta, ainda são escassas. Mesmo que tenham sido apresentados resultados favoráveis, em termos produtivos e mudanças no metabolismo ruminal, estes efeitos ainda não estão bem caracterizados, existindo a necessidade de estudar o metabolismo de animais ruminantes.

Baseado neste contexto, objetivou-se avaliar uso do LCCt e da quitosana em associação, como aditivos naturais para bovinos confinados recebendo deita à base de grãos.

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Local, animais e tratamentos

A presente pesquisa foi desenvolvida conforme os princípios estabelecidos pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados (protocolo de aprovação: 023/2015 CEUA / UFGD). O ensaio experimental de campo foi realizado no setor de Nutrição de Ruminantes da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), entre os meses de setembro a novembro de 2019. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal no Laboratório de avaliação de co-produtos de (LAPAC/FINEP).

Foram utilizados 5 novilhos mestiços (Holandês/ Zebu) com 18 meses de idade, castrados e com o peso corporal médio de 350 kg providos de cânula ruminal permanente. Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas de 8 m² (2x4m), de piso de concreto, contendo comedouro e bebedouros individuais e distribuídos aleatoriamente em quadrado latino 5x5. Cada período experimental foi constituído com 19 dias experimentais, sendo 10 dias de adaptação às dietas e 9 dias de coleta de dados.

As dietas utilizadas foram compostas por 15% de pellet proteico-mineral-vitaminico e 85% de milho inteiro (Tabela 1). As dosagens de quitosana foram de acordo com Silva (2019) e o líquido da castanha de caju segundo Vieira (2017). Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos: (CON), tratamento controle; (MON), tratamento composto por monensina na dosagem de 25 mg/Kg de MS; (QUI); tratamento composto por quitosana na dosagem de 375 mg/Kg de MS; (LCCt), tratamento composto por líquido da casca de castanha de caju técnico na dosagem de 500 mg/Kg de

MS; (LCCt+QUI), tratamento composto por líquido da casca de castanha de caju técnico na dosagem de 500 mg/ Kg de MS mais quitosana na dosagem de 375 mg/Kg de MS.

A quitosana foi adquirida pela empresa Polymar®, Fortaleza, Brasil (≥850g / kg de grau de desacetilação, 0,32g / mL de densidade, pH 7,90, viscosidade <200cPs, cinza total 1,35g / 100g e perda na secagem 9,3g / 100g).

A análise química do LCCt foi realizada por Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (modelo Varian 210) Detector de Arranjo de Diodo (DAD) e software Star WS (estação de trabalho 2.0). A coluna utilizada foi de fase reversa C18 (25 cm x 4,6 mm x 5 µm) (Phenomenex). A eluição foi realizada usando sistema gradiente de acetonitrila / água / ácido acético (66/33/2 v: v: v) (A) e tetrahidrofurano (B), que iniciou a eluição com 10% B e em 40 minutos atingiu 100% B. a vazão da bomba foi de 1mL / min e o volume injetado foi de 20µL. A análise foi realizada a 22°C, tanto na preparação da curva analítica quanto na análise do produto, e as injeções foram realizadas em triplicata. O produto foi solubilizado em acetonitrila / água (66 / 35v: v) proporcionando uma concentração final de 1000 µg / mL. As curvas padrão externas empregadas para quantificar ácido anacárdico, cardanol, 2-metilcardol e cardol no produto LCC foram preparadas empregando compostos de pureza de 97% nas concentrações de 10-100 μg / mL. Os resultados foram expressos em mg / g de amostra obtida a partir de uma curva de padronização externa com um coeficiente de correlação de 0,9992 para todos os compostos analisados. O LCCt apresentou a seguinte composição: 10.03 mg/g ácido anarcárdico; 540.77 mg/g cardanol; 102.34 mg/g cardol e 19.17 mg/g 2-methylcardol.

As dietas fornecidas e as sobras, foram pesadas diariamente e os animais arraçoados três vezes ao dia às 8:00, 12:00 e às 16:00 horas de acordo com o consumo de matéria seca do dia anterior, de forma ser mantido um porcentual diário de excedente da dieta, entre 5 e 10% para que não haja limitação de consumo. As duas porções constituintes da ração, foram misturadas no cocho e fornecidas na forma de dieta completa.

Para determinação da degradabilidade *in situ* do pellet proteico-vitamínico-mineral, foram utilizados três bovinos, com peso médio de 350 kg providos de cânula ruminal. Todas as amostras foram preparadas segundo as recomendações propostas por Nocek (1988), pesados (0,5g) e introduzido em saquinhos de TNT (5x5cm;100g/m2), e introduzidos diretamente no rúmen em ordem descrescente nos tempos de 48, 24, 18, 6, 3 e 0 horas NRC (2001), em duplicata por tempo de incubação.

Os parâmetros de degradação foram estimados conforme 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 determinado segundo I=100 - (a+b).

Para a determinação da solubilidade de N (Figura 4), 2g da amostra foram acondicionadas em becker com 500 ml de capacidade. Em seguida, foi adicionado o líquido ruminal (200 mL) e levadas ao banho-maria (39°C) com agitação constante; por um tempo total de 360 minutos; sendo que uma alíquota (em duplicata) de 2 mL foi retirada do sobrenadante nos tempos 0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos. A determinação dos teores de N-NH<sub>3</sub> foi realizada conforme o método INCT-CA N-007/1, descrito por Detmann et al. (2012), sem digestão ácida e utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N), após centrifugação prévia da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos.

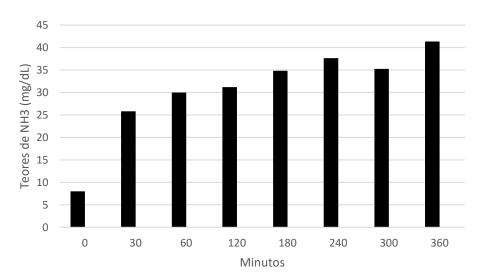


Figura 4. Valores de Nitrogênio aminiacal (N-NH<sub>3</sub> -mg/dL) do pellet-proteico-mineral-vitamínico.

#### 2.2 Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total

A consumo de matéria seca foi determinada na diferença entre a quantidade da dieta ofertada e na coleta das sobras e também com base na excreção fecal total de MS. Para determinação diária da excreção fecal de MS, o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) foi fornecido no rúmen via cânula, por dez dias consecutivos, com adaptação ao indicador externo de cinco dias e cinco dias para a coleta (Ferreira et al. 2009). O indicador dióxido de titânio foi acondicionado em cartuchos de papel, seu fornecimento iniciava no segundo dia de cada período experimental, sendo fornecidos 5g/dia ás 08h00min.

As amostras fecais (200g) foram coletadas, a partir do 7° dia, diretamente no reto dos animais uma vez por dia em diferentes horários (08h00min, 10h00min, 12h00min, 14h00min e 16h00min) e acondicionadas em bandejas de plásticos, onde foram identificadas e transportadas para o Laboratório de Nutrição Animal e colocadas em estufa à 55° C. Ao final de cada período foi realizado uma amostra composta por animal, retirando-se uma amostra de cada animal por período.

As concentrações de TiO<sub>2</sub>, foram analisados por espectrofotometria UV/Vis, conforme metodologia descrita por Myers et al. (2004), adaptado por Costa (2018). Para a determinação da produção fecal foi utilizada a fórmula: (EF = OF/COF. Em que: EF = Excreção Fecal diária (g/dia); OF = dióxido de titânio fornecido (g/dia) e COF = Concentração de dióxido de titânio nas fezes (g/g MS).

Para avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS: método 930.15), proteína bruta (PB: Nx6,25; método 984.13) e matéria mineral (MM: método 942.05) conforme metodologias da AOAC (1991). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) Van Soest et al. (1991) e amido conforme descrito por Hendrix (1993), foram calculados o consumo total de nutrientes e a excreção fecal dos mesmos.

Para determinação da excreção de grão de milho nas fezes, amostras fecais foram coletadas do reto de cada bovino no período da manhã, entre os horários das 9:00 às 11:00 horas, no 16° dia de cada período. Foi realizada pesagem de aproximadamente 300g de fezes em balança analítica, as amostras foram submetidas à lavagem em peneira (Granutest, 2,00 mm, Tyler 9, ABNT 10) de 2 mm com água corrente, as partículas de grão de milho foram coletadas manualmente, pesadas e levadas para estufa com circulação forçada de ar (55°C por 72horas).

#### 2.3 Fermentação ruminal

No 19° dia, de cada período experimental foram coletadas manualmente amostras para determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal (NAR) e ácidos graxos de cadeia curta, imediatamente antes do fornecimento da dieta e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento da dieta, na interface líquido/sólido do ambiente ruminal. Amostras de líquido foram coletadas utilizando uma camada tripla de gaze para filtrar o líquido.

O pH foi determinado imediatamente após a coleta, utilizando um pHmetro digital portátil (Meta Química, Meta 210P). Alíquotas (10-20 mL) dessas amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos e coletado 1800uL de sobrenadante, sendo

misturadas com 100 uL de uma solução de ácido orto-fosfórico a 20%, todas as amostras foram congeladas para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta. Para determinação do nitrogênio amoniacal, foi separada uma alíquota de 40 mL fixada a 1 ml de HCl 1:1, congelada a -18°C para posterior análise.

A determinação dos teores de N-NH<sub>3</sub> foi realizada conforme o método INCT-CA N-007/1, descrito por Detmann et al. (2012), sem digestão ácida e utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N), após centrifugação prévia da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos.

As amostras para determinação de AGCC, foram encaminhadas para o Laboratório em São Carlos/SP. Na qual, alíquotas (1600 µL) dessas amostras foram misturadas com ácido metanóico (400  $\mu$ L; 98–100% H<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>), sendo centrifugadas a 7000  $\times$  g por 15 min at 4 °C, e o sobrenadante de cada amostra foi congelado para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Os AGCC do líquido ruminal foram determinados por cromatografia gasosa utilizando um cromatógrafo Shimadzu© GC-2010 Plus equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DA<sup>TM</sup> (30m, 0,25mm ID, 0,25µm df, Restek©) e detector de ionização de chama (FID), após acidificação das mesmas com 1 M de ácido ortofosfórico p.a. (Ref. 100573, Merck©) e fortificação com mistura de ácidos voláteis livres (Ref. 46975, Supelco©). Após esse procedimento, uma alíquota de 1µL de cada amostra foi injetada com taxa de split de 40:1, utilizando hélio como gás de arraste à velocidade linear de 42 cm.s<sup>-1</sup>, obtendo-se a separação dos analitos em uma corrida cromatográfica de 11,5 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, 250°C e 300°C e temperatura inicial da coluna de 40 °C. A rampa de temperatura da coluna se iniciou com um gradiente 40 até 120 °C à taxa de 40 °C.min<sup>-</sup> <sup>1</sup>, seguido de um gradiente de 120 até 180 °C à taxa de 10 °C.min<sup>-1</sup> e de 180 a 240 °C à taxa de 120 °C.min<sup>-1</sup>, mantendo-se a temperatura a 240 °C por mais 3 minutos ao final. Para a quantificação dos analitos, uma calibração do método foi feita com diluições do padrão WSFA-2 (Ref. 47056, Supelco©) e de ácido acético glacial (Ref. 33209, Sigma-Aldrich©) analisadas sob as condições descritas acima. A determinação e a integração dos picos foram feitas utilizando-se o software GCsolution v. 2.42.00 (Shimadzu©).

A produção de metano (mM/L) foi calculada segundo Moss et al. (2000) = 0.45 (C2) -0.275 (C3) +0.4 (C4).

#### 2.4 Síntese de proteína microbiana

A coleta de urina foi realizada no 18° dia de cada período experimental na forma "spot", quatro horas após o fornecimento do suplemento, em micção espontânea dos animais (Chizzotti et al. 2006). Para à determinação da concentração de creatinina, ureia, ácido úrico e alantoína, foi separada uma alíquota com 10 mL de urina diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), para evitar a degradação de derivados de purinas e a precipitação do ácido úrico. A segunda alíquota de 40 ml foi armazenada em 1 mL de ácido sulfúrico (36N) e analisada para à determinação da concentração de N total urinário. Todas as amostras foram identificadas e congeladas imediatamente a -18°C para posterior análise.

A determinação da alantoína foi realizada pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para a determinação da concentração de creatinina e ácido úrico foram utilizados kits comerciais (Labtest, Lagoa Santa, Brasil; Gold Analisa Diagnostica Ltda, Belo Horizonte, Brasil).

A soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressas em mmol/dia, foi utilizada para calcular a excreção total de derivados de purina (DP). As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: DP = 0,85\*Pabs + 0,385\*PC<sup>0,75</sup>, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,385 PC<sup>0,75</sup>, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al. 1990).

O volume total urinário foi determinado por intermédio da relação entre concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se como padrão o valor de 27,36 mg/kg PC (Rennó et al. 2000). As excreções diárias de N-ureia e N-creatinina forão obtidas por meio do produto das concentrações de ureia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715, correspondente aos teores de N na ureia e creatinina, respectivamente. A partir da excreção média diária de creatinina, obtida no experimento em mg/kg PC/dia, e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra *spot* de urina, será estimado o volume diário de urina: VU (l/dia) = (27,36 x PC) / [creatinina], onde 27,36 representa o valor da excreção diária média de creatinina, em ppm PC, obtido por Rennó et al. (2000) em novilhos cruzados e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina *spot* dos animais.

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido e o total excretado na urina e fezes. As concentrações de N nas

amostras de fezes e urina foram determinadas segundo o sistema micro Kjeldahl. A partir destes valores, proceder-se o cálculo para quantificação do nitrogênio retido (NRet), descontando-se do BN o valor estimado da exigência para nitrogênio endógeno basal (NEB), que considera o N endógeno tecidual e as perdas dérmicas de N como 0,35 e 0,018 do peso metabólico, respectivamente.

#### 2.5 Metabolismo da ureia e creatinina

No 17° dia experimental, quatro horas após o fornecimento do suplemento, ocorreu a coleta de sangue via punção da veia caudal, utilizando-se heparina como anticoagulante. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos para separação do sobrenadante sérico, identificadas e armazenadas a -18°C. A determinação da ureia e creatinina plasmática foi realizada através de kit comercial (Gold Analisa® Diagnostica Ltda).

#### 2.6. 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:  $Y_{ijl} = \mu + A_i + P_j + D^l + e_{rijl}$ ; onde  $Y_{ijl} = variável dependente$ ,  $\mu = média geral$ ,  $A_i = efeito de animal (i = 1 a 5)$ ,  $P_j = efeito do período (j = 1 a 5)$ ,  $D_l = efeito da dieta e <math>e_{ijl} = erro$  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: Yijk =  $\mu$  +  $A_i$  +  $P_j$  +  $D_k$  +  $T_y$ +  $T_y$  (Dk)  $e_{ijk}$ ; onde:  $Y_{ijyk}$  = variável dependente,  $\mu$  = media geral,  $A_i$  = efeito de animal (i = 1 a 5),  $P_j$  = efeito do período (j = 1 a 5),  $D_k$  = efeito do tratamento (k =1 to 5),  $T_k$  = efeito do tempo (k =1 a 5),  $T_y$  (Dk) = interação entre dieta e tempo e eijk = 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

Os animais suplementados com quitosana e LCCt +QUI apresentaram menor consumo de: matéria seca (CMS), proteína bruta (CPB) e fibra em detergente neutro (CFDN). O tratamento com a inclusão de quitosana apresentou menor digestibilidade, já o tratamento com LCCt+QUI apresentou maior digestibiladade do amido em comparação aos animais que receberam monensina (Tabela 2).

Houve efeito (P<0,05) para a excreção de grão de milho inteiro nas fezes no tratamento com inclusão de quitosana e LCC+QUI, sendo 26,82 e 24,16%, respectivamente.

A associação com LCCt+QUI, reduziu os teores de nitrogênio amoniacal, aumentou a concentração de propionato, reduziu a concentração molar de acetato e apresentou menor concentração de metano em relação a monensina (Tabela 3).

Os aditivos utilizados na dieta dos animais não afetaram (P>0,05) as concentrações de alantoína, ácido úrico, purinas totais, purinas absorvidas (mmol/dia) e nitrogênio microbiano (g/dia) e proteína microbiana (Tabela 4).

Os novilhos suplementados com LCC\*QUI, apresentaram menor consumo de nitrogênio e balanço de nitrogênio retido em comparação ao tratamento com monensina (Tabela 5).

A inclusão de aditivos na dieta dos animais não afetou (P>0,05) as concentrações de ureia e creatinina na urina e sangue (mg/dL), como também não alterou as excreções de ureia, creatinina (mg/kg PV) e excreção fracional (%) de ureia (Tabela 6).

## 4. DISCUSSÃO

A associação dos aditivos LCCt\*QUI, apresentou redução do consumo de MS, PB e FDN, no entanto, mostrou efeito na digestibilidade dos novilhos, pois apresentou valores superiores em relação a monensina. Essa associação favoreceu os microrganismos do rúmen, melhorando a colonização nas partículas do alimento e consequentemente um melhor aproveitamento dos nutrientes pelo o animal. A possível alteração nos parâmetros fermentativos e as prováveis modificações nas proporções de produtos finais da fermentação pela ação dos aditivos, podem resultar em menor consumo de alimentos (Allen, 2000).

A inclusão de LCC\*QUI proporcionou uma redução na concentração molar de acetato e metano em relação aos demais tratamentos e maior produção de propionato. As alterações nos produtos finais da fermentação, provocado pelo efeito de aditivos, modificam a população ruminal, devido a inibição de bactérias gram positivas (McGuffey et al., 2001), acometendo diferentes bactérias de diferentes maneiras.

A redução do consumo de MS e maior produção de propionato observados para a inclusão de LCCt\*QUI, está relacionado com os efeitos da monensina, pois, segundo Araújo et al., (2006), a monensina causa redução no consumo de alimento, devido a maior eficiência do uso da energia que é produzida durante a degradação, melhora o desempenho dos animais, promove alteração nas proporções de acetato: propionato e causa aumento na eficiência ruminal, consequência da redução na produção de ácido láctico em condições que podem ocasionar em acidose, bem como ocorre redução na viscosidade do fluido ruminal em animais com timpanismo e devido a estabilização do ambiente ruminal, melhoria no desempenho e proteção do trato gastrointestinal pelos agentes patogênicos.

Os valores de pH ruminal dos tratamentos, encontrados neste trabalho, estão de acordo com a variação de 6,2 a 7,1, proposta por Orskov (1988) e Russell & Wilson (1996), sendo estes, valores considerados ideais para sustentar a digestão da fibra e motilidade do rúmen, através da máxima atividade dos microrganismos.

Pesquisas recentes com líquido de castanha de caju e quitosana também não encontraram diferenças no pH ruminal (Dias et al. 2017; Jesus et al. 2016). A regulação do pH ruminal, pode estar relacionado a ação antimicrobiana dos aditivos naturais, promovendo o crescimento de microrganismos Gram-negativos, consideradas principais bactérias utilizadoras do lactato como substrato energético (Watanabe et al. 2010; Kozloski, 2011).

Os valores de N-amoniacal encontrados neste trabalho foram acima de 10 mg/dL, estando de acordo com o valor mínimo ideal citado por Satter & Slyter (1974) de 5 mg N-NH3/100 mL. Segundo Van Soest (1994), teores de N-NH3 inferiores a 13 mg/100 mL no rúmen podem afetar a disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos, comprometendo a ingestão e digestibilidade da fibra. Em dietas com energia prontalmente disponível no rúmen podem levar a uma utilização mais eficiente do nitrogênio amoniacal (Chamberlain et al., 1993; Van Soest, 1994) e muitas vezes reduzem os níveis de amônia no rúmen.

A manutenção adequada de N-NH<sub>3</sub> no rúmen é necessária para garantir o crescimento bacteriano, sendo que 40 a 100% do nitrogênio exigido pelos microrganismos pode ser derivado do nitrogênio amoniacal (Stern; Hoover, 1979). Entretanto, o aumento da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal é indicativo de perdas protéicas.

O tratamento LCCt\*QUI fornecidos na dieta, apresentou menor consumo de nitrogênio levando a uma menor excreção N fecal em relação aos demais tratamentos. Os

animais que receberam a associação dos aditivos em sua alimentação apresentaram menor consumo de proteína bruta da dieta comparado com a monensina e em relação aos demais tratamentos, este resultado pode ter influenciado no seu balanço de nitrogênio. A relação entre o N excretado pelas vias urinária e fecal podem ser influenciados pelos teores de PB da ração, consumo de nitrogênio e do tipo de fonte de nitrogênio (Zeoula et al. 2003).

Neste trabalho, os tratamentos não influenciaram os resultados das concentrações de ureia e creatinina na urina e sangue. Segundo Chizzotti ela t. (2006) a dieta ofertada ao animal tem pouca influência na excreção urinária de creatinina, mas, as suas variações na excreção são afetadas de acordo com a taxa de crescimento dos animais.

## 5. CONCLUSÃO

A inclusão de quitosana e associação entre líquido da castanha de caju técnico e quitosana apresentou melhores resultados em dietas de milho grão inteiro, podendo substituir a monensina.

# 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allen, MS, 2000. Effects of Diet on Short-Term regulation of feed Intake by lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 83, 1598-1630. <a href="https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2">https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2</a>

AOAC, 1990, Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. **AOAC International,** Arlington, VA.

Araújo, JS, Perez, JRO, Paiva, PCA, Peixoto, ECTM, Braga, GC, Oliveira, V, Valle, LCD, 2006. Efeito da monensina sódica no consumo de alimentos e pH ruminal em ovinos. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.1, p.39- 43. http://dx.doi.org/10.5380/avs.v11i1.5619

Chamberlain, DG, Robertson, S, Choung, JJ, 1993. Sugar versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purines derivatives, in sheep. **Journal of the Science of Foof and Agriculture**, v.63, p. 189-194.

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, ML, Valadares Filho, SC, Valadares, RFD, Chizzotti, FHM, Campos, JMS, Marcondes, MI, Fonseca, MA, 2006. Intake, digestibility and urinary excretion of urea and purine derivatives in heifers with different body weights. **R. Bras. Zootec.** 35, 1813–1821. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000600032

Correia, SJ, David, JP, David, JM, 2006. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova,** v. 29, p. 1287-1300. <a href="http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000600026">http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000600026</a>

Costa, M.C.M. Metodologias para estimativas de consumo de forragem em ovinos. **Dissertação** (mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Detmann, E, Souza, MA, Valadares Filho, SC, Queiroz, AC, Berchielli, TT, Saliba, EOS, Cabral, LS, Pina, DS, Ladeira, MM, Azevedo, JAG, 2012. Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: **Suprema**, 214.

Dias, A O C, Goes, RHTB, Gandra, JR, Takiya, CS, Branco, AF, Jacaúna, AG, Oliveira, RT, CJS, Vaz, MSM, 2017. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrientintake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogenutilization. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 225, 73-80. <a href="https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015">https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.015</a>

Ferreira, MA, Valadares Filho, SC, Marcondes, MI, Paixão, ML, Paulino, MF, Valadares, RFD, 2009. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **R. Bras. Zootec.** 38, 1568-1573. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800022

Fujihara, T, Orskov, ER, Reeds, PJ, Kyle, DJ, 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. https://doi.org/10.1017/S0021859600080916

Goiri, I, Rodriguez, AG, Oregui, LM, 2009. Effect of chitosans on in vitro rumen digestion and fermentation of maize silage. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 148, 276–287. <a href="https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007">https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.007</a>

Hendrix, DL, 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**. v.33, n.6, p.1306-1311. https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300060037x

Jesus, EF, Del Valle, TA, Calomeni, GD, Silva, TH, Takiya, THA, Vendramini, PG, Paiva, PG, Silva, GG, Netto, AS, Rennó, FP, 2016. Influence of a blend of functional oils or monensin onnutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 214, 12-21. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.003

Kong, M, Chen, XG, Xing, K, Parque, HJ, 2010. Antimicrobial propriedades de quitosana e modo de ação: um estado de arte avaliação. Int. **J. Food Microbiol.** 144, 51-63.

Kozloski, G.V. Bioquímica dos ruminantes. 3ed. Santa María: UFSM. 2011. 212p.

Kumar, PP, Paramashivappa, R, Vithayathil, PJ, Surbba Rao, PV, Srinivasa Rao, A, 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (Anacardium occidentale L.) nut shell liquid. **Jounal os agriculture and food chemistry.** 50, 4705-4708. <a href="https://doi.org/10.1021/jf020224w">https://doi.org/10.1021/jf020224w</a>

Mazzetto, SE, Lomonaco, D, Mele, G, 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017

Mcguffey, RK, Richardson, LF, Wilkinson, JID, 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.194–203. <a href="https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4">https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4</a>

Moss, A, Jouany, JP, Newbold, J, 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. http://dx.doi.org/10.1051/animres:2000119

Murakami, AE, Silva, LMGS, Faveri, JC, Torrent, J, 2009. Effects of functional oils on chickens challenged with coccidiosis. **Poultry Science**, (Suppl.1), 81-39.

Myers, W.D., Ludden, P.A., Nayigihugu, V., Hess, B.W., 2004. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **J. Anim. Sci.** 82, 179-183. <a href="http://dx.doi.org/10.2527/2004.821179x">http://dx.doi.org/10.2527/2004.821179x</a>

Nocek, JE. 1988. *In situ* and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79781-7

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

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

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. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048

Rennó, LN, Valadares, RF, Valadares Filho, SC, Leão, MI, Silva, JFC, Cecon, PR, Gonçalves, LC, Dias, HLC, Linhares, RS, 2000. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **R. Bras. Zootec.** 29, 1235-1243. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982000000400038

Russell, JB, Wilson, DB, 1996. Why are ruminal cellulolitic bacteria unable to digest cellulose at low Ph. J. of Dairy Sci. 79, 1503-1509. <a href="http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4">http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4</a>

Satter, LD, Slyter, LL, 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, p.199-208.

Senel, S, Mcclure, SJ, 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1467-1480. <a href="https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.007">https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.007</a>

Shinkai, T, Enishi, O, Mitsumori, M, 2012. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v. 95 p 5308–531. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5554

Silva, TI, 2019. Quitosana como aditivo em dieta degrãointeiro em bovinos. **Dissertação** (Mestrado) — Universidade Federal da Grande Dourados, MS.

Stern, MD, Hoover, WH, 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. **Journal of Dairy Science**, v.49, p. 1590-1603. <a href="https://doi.org/10.2527/jas1979.4961590x">https://doi.org/10.2527/jas1979.4961590x</a>

Van Soest, PJ, 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 476.

Van Soest, PJ, Roberttson, JB, Lewis, BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutraldetergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition, **Journal of dairy Science**, v.74, p.3583-3597. <a href="https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2">https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2</a>

Verbic, J, Chen, XB, Macleod, NA, Ørskov, ER, 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. <a href="https://doi.org/10.1017/S0021859600072610">https://doi.org/10.1017/S0021859600072610</a>

Vieira, ERQ, 2017. Avaliação do líquido da casca da castanha de caju e quitosana como aditivo para ruminante. **Dissertação** (Mestrado) — Universidade Federal da Grande Dourados, MS.

Watanabe, Y, Suzuki, R, Koike, S, Nagashima, K, Mochizuki, M, Forster, RJ, Kobayashi, Y, 2010. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **J. Dairy Sci.** 93, 1-11. <a href="https://doi.org/10.3168/jds.2009-2754">https://doi.org/10.3168/jds.2009-2754</a>

Zeoula, LM, Caldas Neto, SF, Geron, LJV, Maeda, EM, Prado, IN, Dian, PHM, 2003. Substituição do milho pela farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) em rações de ovinos: consumo, digestibilidade, balanços de nitrogênio e energia e parâmetros ruminais. **R. Bras. Zootec.** 32, 491-502. <a href="http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000200030">http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000200030</a>

56,34

49,89

Tabela 1. Proporção, composição química e degradabilidade potencial e efetiva dos ingredientes.

	Proporção da dieta					
Ingredientes	Concentrados (g/Kg deMS)					
Milho inteiro	850					
Pellet	150					
	Composição química (g/kg de MS)					
Milho grão inteiro Pello						
MS %	95,24	91,21				
MO %	93,88 73,45					
PB %	8,19 39,47					
FDN %	65,07	37,29				
FDA %	4,96					
DP (%)	-	80,93				
DE 2%	- 70,90					

<sup>1</sup>Engordim Grão Inteiro 38® - Suplemento proteíco, mineral e vitamínico peletizado (Agrocria Comércio e Indústria LTDA) -Níveis de garantia :Ca-43g/kg; P-10g/kg; S-4g/kg; Mg-0,7g/kg; K-2,7g/kg; Na-9,7g/kg; Co5mg/kg; Cu-175mg/kg; Cr-1,4mg/kg; F-130mg/kg; I-5mg/kg; Mn-182mg/kg; Mo-0,35mg/kg;Ni0,3mg/kg; e-1,8mg/kg; Zn-421mg/kg;VitA-21.000U.I; Vit.D-3.000U.I; Vit.E-140U.I; Virginiamicina-150mg/kg; <sup>2</sup>MS = matéria seca, MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta, FDN = fibra em detergente neutro e FDA = fibra em detergente ácido, DE = degradação potencial, DE 2% =

**DE 5%** 

**DE 8%** 

Tabela 2. Valores médios de consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes de acordo com as dietas experimentais.

	Dietas experimentais						Valor de P			
	CON	QUI	LCCt	LCCt*QUI	MON	_	Dieta			
Consumo (kg/dia)										
CMS	$7.46^{a}$	7.23 <sup>ab</sup>	$8.09^{a}$	6.60 <sup>b</sup>	7.41a	0.387	0.032			
CMSPV	2.24	1.89	2.10	2.26	2.20	0.122	0.554			
CMILHO	$6.34^{ab}$	6.15 <sup>b</sup>	6.87a	5.61 <sup>b</sup>	6.29 <sup>ab</sup>	0.329	0.017			
CPELLET	1.12 <sup>ab</sup>	$1.08^{b}$	1.21 <sup>a</sup>	$0.990^{b}$	1.11 <sup>ab</sup>	0.058	0.026			
CMO	7.16 <sup>a</sup>	$6.95^{ab}$	$7.77^{a}$	6.34 <sup>b</sup>	7.11 <sup>a</sup>	0.376	0.018			
СРВ	$0.984^{a}$	$0.954^{ab}$	1.06 <sup>a</sup>	$0.872^{b}$	$0.984^{a}$	0.051	0.026			
CFDN	4.45a	4.32ab	$4.83^{a}$	3.94 <sup>b</sup>	4.42a	0.231	0.017			
			Digestibi	lidade (g/Kg)						
MS	0.534	0.454	0.504	0.568	0.504	0.410	0.124			
MO	0.568	0.488	0.530	0.596	0.535	0.039	0.147			
PB	0.700	0.616	0.686	0.718	0.702	0.046	0.149			
FDN	0.486	0.404	0.456	0.502	0.445	0.034	0.161			
Amido	$0.792^{b}$	$0.826^{a}$	$0.806^{ab}$	$0.854^{a}$	$0.815^{b}$	0.014	0.008			
Excreção grão de milho inteiro (%)										
Grão fezes (%)	30.65 <sup>a</sup>	26.82ab	$30.16^{a}$	24.16 <sup>b</sup>	27.67 <sup>ab</sup>	2.98	0.012			

Tabela 3. Valores médios de parâmetros de fermentação ruminal em novilhos recebendo dieta a base de milho grão inteiro.

		Die	EPM	Valor de P			
	CON	QUI	LCCt	LCCt*QUI	MON		Dieta
			mg/d	L			
pН	6.21	6.22	6.20	6.28	6.28	0.006	0.654
$N-NH_3$	$20.96^{ab}$	25.82a	23.83a	15.14 <sup>b</sup>	22.61 <sup>a</sup>	0.026	0.014
			mmol	// <b>L</b>			
Acetato	44.56 <sup>b</sup>	57.94 <sup>a</sup>	54.37 <sup>a</sup>	37.75°	47.53 <sup>b</sup>	0.120	0.045
Propionato	30.16 <sup>a</sup>	$26.14^{ab}$	$24.57^{b}$	33.51 <sup>a</sup>	26.23ab	0.131	0.038
Butirato	13.72 <sup>b</sup>	19.04 <sup>a</sup>	20.25 <sup>a</sup>	10.65 <sup>c</sup>	11.71 <sup>bc</sup>	0.087	0.012
Isobutirato	1.18	1.23	1.40	1.03	1.21	0.018	0.236
Isovalerato	4.05	4.37	3.66	3.07	4.61	0.040	0.414
Valerato	1.97	1.65	2.07	3.10	2.48	0.042	0.447
$AGCR^1$	7.20	7.24	7.13	7.19	8.30	0.046	0.484
Total	95.64	110.36	106.32	89.11	93.76	0.173	0.784
Acetato/propionato	1.93	2.24	2.47	1.79	2.06	0.028	0.654
Metano	17.25 <sup>ab</sup>	25.81a	$26.50^{a}$	12.03 <sup>b</sup>	$18.86^{ab}$	0.097	0.018

AGCR¹= Ácidos graxos de cadeia ramificada, CON= controle, QUI= quitosana, LCCt= líquido da casca de caju técnico, LCCT\*QUI= associação do líquido da castanha de caju e quitosana, MON= monensina.

Tabela 4. Valores médios dos derivados de purina e da eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos recebendo dieta de milho grão inteiro.

Item	Dietas experimentais						Valor de P		
	CON	QUI	LCCt	LCCt*QUI	MON		Dieta		
			mmo	l/L		_			
Alantoina	16.16	17.14	17.44	16.54	16.46	0.108	0.871		
Acido úrico	3.26	1.94	2.38	3.15	3.29	0.049	0.855		
Purinas total	19.42	19.08	19.83	19.69	19.75	0.110	0.854		
	mmol/dia								
Alantoina	221.40	162.40	221.64	201.87	202.18	0.423	0.841		
Acido úrico	47.40	14.13	29.20	35.23	55.46	0.207	0.751		
Purinas total	268.81	176.54	250.84	237.09	257.64	0.443	0.801		
Purinas abs.	303.45	193.47	280.71	267.42	198.37	0.482	0.872		
			g/di	a					
Nitrogênio microbiano	220.62	140.66	204.09	194.43	183.77	0.411	0.847		
Proteína microbiana	1378.90	879.14	1275.54	1215.18	1198.59	1.028	0.847		

Tabela 5. Valores médios do balanço de nitrogênio em novilhos recebendo dietas a base de milho grão inteiro.

Item	Dietas experimentais						Valor de P		
	CON	QUI	LCCt	LCCt*QUI	MON		Dieta		
		(	Consumo	(g/dia)		_			
N-consumido	157.44 <sup>a</sup>	152.64 <sup>ab</sup>	169.60 <sup>a</sup>	139.42 <sup>b</sup>	156.26 <sup>a</sup>	0.227	0.027		
Excreção (g/dia)									
N-fezes	16.13	21.68	25.63	14.23	19.53	0.149	0.224		
N-urina	21.40	27.37	12.49	13.66	6.08	0.132	0.324		
			Balanço	(g/Kg)					
N-absorvido	141.31	130.96	143.97	125.19	136.73	0.242	0.442		
N-retido	119.91 <sup>b</sup>	103.59 <sup>c</sup>	131.48a	111.53 <sup>b</sup>	130.65 <sup>a</sup>	0.246	0.007		

Tabela 6. Valores médios para concentração de uréia e creatinina na urina, concentração de ureia e creatinina sanguínea, excreção de ureia e creatinina na urina, excreção de creatinina, ureia e creatinina plasmática, excreção fracional de ureia.

Item	Dietas experimentais					EPM	Valor de P			
	CON	QUI	LCCt	LCCt*QUI	MON		Dieta			
Urina (mg/dL)										
Ureia	801.28	813.02	834.42	802.35	793.49	28.56	0.357			
Creatinina	1.42	1.86	1.78	1.77	2.43	0.12	0.328			
N-Ureico	352.69	354.35	361.64	355.97	338.55	12.98	0.325			
N- Creatinina	0.529	0.746	0.802	0.722	0.688	0.015	0.357			
Sangue (mg/dL)										
Ureia	20.75	20.79	22.59	23.22	24.08	1.88	0.335			
Creatinina	2.76	2.57	2.00	2.31	2.92	0.74	0.247			
N-Ureico	9.60	9.35	10.92	10.88	10.15	1.05	0.635			
N- Creatinina	1.19	1.12	1.18	1.13	1.16	0.32	0.345			
		Exc	creção (1	ng/kg PV)						
Ureia	887.58	820.64	783.50	889.66	669.22	15.89	0.868			
Creatinina	27.47	27.75	27.41	27.53	27.51	3.21	0.865			
Clearence (mg/kg PV)										
Ureia	45.45	44.85	42.00	43.96	44.00	2.65	0.881			
Creatinina	5.95	6.07	6.06	5.98	6.25	1.23	0.851			
Excreção fracional (%)										
Ureia	69.95	67.78	66.23	68.23	67.18	4.88	0.885			