

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM
DIETAS PARA BOVINOS**

LAYSE ARAUJO GORDIANO

SALVADOR - BAHIA
DEZEMBRO - 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM
DIETAS PARA BOVINOS**

LAYSE ARAUJO GORDIANO

Médica Veterinária

SALVADOR - BAHIA
DEZEMBRO - 2020

LAYSE ARAUJO GORDIANO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS
INSATURADOS EM DIETAS PARA BOVINOS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de Ruminantes

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior
Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro

**SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO – 2020**

Gordiano, Layse Araujo.

Associação entre quitosana e ácidos graxos insaturados em dietas para bovinos / Layse Araujo
Gordiano. - 2020.

118 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior.

Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Salvador, 2020.

1. Zootecnia. 2. Nutrição animal. 3. Bovinos - Alimentação e ração. 4. Soja com ração. I. Freitas
Júnior, José Esler de. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia.
III. Título.

CDD - 636.2084
CDU - 636.20855

ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM DIETAS PARA BOVINOS

Layse Araujo Gordiano


Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia

Salvador,
18 de dezembro de 2020

Comissão examinadora:



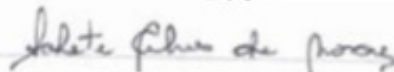
Dr. José Esler de Freitas Júnior
UFBA
Orientador / Presidente



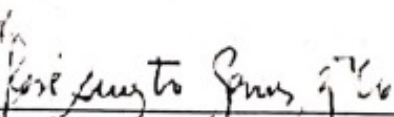
Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro
UFBA



Dra. Analívia Martins Barbosa
UFBA



Dra. Salete Alves de Moraes
EMBRAPA



Dr. José Augusto Gomes Azevedo
UESC

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LAYSE ARAUJO GORDIANO, filha de Antônio Deognes Pinto Gordiano e Nilva Araujo Gordiano, nasceu em Conceição do Coité, estado da Bahia, no dia 05 de Janeiro de 1988. Em 2007, iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, finalizando-o no ano de 2013. No mesmo ano, ingressou no Mestrado do Programa Pós-Graduação em Ciência Animal na mesma Instituição obtendo o título de Mestre em 2015. Em 2016, ingressou no Doutorado do Programa Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Federal da Bahia – UFBA, sob orientação do professor Dr. José Esler de Freitas Júnior. Em dezembro de 2020, submeteu-se à banca examinadora para defesa da tese e conclusão do Doutorado.

*Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada,
apenas dê o primeiro passo. (Martin Luther King)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro à Deus por segurar a minha mão e me dar forças durante a caminhada e a minha família pelo apoio.

À CAPES pelo apoio à pesquisa e à FAPESB pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Professor José Esler, pela paciência, incentivo, cuidado, conversas, todos os ensinamentos e por não desistir de mim, até quando eu mesma já tinha desistido.

À Fernanda Gazar e Isadora Macedo, por pegarem na minha mão e seguirem comigo nesta caminhada e por não me deixarem desistir. Sem vocês eu não teria conseguido, serei sempre grata!

Aos meus queridos amigos do LANA, por serem refúgio, apoio, incentivo e principalmente, a alegria da Universidade. A família é grande: Camila Oliveira, Fernanda Gazar, Gisele Rocha, Henry Alba, Isadora Macedo, Lívio Mascarenhas, Márcia Pereira, Maria Leonor, Mateus Neto, Sarah Nogueira, Thomaz Guimarães, Willian Silva.

Ao meu primeiro grupo de estudo, as veteranas que me acolheram quando cheguei ainda desorientada, e que se tornaram amigas: Ana Caroline Pinho, Jocasta Galvão, Jocely Souza, Marina Cirqueira, Polyana Rodrigues.

À todos da Fazenda Experimental de Entre Rios, pessoas pelas quais tenho um enorme carinho e foram fundamentais para que meu trabalho pudesse ser desenvolvido e minha permanência na fazenda fosse mais agradável. Obrigada pelo cuidado, pelas conversas, pelos favores, pela companhia. Todos, sem exceção são realmente especiais, mas aqui são representados pelo Sr. Nerivaldo.

Aos meus companheiros de fazenda: Eduardo Costa, Endrigo Adonis, Isabela Vasconcelos, Fernanda Gazar, Juliana Macedo, Sarah Nogueira. Viver com vocês foi muito especial, vou levá-los sempre comigo. E aos que iam esporadicamente, e também se tornaram queridos amigos: Carol Vasconcelos, Renata Barreto, Hugo Cartibani, Airles Moura. A companhia de vocês muito me alegrava.

À Henry Alba, Lucas Bulcão e Lara Brant pela ajuda na execução do experimento por transmitir conhecimento de forma leve. Os churrascos eram a melhor parte (risos). À Maria Leonor pela amizade, pelo apoio e por toda ajuda em

todo o período de doutorado. À todos (não foram poucos) que me auxiliaram no experimento e laboratório, cada ajuda foi fundamental.

Aos meus queridos estagiários, competentes e com enorme potencial: Alexandre Andrade e Maria Clara Dourado, em especial Clara que se tornou uma amiga.

À família que fiz no “Vet’s in House”: Isabela Vasconcelos, Caroline Vasconcelos, Edjones Pablo e Isadora Macedo. Nós fomos a melhor combinação que poderia ter. Amo vocês!

À todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFBA pelo ensino de excelência, por todo conhecimento transmitido que me fez crescer e amadurecer como pós-graduanda e pesquisadora.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

	Página
Figura 1. Etapas da biohidrogenação ruminal sobre o ácido linoleico	5
____2. Estrutura química da quitina (A) e da quitosana (B)	18

CAPÍTULO I

	Página
Figura 1. Valores de pH observados na digesta ruminal em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	55
____2. Concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃ mg/dL) na digesta ruminal de novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	55

LISTA DE TABELAS

	REVISÃO DE LITERATURA	Página
Tabela 1.	Principais achados científicos do efeito da inclusão de diferentes formas de ácidos graxos provenientes da soja em dietas para bovinos...	09
_____2.	Principais achados científicos do efeito da inclusão de diferentes níveis de quitosana e associação a fontes de ácidos graxos em dietas para bovinos, nos últimos 10 anos	22

CAPÍTULO I

		Página
Tabela 1.	Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca.....	42
_____2.	Composição de ácidos graxos obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca.....	42
_____3.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais.....	43
_____4.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	44
_____5.	Consumo de matéria seca e nutrientes em novilhas alimentadas com as dietas experimentais.....	51
_____6.	Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	52
_____7.	Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana.....	54

_____8.	Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	56
_____9.	Parâmetros sanguíneos de novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	57

CAPÍTULO II

Página

Tabela 1.	Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca	77
_____2.	Composição de ácidos graxos obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca.....	77
_____3.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais	78
_____4.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais	79
_____5.	Comportamento ingestivo de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana	86
_____6.	Caracterização ruminal e fluxo reticular de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana....	87
_____7.	Dinâmica ruminal de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana	88

LISTA DE ABREVIATURAS

AG -	Ácido Graxo
AGCC -	Ácido Graxo de Cadeia Curta
AGI	Ácido Graxo Insaturado
AGPI	Ácido Graxo Poli-insaturado
AOAC -	Association of Official Analytical Chemists
CD -	Coefficiente de Digestibilidade
CH ₄ -	Metano
CLA -	Ácido Linoleico Conjugado
CNF -	Carboidratos Não-Fibrosos
CNFd -	Carboidrato Não-Fibroso Digestível
CON -	Controle
CT -	Carboidratos Totais
C2:C3 -	Acetato:propionato
DHA -	Ácido Ecosaheptaenóico
EAL -	Eficiência de Alimentação
EE -	Extrato Etéreo
EEd -	Extrato Etéreo Digestível
ELL -	Energia Líquida de Lactação
EPA -	Ácido Eicosapentaenoico
ERU -	Eficiência de Ruminação
FDA -	Fibra em Detergente Ácido
FDN -	Fibra em Detergente Neutro
FDNd -	Fibra em Detergente Neutro Digestível
FDNi -	Fibra em Detergente Neutro Indigestível
FDNpd -	Fibra em Detergente Neutro Potencialmente Disponível
GS -	Grão de Soja
GSQ -	Grão de Soja + Quitosana
H ⁺	Hidrogênio
IMS -	Ingestão de Matéria Seca
INCT -	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
MM -	Matéria Mineral
MO -	Matéria Orgânica
MS -	Matéria Seca
N -	Nitrogênio
NDT -	Nutrientes Digestíveis Totais
N-NH ₃ -	Nitrogênio Amônia
NRC -	National Research Council
NUS -	Nitrogênio Ureico no Sangue
OS -	Óleo de Soja
OSQ -	Óleo de Soja + Quitosana
PB -	Proteína Bruta
PBd -	Proteína Bruta Digestível
PDR -	Proteína Degradável no Rúmen

pH -	Potencial Hidrogeniônico
PIDA -	Proteína Indigestível em Detergente Ácido
PIDN -	Proteína Indigestível em Detergente Neutro
PNDR -	Proteína Não Degradável no Rúmen
QT -	Quitosana
SCAG -	Sais de Cálcio de Ácidos Graxos
TMT -	Tempo de Mastigação Total
VLDL -	Very Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de muito baixa densidade)

SUMÁRIO

Associação entre quitosana e ácidos graxos insaturados em dietas para bovinos	
	Página
	RESUMO.....xvii
	ABSTRACT.....xviii
1	INTRODUÇÃO.....1
2	HIPÓTESE.....3
3	OBJETIVOS.....3
4	REVISÃO DE LITERATURA.....3
	4.1 Uso de aditivos na alimentação de ruminantes e seus efeitos no metabolismo ruminal.....3
	4.2 Suplementação de ácidos graxos insaturados em dietas para ruminantes....7
	4.3 Uso de grão de soja na alimentação de ruminantes.....13
	4.4 Uso de óleo de soja na dieta para ruminantes.....15
	4.5 Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes.....17
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....26

Capítulo I

Associação entre quitosana e ácidos graxos insaturados em dietas para novilhas sobre o metabolismo digestivo

	RESUMO.....38
	ABSTRACT.....39
1	INTRODUÇÃO.....40
2	MATERIAL E MÉTODOS.....41
	2.1. Comitê de ética local de realização.....41
	2.2. Animais, delineamento experimental e dietas.....41
	2.3 Coletas de amostras e análises laboratoriais.....45
	2.4. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes.....46
	2.5. Avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal.....47

	2.6. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana.....	48
	2.7. Concentrações dos metabólitos sanguíneos.....	49
	2.8. Análises estatísticas.....	49
3	RESULTADOS.....	50
	3.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes.....	50
	3.2. Fermentação ruminal.....	52
	3.3. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana.....	56
	3.4. Concentrações dos metabólitos sanguíneos.....	57
4	DISCUSSÃO.....	58
	4.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes.....	58
	4.2. Fermentação ruminal.....	59
	4.3. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana.....	62
	4.4. Concentrações dos metabólitos sanguíneos.....	62
5	CONCLUSÃO.....	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

Capítulo II

Associação entre quitosana e ácidos graxos insaturados em dietas para novilhas sobre o comportamento ingestivo e cinética ruminal

	RESUMO.....	73
	ABSTRACT.....	74
1	INTRODUÇÃO.....	75
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	76
	2.1. Comitê de ética local de realização.....	76
	2.2. Animais, delineamento experimental e dietas.....	76
	2.3 Coletas de amostras e análises laboratoriais.....	80
	2.4. Comportamento ingestivo.....	81
	2.5. Fluxo reticular de nutrientes.....	83
	2.6. Dinâmica ruminal.....	84
	2.7 Análises Estatísticas.....	84
3	RESULTADOS.....	85

3.1. Comportamento ingestivo.....	85
3.2. Caracterização ruminal e fluxo reticular.....	86
3.3. Dinâmica ruminal.....	88
4 DISCUSSÃO.....	89
4.1. Comportamento ingestivo.....	89
4.2. Caracterização ruminal e fluxo reticular.....	90
4.3. Dinâmica ruminal.....	90
5 CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS.....	93

ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM DIETAS PARA BOVINOS

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da associação da quitosana ao óleo de soja e ao grão de soja integral sobre o consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, fermentação ruminal, balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana, metabólitos sanguíneos, comportamento ingestivo e cinética ruminal em bovinos. Cinco novilhas mestiças das raças Simental x Zebu, canuladas no rúmen, com aproximadamente 24 meses de idade, peso corporal inicial de $335 \pm 53,2$ kg foram distribuídas aleatoriamente em um quadrado latino 5×5 para receberem uma das cinco dietas experimentais: 1) CON = Controle (sem inclusão de ácidos graxos insaturados (AGI) e sem quitosana); 2) OS = Óleo de Soja (inclusão de 2,5% de OS na matéria seca (MS) total); 3) GS = Grão de Soja (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* na MS total); 4) OSQ = Óleo de Soja + Quitosana (inclusão de 2,5% de OS + 0,20% de quitosana na MS total) e, 5) GSQ = Grão de soja + Quitosana (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* + 0,20% de quitosana na MS total). Foi utilizada silagem de milho como volumoso e o aditivo foi fornecido na forma de “topdress”. As dietas OS e GS, independente da adição da quitosana, reduziram o consumo de nutrientes, com exceção no consumo de extrato etéreo (EE) que foi maior ($P < 0,05$) nos animais alimentados com as fontes de AGI. As dietas com AGI reduziram a digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) e aumentaram a do EE ($P < 0,05$). As dietas com AGI e a quitosana aumentaram o pH ruminal e reduziram a concentração de nitrogênio amoniacal ($P < 0,05$). Além disso, de forma geral, as dietas com AGI e quitosana reduziram a produção total de AG de cadeia curta, acetato, propionato e butirato, em Mmol. As dietas com AGI reduziram o consumo e excreção de nitrogênio (N), enquanto que a quitosana aumentou a retenção e eficiência na utilização de N ($P < 0,05$). A quitosana reduziu os níveis sanguíneos de triglicérides e VLDL ($P < 0,05$). As dietas com AGI diminuíram o fluxo reticular de MS, FDN e FDN potencialmente digestível (pd) em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). As dietas com OS e GS, independente da adição de quitosana, reduziram as taxas de digestão da MS, de renovação ruminal da MS, FDN e de passagem da MS, FDN e FDNpd em relação aos animais alimentados com a dieta controle. As dietas com AGI não interferem na digestibilidade dos nutrientes entretanto, reduzem o consumo e utilização de N ruminal e alteram a fermentação e cinética ruminal. Por outro lado, a quitosana não tem efeito no consumo, digestibilidade dos nutrientes e no comportamento ingestivo, porém altera a utilização de N e a fermentação ruminal para uma rota mais eficiente energeticamente em dietas para novilhas de corte.

Palavras-chave: aditivo, consumo, fluxo reticular, grão de soja, novilhas, óleo de soja

ASSOCIATION BETWEEN CHITOSAN AND UNSATURATED FATTY ACIDS DIETS FOR CATTLE

ABSTRACT

This study aimed evaluate the association effect between chitosan with soybean oil and whole soybean grain on nutrients intake and apparent digestibility, rumen fermentation, nitrogen balance, microbial protein synthesis, blood metabolites, ingestive behavior and ruminal kinetics in cattle. Five Simental x Zebu crossbred heifers, ruminally cannulated, with approximately 24 months of age, initial body weight of 335 ± 53.2 kg were randomly distributed in a 5×5 Latin square experimental design to receive one of the five experimental diets: 1) CON = Control (without inclusion of unsaturated fatty acid (FA) or chitosan); 2) SO = Soybean Oil (dietary inclusion at 2,5% in total dry matter (DM); 3) WS = Whole raw soybean (dietary inclusion at 16% in total DM); 4) CHSO = Chitosan + Soybean Oil (dietary inclusion at 0,2% and 2,5% in total DM, respectively); 5) CHWS = Chitosan + Soybean Grain (dietary inclusion at 0,2% and 16% in total DM, respectively). The forage source was maize silage and the additive was provided on topdress form. The OS and GS diets, regardless of the addition of chitosan, decreased the nutrient intakes, except for the ether extract (EE), which was higher ($P < 0.05$) in animals fed with UFA sources. Diets with UFA reduced the digestibility of neutral detergent fiber (NDF) and increased the EE ($P < 0.05$). Diets with UFA and CHI increased rumen pH and reduced the concentration of ammoniacal nitrogen ($P < 0.05$). In addition, in general, diets with UFA and CHI reduced the total production of short-chain FA, acetate, propionate and butyrate, in Mmol. Diets with UFA reduced nitrogen intake and excretion (N), while CHI increased and retention and efficiency in the use of N ($P < 0.05$). CHI reduced triglycerides and VLDL blood levels ($P < 0.05$). Diets with UFA decreased reticular flow of DM, NDF and potentially digestible NDF (pd) in relation to the control group ($P < 0.05$). Diets with SO and WS, regardless of the addition of chitosan, decreased the DM digestion rate, ruminal turnover of DM, NDF and passage of DM, NDF and NDFpd in relation to animals fed the control diet. Diets with AGI do not interfere on nutrients digestibility, however, they reduce the consumption and use of ruminal N and alter fermentation and ruminal kinetics. On the other hand, CHI has no effect on intake, digestibility of nutrients and feeding behavior, but alters the use of N and rumen fermentation to a more energetically efficient route in diets for beef heifers.

Keywords: additive, intake, heifers, reticular flow, soybean grain, soybean oil

1 INTRODUÇÃO

Por décadas, pesquisas vem sendo conduzidas com o objetivo de melhorar a produção de ruminantes através do aumento da eficiência na utilização de alimentos. Dessa forma, deseja-se aumentar o desempenho animal por meio do fornecimento de dietas que proporcionem melhor eficiência econômica e mínimos impactos ambientais (VENDRAMINI et al., 2016; PUCHALA et al., 2018). Neste contexto, diversos aditivos alimentares, são utilizados em dietas para ruminantes em substituição aos ionóforos, cuja utilização está sendo proibida, como foi feito pela União Europeia em 2006 (EUROPEAN COMMISSION, 2003).

Visando encontrar alternativas ao uso dos ionóforos, muitos estudos têm sido realizados a fim de encontrar compostos que desempenhem o mesmo resultado sem, contudo, ocasionar efeitos adversos na saúde animal ou humana. A preocupação com o uso dos ionóforos é justificada pela presença de resíduos do antibiótico, que podem vir a aparecer nos produtos de origem animal, podendo causar resistência a antimicrobianos tanto em animais, quanto em humanos. Diante disso, um destes compostos estudados é a quitosana e tem despertado crescente interesse na comunidade científica como potencial substituto aos ionóforos em dietas para ruminantes (ZANFERARI et al., 2018).

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina, componente presente no exoesqueleto de insetos e crustáceos. A quitina torna-se um coproduto das empresas pesqueiras após o beneficiamento dos frutos do mar e depois de submetida a processos químicos é formada a quitosana, que tem como principal característica atividade antimicrobiana, sendo portanto utilizada na conservação de alimentos, como também na indústria farmacêutica e na composição de cosméticos (JIMÉNEZ-OCAMPO et al., 2019).

Por esta atividade antimicrobiana, a quitosana foi vista como um potencial aditivo alimentar para ruminantes, visto que sua ação no ambiente ruminal é semelhante à dos ionóforos (GOIRI et al., 2009). Conforme descrito em estudos conduzidos por Araújo et al. (2015), Gandra et al. (2016a), Paiva et al. (2016) e Dias et al. (2017), a inclusão da quitosana em dietas para ruminantes promoveu aumento no desempenho animal, por meio de alterações na fermentação ruminal, favorecendo a utilização dos nutrientes por vias mais energéticas. Devido à sua ação nas bactérias gram-positivas, pode alterar também o processo de biohidrogenação (GOIRI et al., 2010). Dessa forma, em associação com uma fonte de ácidos graxos insaturados, a quitosana pode promover a redução do processo de biohidrogenação desses ácidos

(MINGOTI et al., 2016), favorecendo a presença de intermediários da biohidrogenação ruminal nos produtos de origem animal, principalmente CLA, que possui propriedade benéfica à saúde humana (OLDICK e FIRKINS, 2000).

Estudos tem sido realizados ao longo dos anos em bovinos de diferentes categorias animais, com aptidão leiteira ou para corte, com o objetivo de avaliar o efeito de fornecimento de dietas contendo soja, em diferentes formas de processamento. De acordo com dados da EMBRAPA (2019), o Brasil é atualmente o segundo maior produtor de soja do mundo, com produção de 114,843 milhões de toneladas. É um grão rico em proteína e lipídios, e o crescente interesse é justificado pelo seu alto poder nutricional, facilidade de aquisição e baixo custo em relação à outras fontes oleaginosas (BARLETTA, et al., 2016a). Desta forma, é amplamente utilizado em dietas para ruminantes com o intuito de aumentar a densidade energética, seja em forma de grão ou óleo. Além disso, é importante destacar que a soja apresenta alto teor de ácidos graxos insaturados que podem promover melhora no perfil lipídico da carne e leite (VENTURELLI et al., 2015).

Embora diversos estudos já tenham sido conduzidos avaliando a inclusão da quitosana e da soja em dietas para ruminantes, existem poucos trabalhos na literatura científica avaliando o efeito da associação da quitosana com a soja em dietas para bovinos de corte. Diante deste cenário, objetivou-se com o presente estudo avaliar a ação da quitosana associada a fontes de ácidos graxos naturalmente protegida (grão de soja inteiro) e não-protegida (óleo de soja) sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes e metabolismo ruminal de lipídeos em bovinos de corte.

2 HIPÓTESE

A associação de quitosana e fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados em dietas para bovinos, aumenta a eficiência energética ruminal sem alterar a cinética ruminal, consumo e digestibilidade de nutrientes, melhorando a utilização dos nutrientes e diminuindo as perdas energéticas.

3 OBJETIVOS

Objetivou-se avaliar o efeito da associação da quitosana à fontes de ácidos graxos insaturados na dieta de novilhas sobre o consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes e metabolismo ruminal.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso de aditivos na alimentação de ruminantes e seus efeitos no metabolismo ruminal

Diversos produtos e tecnologias tem sido desenvolvidos nos últimos anos com intuito de potencializar a produção pecuária, através da melhoria do desempenho dos ruminantes e, conseqüentemente maximizar a rentabilidade (VENDRAMINI et al., 2016). Um dos mecanismos utilizados é a manipulação dos padrões de fermentação ruminal, por meio do uso de aditivos, com atividade antimicrobiana (DEL VALLE et al., 2017). Estes aditivos atuam promovendo alterações na população microbiana ruminal de maneira que aumente a digestibilidade da fibra, resultando em incremento da síntese de produtos provenientes do processo digestivo dos alimentos, tornando a fermentação mais eficiente e com menos gasto de energia (GUGLIELMELLI et al., 2010).

Aditivos alimentares, como antimicrobianos, probióticos, ácidos orgânicos e compostos secundários de plantas são amplamente utilizados em dietas de ruminantes com intuito de modular o metabolismo ruminal melhorando a utilização de nutrientes e por fim, o desempenho

animal. Esses aditivos agem de diversas formas, proporcionando o aumento da eficiência na utilização de alimentos, melhorando a fermentação, e modulando a população ruminal (COBELLIS et al., 2016). Outras vantagens da utilização dos aditivos na alimentação de ruminantes são relacionadas ao aumento da produção de propionato, que conseqüentemente ajuda na redução de metano, a melhora na eficiência de utilização do nitrogênio e redução do risco de doenças metabólicas como acidose ruminal (JOUANY e MORGAVI, 2007).

As pesquisas voltadas para utilização de compostos como probióticos (GENG et al., 2015), compostos secundários de plantas (SILVA et al., 2018), enzimas (ANDREAZZI et al., 2018) e lipídios (GANDRA et al., 2016a, 2016b) tem demonstrado efeitos satisfatórios na produção animal.

Diversos tipos de lipídios podem ser usados em dietas para ruminantes, variando em relação à composição e disponibilidade de ácidos graxos. Dentre estas fontes é possível mencionar os óleos vegetais, sementes de oleaginosas e sais de cálcio de ácidos graxos que apresentam-se na forma de fonte de gordura não protegida, parcialmente protegidas e totalmente protegidas da ação microbiana, respectivamente (SANTANA et al., 2017).

Dentre as fontes lipídicas, a soja é a mais comumente utilizada por ser um produto de fácil aquisição e baixo custo. Pode ser fornecida na forma de grão ou óleo e apresenta benefícios de acordo com a forma de fornecimento. Assim, está associado com o aumento na ingestão de energia, redução na poeira do concentrado e melhora na aceitabilidade da ração (ALLEN, 2000).

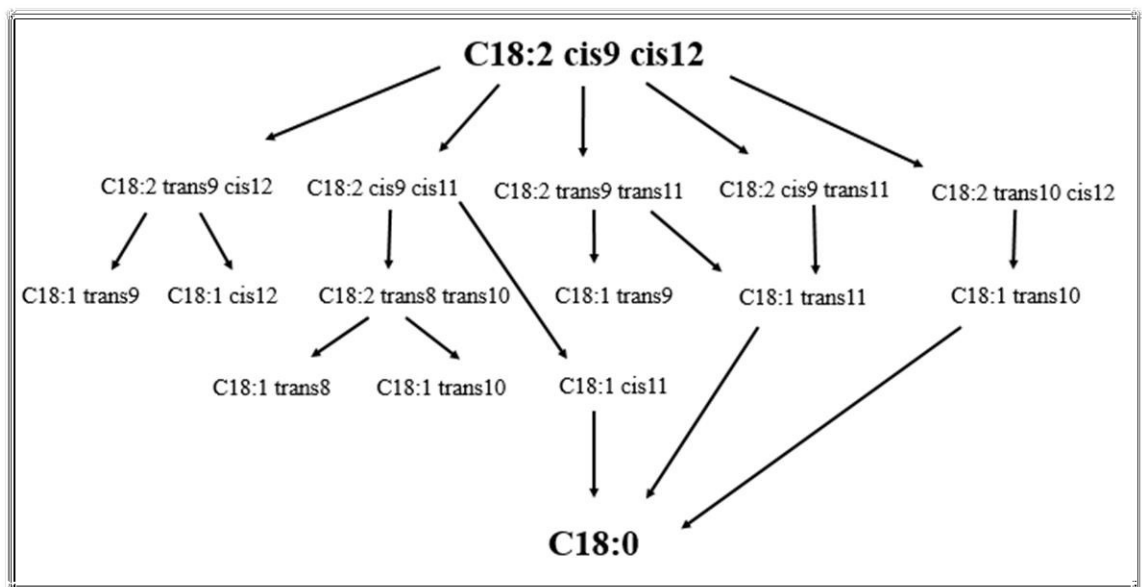
Em ruminantes, os lipídeos passam por processos que modificam sua composição antes de serem absorvidos no intestino, sendo estes a lipólise e a biohidrogenação. Tais processos ocorrem em nível ruminal e são realizados por bactérias específicas através da liberação de enzimas denominadas lipases (BUCCIONI, et al., 2012). Os animais ingerem lipídeos, em sua grande maioria na forma de triglicerídeos e quando esses compostos entram em contato com as bactérias ruminais, ocorre a lipólise que é dissociação das moléculas de ácidos graxos e do glicerol, através de quebra de ligações tipo éster. Esses ácidos graxos, ficam livres no rúmen e podem ser levados ao intestino para absorção ou podem ser incorporados à membrana celular bacteriana.

A estrutura da cadeia carbônica poli-insaturada dos ácidos graxos, entretanto, é prejudicial à integridade de membrana, por torná-la maleável fazendo com que a bactéria perca o controle de entrada e saída de elétrons da célula. Com intuito de restabelecer o controle do

transporte transmembrana, a bactéria utiliza a energia que seria direcionada para multiplicação celular, para controlar seu equilíbrio eletrolítico. A velocidade de replicação torna-se baixa, podendo chegar a ocorrer morte celular. Como forma de proteção, e para minimizar os efeitos tóxicos dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) às bactérias do rúmen, as espécies lipolíticas transformam os ácidos graxos insaturados em saturados, incorporando íons de H^+ , em um processo chamado biohidrogenação (PALMQUIST e MATTOS, 2011).

A biohidrogenação ocorre em várias etapas (Figura 1) e, por meio de enzimas, como redutases e isomerases, as bactérias modificam a estrutura do ácido graxo, formando diversos outros compostos. Na biohidrogenação completa o produto final é o ácido esteárico (C18:0), enquanto os ácidos intermediários formados ao longo do processo são principalmente os ácidos linoleico conjugado (CLA). Os CLA são isômeros do C18:2 (ácido linoleico), com alterações geométricas e posicionais, formando duplas ligações nas posições: [9,11], [10,12], [8,10], [7,9] e [11,13]. Por conta da formação desses ácidos na biohidrogenação, os CLA estão presente em alta concentração nos produtos finais de ruminantes (carne e leite) e os de maior importância são os *cis-9, trans-11* e *trans-10, cis-12* (KRAMER et al., 1998).

Figura 1 - Etapas da biohidrogenação ruminal sobre o ácido linoleico.



Fonte: Adaptado de Buccioni et al. (2012).

O principal alvo da biohidrogenação são os ácidos com 18 carbonos (C18) e as espécies mais envolvidas neste processo são principalmente as do gênero *Butyrivibrio*. Essas bactérias

são divididas em 2 grupos, de acordo com suas funções metabólicas. O grupo A, composto por bactérias fibrolíticas, como *B. fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* e *R. flavifaciens* hidrogenam os ácidos graxos poli-insaturados livres no rúmen, formando principalmente C18:2 cis-9, trans-11 (ácido rumênico) como intermediário e C18:1 trans-11 (ácido vacênico) como produto final. Já o grupo B é formado por micro-organismos capazes de completar a biohidrogenação e formar C18:0 (ácido esteárico); *Fusocillus* spp. *B. proteoclasticus* compõem este grupo (JENKINS et al., 2008; MOON et al., 2008; BUCCIONI et al., 2012).

O processo de biohidrogenação tem início com a isomerização do ácido linoleico cis-9, cis-11 em ácido cis-9, trans-11 e é seguida por hidrogenação (redução) da ligação cis-dupla, formando o ácido linoleico trans-11. Da mesma forma, as ligações cis-duplas conjugadas do ácido linolênico são hidrogenadas após isomerização inicial da ligação dupla cis-12. A isomerização da ligação dupla cis-12 é considerada um passo pré-requisito na biohidrogenação de ácidos graxos contendo um sistema de ligação dupla cis-9, cis-12. O C18:1 trans-11 é um intermediário comum na biohidrogenação dos ácidos C18:3 e C18:2 e sua redução é limitante para ocorrer a biohidrogenação completa, se acumulando no rúmen quando esta não ocorre (BUCCIONI et al., 2012).

Ao mesmo tempo em que a biohidrogenação completa é benéfica ao funcionamento adequado do rúmen, produz um tipo de gordura que não é considerada saudável, tem sido apontada por causar riscos à saúde humana e, portanto, evitada pelos consumidores. Desta forma, algumas estratégias são utilizadas para reduzir a biohidrogenação ruminal e ao mesmo tempo melhorar o perfil de ácidos incorporados aos tecidos animal.

Tendo em vista que a biohidrogenação varia de acordo com vários fatores, principalmente com a quantidade de AGPI que chega ao rúmen, da fonte lipídica fornecida, do pH ruminal, a modulação desses fatores pode ser feita a fim de reduzir o processo de saturação dos ácidos graxos.

Valores de pH mais baixos podem alterar a população microbiana, modificando as rotas usuais de biohidrogenação resultando na formação de isômeros do ácido linoleico (C18:2 cis9 trans11, e C18:2 trans10 cis12, por exemplo) e intermediários (C18:1 trans11 e C18:1 trans10), que são os ácidos que não sofrem biohidrogenação completa (BAUMAN e GRIINARI, 2003; SHINGFIELD et al., 2010). Segundo Chilliard et al. (2007), o baixo pH limita tanto a lipólise de triglicerídeos, quanto a isomerização e redução do C18:2, favorecendo o aumento na concentração de ácido vacênico.

O uso de fonte protegida de ácidos graxos, como sementes oleaginosas tem sido relatado como boa alternativa para minimizar a ação das bactérias sobre os lipídeos. Devido aos lipídeos estarem armazenados no gérmen ou ligados à matriz proteica, a liberação das moléculas ocorre mais lentamente, de forma que não transponha a capacidade de saturação das bactérias, reduzindo os efeitos negativos sobre as mesmas (BARLETTA et al. 2016a).

Os lipídios na alimentação animal trazem também a vantagem de reduzir a produção ruminal de metano, que é resultado de um melhor aproveitamento do alimento e portanto, aumenta a eficiência energética do animal (FIORENTINI et al., 2013; FIORENTINI et al., 2014). Tendo em vista que a alta disponibilidade e baixo custo da soja no Brasil, este grão é amplamente utilizado na alimentação de ruminantes quando se pretende fazer suplementação para o rebanho.

4.2 Suplementação de ácidos graxos insaturados em dietas para ruminantes

A suplementação de lipídios tem sido uma importante estratégia quando se pretende aumentar a densidade energética e ao mesmo tempo reduzir o incremento calórico na alimentação de ruminantes. Os lipídios podem ser utilizados também como promotores de saúde e moduladores metabólicos (JENKINS et al., 2008). Um maior fornecimento de ácidos graxos pode proporcionar alterações na fermentação ruminal e também modificar a composição lipídica dos tecidos corporais e dos produtos de origem animal, como a carne (MADRON et al., 2002) e o leite (MANSBRIDGE e BLAKE, 1997). Quando ocorre substituição de carboidratos por lipídios na dieta, é provável que haja redução da fermentação da matéria orgânica, sem contudo alterar o desempenho animal, reduzindo inclusive as concentrações de metano entérico, o que indica uma melhora na eficiência alimentar (MARTIN et al., 2016).

A gordura proveniente da carne e leite de ruminantes possuem propriedades benéficas à saúde humana, pela presença de compostos como ácidos oleico (C18:1), eicosapentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA) e os ácidos linoleico conjugado (CLA) (LEITE e LANNA, 2009). Assim, a quantidade e composição do perfil lipídico irá determinar a qualidade dos produtos cárneos e lácteos (NÖRNBERG et al., 2006).

Os lipídios atuam na modulação do ambiente ruminal de diferentes maneiras. Segundo citado na literatura, os ácidos graxos livres formam uma camada que reveste o alimento, dificultando a captação de partícula de alimentos e ação de enzimas produzidas por micro-organismos que degradam celulose, como bactérias e protozoários. Além disso, os lipídios, por

possuírem propriedades surfactantes, também modificam a estrutura de membrana desses organismos, que prejudica sua multiplicação e leva à morte celular. Esses dois mecanismos podem ocasionar redução da digestibilidade de nutrientes (JENKINS, 1993; NAGARAJA et al., 1997; DESBOIS e SMITH, 2010).

Devido à redução na população celulolítica, a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) é comprometida, havendo redução na concentração de gases de uma maneira geral (YANG et al., 2009; PATRA e YU, 2013). Apesar disso, alguns autores notaram redução na proporção acetato:propionato (BARLETTA et al., 2016b; FREITAS JR. et al., 2019), ressaltando menor perda de energia através de gases e melhor aproveitamento da dieta.

O fornecimento de lipídios aos ruminantes proporciona redução no consumo de matéria seca, como relatado por diversos autores (BARLETTA et al., 2016a, 2016b; ROSSI et al., 2017; FREITAS JR. et al., 2019). Tal redução pode ocorrer devido à associação de vários fatores como aceitabilidade da dieta, nível de energia, liberação de hormônios e oxidação de gordura no fígado, formando compostos que ativam mecanismos de saciedade (ALLEN, 2000). Esses efeitos sobre o alimento dependem, entretanto, do nível de adição e do tipo de fonte de ácido graxo inclusa na dieta, o que vai determinar a taxa de liberação do ácido graxo insaturado, sendo que uma liberação mais lenta, diminui a exposição aos micro-organismos. Por outro lado, o fornecimento de ácidos graxos mais rapidamente disponíveis pode provocar mudanças nos padrões de digestão dos lipídios (DOREAU e CHILLIARD, 1997; NRC, 2001; CHILLIARD et al., 2009).

Ao longo dos últimos 10 anos, estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes fontes de gordura (óleo, grão ou sabões de cálcio) provenientes da soja em dietas para bovinos, de diferentes categorias e aptidões (Tabela 1). No entanto, o efeito dessas fontes de gordura nas variáveis analisadas como consumo, digestibilidade, fermentação ruminal, dentre outros, são controversos, uma vez que foram verificados diferentes comportamentos entre os estudos. Diante disso, é possível inferir que esses comportamentos foram possivelmente associados a fatores como categoria animal, fonte de volumoso utilizado, relação volumoso:concentrado e principalmente diferentes níveis de inclusão nas dietas ofertadas aos animais nesses estudos.

Segundo Jenkins et al. (2008) os lipídios no rúmen podem ser amplamente modificados por seus micro-organismos, através do processo de biohidrogenação. Em virtude disso, o perfil de ácidos graxos fornecido (insaturados) torna-se diferente do que chega ao intestino delgado

para absorção que é formado principalmente por ácidos saturados e intermediários da biohidrogenação. Dessa forma, o metabolismo dos lipídios em nível ruminal está relacionado com o perfil lipídico do produto final.

Tabela 1- Principais achados científicos do efeito da inclusão de diferentes formas de ácidos graxos provenientes da soja em dietas para bovinos.

Autor	Fonte de gordura	Dieta Relação Vol:Con	Categoria Animal	Dose	Principais resultados
Freitas Jr. et al. (2019)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho moído e farelo de soja 80:20	Vacas Holandesas secas	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 32g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS e nutrientes, com exceção de EE; sem efeito na digestibilidade de nutrientes. Fermentação ruminal: redução da concentração de AGCC totais e da relação C2:C3 com inclusão de OS em relação às demais fontes lipídicas. Fluxo e biohidrogenação ruminal: redução da taxa de passagem da MS e FDN com inclusão de fontes de ácidos graxos; redução da biohidrogenação de C18:2 e C18:1 com inclusão de fontes de ácidos graxos protegidos em relação a não protegidos.
Freitas Jr. et al. (2018)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 55:45	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; OS: 2.68% MS; GS: 14.3% MS; SCAG: 2.68%MS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeitos na ingestão e digestibilidade de nutrientes, com exceção do EE; redução da digestibilidade da MS com inclusão de GS em relação à inclusão de SCAG.
Bettero et al. (2017)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 80:20	Vacas Holandesas	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 32 g/kg	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeito das fontes de ácidos graxos na ingestão de MS; redução da digestibilidade da MS e FDN com inclusão de fontes de ácidos graxos. Fermentação ruminal: redução da relação C2:C3 com inclusão de fontes de ácidos graxos; Redução da relação C2:C3 com inclusão de OS em relação ao GS e SCAG; Aumento de pH e da concentração de N-NH ₃ e acetato

Cônsolo et al. (2017)	GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho moído e farelo de soja 40:60	Novilhos Nelore	0 g/kg; 80 g/kg; 160 g/kg; 240 g/kg.	com inclusão de GS em relação a SCAG; aumento da taxa de digestão da MS e FDN com inclusão de GS e SCAG em relação ao OS. Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS e CNF com inclusão de GS; sem efeitos na digestibilidade de nutrientes, com exceção do EE. Fermentação ruminal: aumento do pH com inclusão de 80 g/kg e 160 g/kg; redução do pH com inclusão de 240 g/kg; redução das concentrações de AGCC totais e N-NH ₃ com inclusão de 80 g/kg e 160 g/kg.
Rodrigues et al. (2017)	OS	Cana de açúcar: concentrado à base de milho e farelo de soja 40:60	Vacas Holandesas em lactação	0% MS; 1,57% MS; 4,43% MS; 7,34% MS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS com inclusão de 4,43% e 7,34% de OS. Fermentação ruminal: redução da concentração de AGCC com inclusão de 4,43% e 7,34% de OS; aumento do pH e redução da concentração de N-NH ₃ com inclusão de 7,34% de OS.
Rossi et al. (2017)	GS moído	Silagem de milho: concentrado à base de milho e glicerina bruta 40:60	Novilho Nelore	250 g/kg de AM +62 g GS/kg de EE; 250 g/kg de AM+28 gGS/kg de EE; 110 g/kg de AM + 62 gGS/kg de EE; 110 g/kg de AM + 28 gGS/kg de EE.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS, MO e PB, da digestibilidade da MS e MO e aumento da eficiência alimentar com inclusão de GS. Fermentação ruminal: redução da emissão de CH ₄ com inclusão de GS.

Almeida et al. (2016)	GS SA	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; GS: 120 g/kg; SA: 120 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS e CNF com inclusão de fontes de ácidos graxos; sem efeito na digestibilidade de nutrientes, com exceção do EE. Fermentação ruminal: aumento da concentração de propionato com inclusão de GS em relação a SA; redução das concentrações de N-NH ₃ com inclusão de GS.
Barletta et al. (2016a)	GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	0 g/kg de GS; 80 g/kg de GS; 160 g/kg de GS; 240 g/kg de GS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: 240g/kg GS reduziram ingestão MS e digestibilidade da PB em relação ao CON. Fermentação ruminal: redução das concentrações de N- NH ₃ ruminal com inclusão de GS.
Barletta et al. (2016b)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 65:55	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 30 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS, PB e FDN, aumento da ingestão de EE, redução da digestibilidade da FDN e Kp da MS com inclusão de fontes de ácidos graxos. Fermentação ruminal: aumento do pH e redução da relação C2:C3 com inclusão de fontes de ácidos graxos.
Gandra et al. (2016b)	LIN GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 70:30	Vacas Holandesas em pré e pós-parto	CON: LIN: 60 e 80 g/kg; GS: 120 e 160 g/kg; SCAG: 24 e 32 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: aumento da ingestão de MS no pré e pós-parto com inclusão de LIN; sem efeito das fontes de ácidos graxos na digestibilidade da MS e FDN; redução da digestibilidade da PB no pós-parto e a FDN no pré-parto com inclusão de LIN.

Naves et al. (2015)	GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0; GS inteiro: 200 g/kg; GS moído a 4mm: 200 g/kg; GS moído a 2mm: 200 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS e CNF com inclusão de GS. Fermentação ruminal: redução da concentração ruminal de propionato com inclusão do grão inteiro em relação ao moído.
Venturelli et al. (2015)	GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 60:40	Vacas Holandesas em lactação	0 % MS; 9 % MS; 18 % MS; 27% MS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeito do GS na ingestão de MO, PB e FDN; redução da ingestão de MS e CNF com inclusão de GS; aumento da ingestão de EE e da digestibilidade do EE e FDN com inclusão de GS.
Santana et al. (2014)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 60:40	Novilhos de corte	OS: 26 g/kg; GS: 140 g/kg; SCAG: 32 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeito das fontes de ácidos graxos na ingestão de nutrientes.
Fioretini et al. (2013)	OS GS SCAG	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 60:40	Novilhos de corte	OS: 26 g/kg; GS: 140 g/kg; SCAG: 32 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeito das fontes de ácidos graxos na ingestão de MS e nutrientes; aumento da digestibilidade da MO com inclusão do OS em relação ao GS. Fermentação ruminal: sem efeito das fontes de ácidos graxos no pH e concentração de AGCC; aumento das concentrações de N-NH ₃ e acetato com inclusão de SCAG em relação às demais fontes.

OS: Óleo de Soja; GS: Grão de Soja; SCAG: Sais de Cálcio de Ácidos Graxos; CON: Controle; AM: Amido; SA: Semente de Algodão; LIN: Linhaça; AG: Ácidos Graxos; AGCC: Ácidos Graxos de Cadeia Curta; C2: Acetato; C3: propionato; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; MS: matéria Seca; EE: Extrato Etéreo; PB: Proteína Bruta; FDN: Fibra em Detergente Neutro; CNF: Carboidratos Não-Fibrosos; MO: Matéria Orgânica; CH₄: Metano; Kp: taxa de passagem.

4.3 Uso de grão de soja na alimentação de ruminantes

Dentre as diferentes fontes de proteínas e gorduras disponíveis para a alimentação de ruminantes, o grão de soja (GS) se destaca por sua alta disponibilidade, baixo custo e alto valor nutricional (Barletta et al., 2016a). O grão de soja cru apresenta 19% de gordura, 39% de proteína bruta e 90,5% de NDT, sendo portanto, considerado boa fonte de energia e proteína. Além da alta concentração, a proteína presente na semente da soja possui um valor biológico adequado às exigências dos ruminantes, a fibra apresenta alta digestibilidade e o perfil lipídico é rico em ácidos graxos insaturados (NRC, 2001). Este produto vem sendo utilizado na alimentação de ruminantes com o objetivo de aumentar a densidade energética de dietas para diversas categorias animais e tem como vantagem ser fonte de gordura protegida, podendo ser utilizado inteiro e cru ou processado (ZANFERARI, et al., 2018). Além das características nutricionais, grão de soja também se destaca pela aceitabilidade dos animais.

O grão de soja integral pode ser considerado uma fonte de gordura naturalmente protegida, visto que os lipídeos encontram-se protegidos pela matriz proteica. Portanto, para que as bactérias possam acessar ácidos graxos e liberar lipases sobre o conteúdo celular, é necessária a degradação da parede celular (SILVA, 2005). Essa característica possibilita a liberação lenta dos ácidos graxos durante a fermentação ruminal, permitindo, assim, a biohidrogenação quase em sua totalidade à medida que o grão é triturado através da mastigação e ruminação pelos animais. Quando o grão escapa do processo de trituração mecânica, sua influência na microbiota ruminal será reduzida, não causando efeitos negativos na digestibilidade da fibra, conforme ressaltado por Freitas Jr. (2012).

As sementes de oleaginosas se caracterizam por apresentar alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados, com destaque para o ácido linoléico (C18:2). Assim, no grão de soja são encontradas as maiores concentrações deste ácido (DHIMAN et al., 2005). Conforme descrito por alguns autores, o grão de soja inteiro proporciona maior fluxo de ácidos insaturados para o intestino, devido à redução da taxa de biohidrogenação ruminal (BARLETTA et al. 2016b; BETTERO et al. 2017; FREITAS JR. et al. 2018).

A grande quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR) presente na semente pode ser transformada em proteína não degradada no rúmen (PNDR) por meio de tratamento térmico, evitando que os ácidos insaturados sejam metabolizados no rúmen (BARLETTA et al. 2016a). Outro mecanismo de proteção do lipídio é o tratamento químico em que são formados sais e um exemplo são os sais de cálcio de ácidos graxos, produto comercialmente utilizado.

O fornecimento de dietas para vacas leiteiras com fontes de gordura protegidas nas formas de sais de cálcio de ácidos graxos (SCAG) e protegidas naturalmente (sementes oleaginosas), aumenta a quantidade de AGPI no intestino delgado. Assim como os sais de cálcio, o complexo proteico que envolve o cotilédone nas sementes protege seu conteúdo lipídico da biohidrogenação enzimática (DOREAU et al., 2016).

O uso de GS, entretanto, pode causar redução do consumo e digestibilidade, resultando em menor desempenho animal, como relatado por Barletta et al., (2016a). Segundo observado pelos autores, a inclusão de GS promoveu alterações da fermentação a ponto de provocar queda na IMS e digestibilidade da PB com altas doses de grão de soja (240 g/kg de MS), ao passo que doses menores (160 g/kg de MS) foram consideradas adequadas para o bom desempenho produtivo e metabólico de vacas em lactação. Já em outra categoria animal a resposta à ingestão de GS foi diferente, como no caso de bovinos em terminação que aumentaram a eficiência alimentar com redução na emissão de metano consumindo GS (250g/kg de MS) (ROSSI et al., 2017). Desta forma, pode-se afirmar que o nível de inclusão do GS integral na dieta depende da categoria animal a ser utilizada.

De forma similar, outros autores avaliaram o efeito de níveis crescentes de GS integral na alimentação de bovinos de corte (CÔNSOLO et al., 2017) e observaram redução na IMS, sem contudo reduzir sua digestibilidade com o nível mais alto de inclusão de GS (240 g/kg de MS), assim como redução do pH e aumento na concentração ruminal de N-NH₃ em relação aos demais níveis de inclusão. Já em outro estudo com vacas leiteiras, alto nível de inclusão de GS (270 g/kg de MS) também proporcionou redução de consumo, sem alteração na digestibilidade e, apesar de ter havido redução na produção de leite, a quantidade de ácidos insaturados neste produto, bem como concentração de gordura aumentaram, demonstrando que o GS pode ser utilizado como estratégia para melhorar a qualidade do leite (VENTURELLI et al., 2015).

Assim como os estudos acima mencionados, Barletta et al. (2012) observaram redução no consumo de MS com inclusão de 240g/kg de GS, além de redução na produção de leite, ao passo que níveis mais baixos de GS (80 g/kg e 160 g/kg) não apresentaram diferença em relação ao controle. Em estudo posterior, além da redução no consumo de MS e produção de leite, com o mais alto nível de inclusão, o fornecimento de 240g/kg de MS proporcionou menor digestibilidade da proteína bruta e maior excreção fecal de nitrogênio, ao passo que a concentração de N-NH₃ apresentou redução nos valores em relação à dieta sem adição de GS.

Apesar da redução no teor de proteína no leite a dieta com maior proporção de GS mostrou maior teor de ácidos graxos insaturados, como o cis C18:2 (BARLETTA et al., 2016a).

Tendo em vista que o grão inteiro é uma forma de gordura protegida que reduz a metabolização ruminal dos lipídios, a redução do tamanho de partículas pode alterar o efeito do grão no ambiente ruminal, consumo e digestibilidade do alimento. Naves et al. (2013) avaliaram o efeito de diferentes graus de moagem do GS sobre consumo, produção de leite e parâmetros sanguíneos e constataram que a trituração não afetou o consumo, quando o próprio foi afetado pela inclusão de GS. Assim, os autores concluíram que não há necessidade de processamento do grão de soja cru para sua utilização na alimentação de vacas de leite.

Em estudo mais recente, testando também o processamento físico do grão no desempenho produtivo, digestão e no perfil de AG do leite de vacas leiteiras, Naves et al. (2015) observaram que o grão de soja triturado promove resultados semelhantes ao grão inteiro. O grão de soja, independente da moagem, reduziu a IMS e CNF, enquanto aumentou a ingestão de EE, a energia líquida de lactação (ELL) e ácidos graxos insaturados no rúmen. Apesar de promover alterações, como aumento de propionato e menor excreção fecal de nitrogênio, que indica melhor aproveitamento da semente, de uma forma geral, dietas com partículas menores não alteraram o desempenho e metabolismo ruminal.

4.4 Uso de óleo de soja na dieta para ruminantes

Os lipídios são utilizados para aumentar a densidade energética de dietas para vacas leiteiras de alta produção e para melhorar a qualidade da carne em bovinos para corte (FIORENTINI et al., 2015; BAYAT et al., 2018). Entretanto, o fornecimento de altos níveis de lipídeos na dieta podem ocasionar alteração na fermentação ruminal, comprometer a ingestão de MS e digestibilidade da fibra e por fim, prejudicar o desempenho animal (EUGÈNE et al., 2011). Outro fator que interfere nestes parâmetros é o grau de proteção do ácido graxo. Sementes e sais de cálcio, por exemplo, são respectivamente natural e quimicamente protegidas e fornecem maior proteção aos AG contra a biohidrogenação ruminal do que os óleos vegetais (CHILLIARD et al., 2009; JENKINS e BRIDGES, 2007; BARLETTA et al., 2016b). Ao mesmo tempo gorduras parcialmente protegidas tem liberação lenta de ácidos graxos, podendo não exceder a capacidade de biohidrogenação das bactérias, resultando em maior teor de ácido saturados, em comparação com fontes desprotegidas, como o óleo de soja (SANTANA, et al., 2017).

Os óleos vegetais, como o de soja, palma, canola, são fornecidos como estratégia para suprir a exigência energética do animal, sem que necessite aumentar o seu consumo. Todavia, podem potencializar esses efeitos negativos, visto que são fontes de gordura desprotegidas que chegam ao rúmen prontamente disponíveis para utilização pelas bactérias; dependendo da quantidade ingerida, podem exceder a taxa de biohidrogenação, causando efeitos deletérios na microbiota ruminal.

Segundo descrito por Allen (2000), dietas contendo alto nível de volumoso aumentam a retenção ruminal e, por conseguinte, levam a uma baixa taxa de passagem do alimento. Dessa forma, os lipídeos presentes na dieta ficam mais expostos à biohidrogenação ruminal. Assim, o fornecimento de ácido graxo desprotegido associado à dieta rica em forragem facilita ainda mais a biohidrogenação ruminal, formação de ácidos saturados e seus intermediários.

A redução da taxa de passagem, além de aumentar a taxa de biohidrogenação, aumenta também a os efeitos deletérios dos ácidos insaturados sobre as bactérias ruminais, principalmente as que degradam a fibra. Desta forma, ao invés da eficiência microbiana aumentar, devido ao maior tempo de retenção do alimento no rúmen, esta tende a diminuir, devido à ação dos ácidos graxos livres na microbiota (BARLETTA et al., 2016b).

Por ser uma fonte de gordura disponível para ação dos micro-organismos, o óleo de soja possui maior taxa de biohidrogenação e conseqüentemente menor fluxo de ácidos insaturados para o duodeno, quando comparado às fontes de gordura protegidas, como grão de soja e sais de cálcio de ácidos graxos. Além disso, tende a reduzir a digestibilidade da fibra e a concentração de C18:2 cis no leite (BARLETTA et al., 2016b; BETTERO et al., 2017). Ainda segundo estes autores, há aumento na concentração de propionato, com conseqüente redução na relação C2:C3, que indica maior aproveitamento da dieta, devido a inibição dos micro-organismos fibrolíticos, que favorecem a produção de metano, em favor das bactérias amilolíticas. Além desses resultados, Bettero et al. (2017) observaram ainda redução da taxa de digestão e renovação ruminal causada pelo OS.

Alguns efeitos da inclusão do OS são similares ao fornecimento de GS. Fiorentini et al. (2018) relataram redução nas ingestões de MS, FDN e PB e nas digestibilidades da MS e MO, em novilhos Nelore, assim como, na inclusão do grão inteiro. Os autores observaram maior ingestão de ácido linoleico e ácidos insaturados totais e ainda, presença de maior quantidade CLA e ácidos linoleicos incorporados na carne de bovinos.

Em contrapartida, Silva et al. (2018) observaram aumento nos consumos de MS, MO e PB em novilhos Nelore, embora a digestibilidade da fibra também tenha sido alterada com adição de OS na dieta. O peso de carcaça, e cobertura de gordura também foram maiores, apesar de não ter sido notado efeito do OS sobre a proporção AGS:AGI na carne. Santana et al. (2017) avaliando novilhos de corte em pastejo suplementados com OS, observaram redução do ácido esteárico, bem como aumento do ácido rumênico (C18:2 cis-9, trans-11), de ácidos graxos monoinsaturados totais e também da relação ácidos graxos monoinsaturados:saturados no músculo dos animais, reforçando as vantagens de utilização de óleos na dieta de ruminantes.

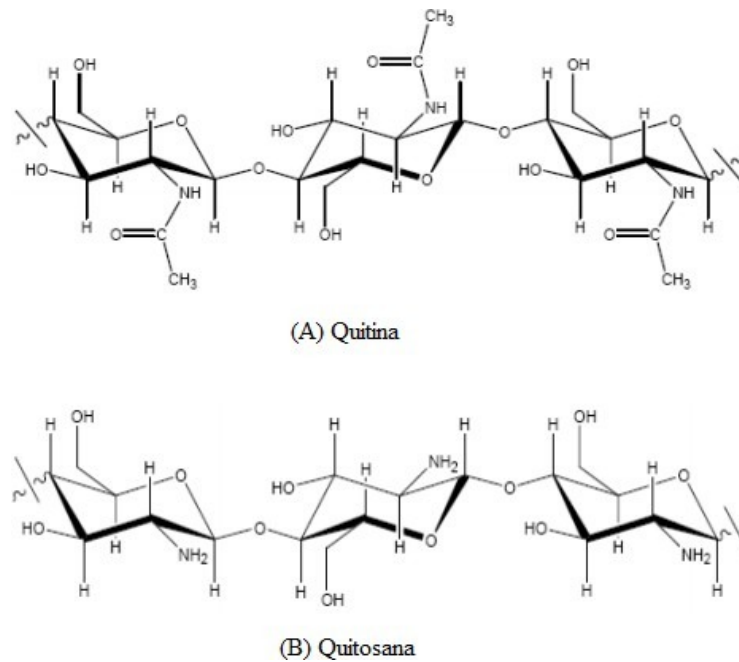
4.5 Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes

Com a proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento, tem-se tornado constante a busca por produtos alternativos que desempenhem a mesma ação sobre a microbiota do rúmen (VENDRAMINI, et al., 2016). Dentre estes, a quitosana se destaca por ser um produto natural, renovável e biodegradável. (KONG et al., 2010). Por ser um coproduto, apresenta também importância ambiental, pois tem sido descartado amplamente pela indústria pesqueira, podendo se tornar um poluente. Portanto, a utilização na produção animal pode reduzir os impactos ambientais causados pelo acúmulo desses resíduos não armazenados.

Além da alimentação de monogástricos e ruminantes, este composto tem sido utilizado em diversas outras áreas, seja sozinha ou em associação, como por exemplo na indústria têxtil, no processamento e conservação de alimentos, na indústria farmacêutica e de cosméticos, tratamento de água e também como inoculantes de silagem. (JIMÉNEZ-OCAMPO et al., 2019).

A quitosana é um produto derivado da quitina, polímero componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos e da parede celular de fungos e algas. Este composto é obtido pela desacetilação da quitina, com uso de soluções de concentradas de hidróxido de sódio (NaOH, 40-50%). A diferenciação entre os dois polímeros é feita pela porcentagem de unidades GlcNAc (N-acetilglicosamina) e GlcN (Glicosamina) (SANTOS, 2018). No processo de desacetilação, os grupos acetamida (-NHCOCH₃) presentes na quitina são decompostos em grupos amino (NH₂), formando a quitosana. Neste processo são removidos todos ou a grande maioria dos grupos de acetila da quitina, liberando os grupos amino que compõem a natureza catiônica da quitosana (COSTA, 2013) (Figura 2).

Figura 2 – Estrutura química da quitina (A) e da quitosana (B).



Fonte: Antonino, (2007).

Quanto maior o grau de desacetilação maior a presença de grupos amina, que irá apresentar cargas positivas, conferindo solubilidade em meio aquoso. Esta característica promove melhor reação com cargas negativas e polímeros aniônicos. Em meio ácido, as cargas positivas interagem com as cargas negativas de moléculas presentes na superfície celular bacteriana, possivelmente competindo com Ca^{+2} por sítios negativos na membrana sem atribuir estabilidade, tornando a membrana permeável (SANTOS, 2018). Desta forma, há vazamento de conteúdo intracelular, ocasionando a morte da célula. Outros mecanismos de ação sugeridos são a capacidade quelante com vários íons metálicos, incluindo Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+} em condições ácidas ou neutras (JIMÉNEZ-OCAMPO et al., 2019).

Alguns autores relataram que a interação entre a quitosana e os micro-organismos variam de acordo com o pH. Em meio neutro a carga positiva da quitosana se liga à proteína externa da membrana bacteriana, que é carregada negativamente. Já em condições de pH ácido, a quitosana se liga aos lipopolissacarídeos presentes na membrana da célula bacteriana através dos mesmos mecanismos iônicos. A atividade antimicrobiana da quitosana é maior em meio ácido, devido à perda de cargas positivas no grupo amino mediante pH neutro (JEON et al.

2014). Assim, na produção de ruminantes, o uso da quitosana é recomendada em associação à dietas contendo alto teor de concentrado.

Quando o pH do ambiente está abaixo do pka da quitosana, as interações eletroestáticas entre os cátions da quitosana e as estruturas aniônicas dos micro-organismos se tornam mais fortes. Já quando o pH encontra-se acima do pka deste composto, a ação ocorre por meio de efeitos quelantes e hidrofóbicos (KONG et al., 2010).

Devido à membrana celular externa, as bactérias gram-negativas são menos susceptíveis à ação da quitosana. Entretanto, nas gram-positivas a quitosana consegue ligar-se facilmente e altera o transporte de íons através da membrana celular bacteriana. Os micro-organismos ruminais, de maneira geral, mantêm alta concentração de potássio dentro da célula, deixando o sódio e outros prótons extracelularmente (HAROLD, 1986). Dessa forma, a concentração de sódio no rúmen é 2 a 10 vezes maior que a concentração de potássio (DURAND e KAWASHIMA, 1980). Com a ação dos ionóforos, ocorre o influxo de sódio e outros íons de carga positiva para célula bacteriana, fazendo com que, bactéria entre em ciclo fútil para manter seu potencial de membrana e evitar o influxo de água e o rompimento celular (RUSSELL e HOULIHAN, 2003).

Em ambiente ruminal a quitosana possui baixa estabilidade, podendo, assim como a celulose ser degradada pela microbiota ruminal. Entretanto, não tem sido identificadas bactérias que exercem de fato a degradação deste composto (SOUZA et al., 2011; BELANCHE, et al., 2016).

Com ação nas bactérias gram-positivas no rúmen, a quitosana exerce efeito principalmente na redução de bactérias fibrolíticas, reduzindo sua população e favorecendo o aumento das bactérias amilolíticas; melhora a digestibilidade dos nutrientes e com isso o consumo de alimentos é reduzido, sem que ocorra prejuízos no desempenho animal (GANDRA et al., 2016a). Ao mesmo tempo, reduz a deaminação em nível ruminal, através da ação sobre bactérias hiper produtoras de amônia, e desta forma ocorre uma melhor utilização de nitrogênio, com passagem de maior quantidade de aminoácidos para o duodeno e maior absorção. Sendo assim, animais alimentados com dietas contendo quitosana, são capazes de reter melhor o N (PAIVA et al., 2016). Araújo et al. (2015) observaram aumento dos coeficientes de digestibilidade da MS, FDN e PB com a inclusão de quitosana na alimentação de bovinos Nelore, ao mesmo tempo que reduziu a produção de N-NH₃ e a relação C2:C3 com o

fornecimento de 150 mg/kg de MS, a dose mais alta testada, o que confere um melhor aproveitamento da proteína e energia do alimento.

Estudos foram conduzidos nos últimos 10 anos com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes níveis de quitosana, bem como em associação com fontes de ácidos graxos em dietas para bovinos (Tabela 2).

Os efeitos da quitosana em bovinos em pastejo mostraram-se equivalentes à produção em confinamento. Bovinos mantidos em pastagem de *Urochloa brizantha* e suplementados com concentrado e doses crescentes de quitosana apresentaram maior digestibilidade aparente total de MS e PB. A dose mais alta utilizada (1600mg/kg de MS do concentrado) reduziu a concentração de N-NH₃, enquanto que aumentou a concentração de propionato ruminal sem afetar a concentração total de AGCC. Dessa forma, foi possível concluir que a quitosana melhorou a utilização de energia do alimento (DIAS et al., 2017).

Em vacas leiteiras, estudos confirmam a ação da quitosana na melhoria das digestibilidades de MS e PB (VENDRAMINI et al., 2016; MINGOTI et al., 2016; PAIVA et al., 2016). Os autores relataram efeito positivo da quitosana na digestibilidade da MS e nutrientes, favorecimento na retenção de N e proporção C2:C3 sem, contudo, haver interferência no consumo e produção de leite. O perfil de ácidos graxos também não apresentou alterações significativas (MINGOTI et al., 2016). Os autores atribuíram os resultados à interação da quitosana com o nível de EE e a fonte de ácido graxo utilizado na dieta.

No entanto, um estudo *in vitro* realizado por Goiri et al. (2010) apontou redução C18:0 enquanto C18:1, C18:1t11, CLA total e a taxa C18 não saturado:saturado aumentaram. Os autores sugeriram que a quitosana interage com as cargas negativas dos ácidos graxos livres impedindo o processo de biohidrogenação. Além disso, essa interação pode ocorrer também de forma indireta, através da ação em micro-organismos que promovem a hidrogenação dos ácidos.

Estudos mais recentes avaliando a interação entre quitosana e fontes lipídicas mostraram efeitos da associação nas digestibilidades tanto da MS e PB, quanto da fibra em vacas leiteiras e também em novilhos de corte. A quitosana quando utilizada de forma isolada, também proporcionou melhor conversão alimentar em vacas em lactação (MINGOTI et al., 2016; DEL VALLE et al., 2017; DIAS et al., 2017).

Alguns efeitos no perfil de ácidos graxos no leite como maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados no leite, maior relação insaturado:saturado, bem como maior

concentração de ômega 3 e ômega 6 e menor concentração de C16:0 foram encontrados no leite de vacas alimentadas com quitosana. Os autores concluíram que a quitosana promove efeitos benéficos no desempenho e perfil de ácidos graxos no leite, entretanto a associação com óleo de soja afeta negativamente a produção dos animais (DEL VALLE et al., 2017).

Zanferari et al. (2018) observaram que a associação de quitosana e grão de soja afetou negativamente a ingestão de nutrientes e a digestibilidade em vacas lactantes, diminuindo a produção de leite e a produção de sólidos. Entretanto, a inclusão deste aditivo sem utilização de fonte de gorduras diminuiu a relação acetato:propionato, e melhorou o perfil de ácidos graxos no leite, através do aumento poli-insaturados e CLA.

Tabela 2 - Principais achados científicos do efeito da inclusão de diferentes níveis de quitosana e associação a fontes de ácidos graxos em dietas para bovinos, nos últimos 10 anos.

Autor	Aditivo	Dieta Relação Vol:Con	Categoria Animal	Dose	Principais Resultados
Zanferari et al. (2018)	QT GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; QT: 4 mg/kg; GS: 14% na MS QT + SG: 4 mg/kg + 14% GS na MS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: aumento na ingestão de EE e redução da digestibilidade da PB com inclusão de GS; redução da digestibilidade de nutrientes com associação de GS e QT. Fermentação ruminal: aumento do pH e redução da relação C2:C3 com inclusão de QT; redução das concentrações de N-NH ₃ , C2 e C3 com inclusão de GS.
Del Valle et al. (2017)	QT; OS.	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; QT: 4 g/kg; OS: 33 g/kg; QT+OS: 4 g/kg + 33 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução da ingestão de MS e aumento da digestibilidade da MS e PB com inclusão de QT. Fermentação ruminal: redução da relação C2:C3 com inclusão de OS.
Dias et al. (2017)	QT	Pastejo de <i>Urochloa brizantha</i> : concentrado à base de milho e farelo de soja na proporção de 150g/100kg PC	Novilhos de corte	0 mg/kg; 400 mg/kg; 800 mg/kg; 1200 mg/kg; 1600 mg/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: aumento da ingestão de forragem e FDN e da digestibilidade da MS e PB com inclusão de 800 e 1200mg/kg de QT. Fermentação ruminal: sem efeitos da inclusão de QT no pH ruminal; aumento da concentração de C3; aumento da concentração ruminal de N-NH ₃ ; redução da relação C2:C3 com inclusão de 1200 mg/kg.

Mingoti et al. (2016)	QT	Silagem de milho: concentrado à base de milho, farelo de soja e grão de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	0 mg/kg; 50 mg/kg; 100 mg/kg; 150 mg/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeitos inclusão de QT na ingestão de MS; aumento da digestibilidade a MS, MO e PB com inclusão de QT.
Gandra et al. (2016)a	QT; GS.	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Novilhas Jersey	CON: 0 g/kg; QT: 2 g/kg; GS: 163 g/kg; QT+GS: 2 g/kg + 163 g/kg.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: redução na ingestão de MS e FDN e da digestibilidade da MS com inclusão de QT; redução da ingestão de CNF com inclusão de GS; aumento na retenção de N com associação de QT + GS.

Paiva et al. (2016)	QT	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 60:40	Vacas Holandesas em lactação	0 mg/kg de PC; 75 mg/kg de PC; 150 mg/kg de PC; 225 mg/kg de PC.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeitos da inclusão de QT na ingestão de MS; aumento da digestibilidade da PB com inclusão de QT. Fermentação ruminal: aumento da concentração de propionato e redução da relação C2:C3 com inclusão de QT; sem efeitos inclusão de quitosana no pH, concentrações de C2 e N-NH ₃ .
Vendramini et al. (2016)	QT; OE; MON.	Silagem de milho: concentrado à base de milho, farelo de soja e grão de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0mg/kg; OE: 1 g/dia; QT: 150 mg/kg PC; MON: 24 mg/kg MS.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes: sem efeito dos aditivos na ingestão de MS e nutrientes; aumento da digestibilidade da MS com inclusão de QT em relação a OE e da digestibilidade da PB com inclusão de QT e MON. Fermentação ruminal: redução da relação C2:C3 com inclusão da MON em relação a QT e OE.

QT: Quitosana; GS: Grão de Soja; OS: Óleo de Soja; OE: Óleo Essencial; MON: Monensina; AGCC: Ácidos Graxos de Cadeia Curta; C2: acetato; C3: propionato; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; MS: matéria Seca; EE: Extrato Etéreo; PB: Proteína Bruta; FDN: Fibra em Detergente Neutro; MO: Matéria Orgânica.

De uma maneira geral a quitosana promove aumento da digestibilidade da MS e PB, entretanto tais resultados, bem como outras variáveis, podem variar dependendo do nível de inclusão e da associação com fontes de lipídeos. Além destes fatores, características como categoria animal, fonte de volumoso utilizado, relação volumoso:concentrado, e, principalmente diferentes graus de desacetilação da quitosana fornecida na dieta também podem influenciar as respostas do animal.

Diante deste cenário, nota-se que estudos conduzidos ao longo dos anos com o objetivo de avaliar a inclusão da quitosana e de fontes de gordura utilizando a soja como alimento em dietas para bovinos, ou demais espécies de ruminantes têm sido amplamente realizados. Apesar disso, ainda é preciso entender de forma mais aprofundada quais os níveis de inclusão mais adequados, de tanto de quitosana quanto de ácidos graxos, para fornecimento em dietas para bovinos, em diferentes categorias animais, em cada tipo de sistema de criação e em condições tropicais. Dessa forma, será possível entender e explorar o potencial desses alimentos em dietas para bovinos, com o objetivo de promover melhor desempenho produtivo, funcionamento do ambiente ruminal e, conseqüentemente, proporcionar benefícios na qualidade do produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1598-1624, 2000.

ANDREAZZI, A. S. R.; PEREIRA, M. N.; REIS, R. B.; PEREIRA, R. A. N.; MORAIS JÚNIOR, N. N.; ACEDO, T. S.; HERMES, R. G.; CORTINHAS, C. S. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 8, p. 7199-7207, 2018.

ALMEIDA, G. F.; DEL VALLE, T. A.; PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; TAKIYA, C. S.; RENNÓ, F. P. Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. **Animal Production Science**, v. 57, n. 1, p. 122-128, 2017.

ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS JUNIOR, J. E.; BARLETTA, R.V.; GANDRA, J. R.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F. P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 206, p. 114-118, 2015.

ANTONINO, N. A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana**. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2007.

BARLETTA, R.V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JUNIOR J. E.; VERDURICO, L. C.; 1, MINGOTI, R. D.; BETTERO, V. P.; BENEVENTO, B. C.; VILELA, F. G.; RENNO, F. P. High levels of whole raw soya beans in dairy cow diets: digestibility and animal performance. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 6, p. 1179-1190, 2016a.

BARLETTA, R.V. BARLETTA; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; ARAÚJO, C. E.; VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F.; JESUS, E. Ferreira; MINGOTI, R. D.; BENEVENTO, B. C.; FREITAS JÚNIOR, J. E. de. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids

in lactating cows: oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 111-121, 2016b.

BARLETTA, R. V.; RENNÓ, F. P.; GANDRA, J. R.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; VERDURICO, L. C.; MINGOTI, R. D.; VILELA, F. G. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de Zootecnia**, v.61, n.236, p.483-492, 2012.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203-227, 2003.

BAYAT, A. R.; TAPIO, I.; VILKKI, J.; SHINGFIELD, K. J.; LESKINEN, H. Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1136-1151, 2018.

BELANCHE, A.; RAMOS-MORALES, E.; NEWBOLD, C. J. In vitro screening of natural feed additives from crustaceans, diatoms, seaweeds and plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 3069-3078, 2016.

BETTERO, V. P.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; ARAÚJO, C. E.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; TAKIYA, C. S.; ZANFERARI, F.; PAIVA, P. G.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 30-38, 2017.

BUCCIONI, A.; DECANDIA, M.; MINIERI, S.; MOLLE, G.; CABIDDU, A. Lipid metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with emphasis on the role of endogenous plant factors. **Animal Feed Science and Technology**, v. 174, p. 1-25, 2012.

CHILLIARD, Y.; MARTIN, C.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.10, p. 5199-5211, 2009.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 8, p. 828-855, 2007.

COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; YU, Z. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: a review. **Science of the Total Environment**, v. 545, p. 556-568, 2016.

CÔNSOLO, N. R. B.; GANDRA, J. R.; GARDINAL, R.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; TAKIYA, C. S.; RENNÓ, F. P.; PEREIRA, A. S. C. Effect of different dietary inclusion levels of whole raw soyabean on ruminal fermentation and nutrient utilization in Nelore steers. **Journal of Animal Feed Sciences**, v. 26, n. 4, p. 311-318, 2017.

COSTA, A. C. S. **Nanopartículas de quitosana para aplicação em sanidade de tabaquis amazônicos (colossoma macropomum)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará /Instituto de Ciências da Saúde. Belém, 2013.

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

DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1629-1642, 2010.

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

DHIMAN, T.R.; NAM, S.H.; URE, A.L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 6, p. 463-482, 2005.

DOREAU, M.; MEYNADIER, A.; FIEVEZ, V.; FERLAY, A. Ruminant metabolism of fatty acids: Modulation of polyunsaturated, conjugated, and trans fatty acids in meat and milk. In: **Handbook of Lipids in Human Function**. AOCS Press, 2016. p. 521-542.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 1, p. S15-S35, 1997.

DURAND, M.; KAWASHIMA, R. Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: THIVEND, Y. R. A. P. (Ed.). **Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants**. Westport, CN.: AVI Publishing, p. 375-408, 1980.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2019. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos> >. Acesso em: 26 jun 2020.

EUGÈNE, M.; MARTIN, C.; MIALON, M. M.; KRAUSS, D.; RENAND, G.; DOREAU, M. Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166, p. 330-337, 2011.

EUROPEAN COMMISSION. **Regulation (EC) No. 1831/2003** of the European parliament and of the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Off. J. L268: 229-243. 2003.

FIORENTINI, G.; MESSANA, J. D.; NETO, A. J.; SGOBI, E. G.; CASTAGNINO, P. S.; BERCHIELLI, T. T. Performance and meat quality of Nellore bulls fed crude glycerin combined with soybean oil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 241, p. 45-54, 2018.

FIORENTINI, G.; LAGE, J. F.; CARVALHO, I. P.; MESSANA, J. D.; CANESIN, R. C.; REIS, R. A.; BERCHIELLI, T. T. Lipid sources with different fatty acid profile alters the fatty acid profile and quality of beef from confined Nellore steers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 7, p. 976, 2015.

FIORENTINI, G.; CARVALHO, I. P. C.; MESSANA, J. D.; CASTAGNINO, P. S.; BERNDT, A.; CANESIN, R. C.; FRIGHETTO, R. T. S.; BERCHIELLI, T. T. Effect of lipid sources with different fatty acid profiles on the intake, performance, and methane emissions of feedlot Nellore steers. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1613-1620, 2014.

FIORENTINI, G; MESSANA, J. D.; DIAN, P. H. M.; REIS, R. A.; CANESIN, R. C.; PIRES, A. V.; BERCHIELLI, T. T. Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 181, n. 1-4, p. 26-34, 2013.

FREITAS JÚNIOR, J. E; BETTERO, V. P.; ZANFERARI, F.; DEL VALLE, T. A.; PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; TAKIYA, C. S.; LEITE, L. C.; DIAS, M.; RENNÓ, F. P. Ruminant fatty acid outflow in dry cows fed different sources of linoleic acid: reticulum and omasum as alternative sampling sites to abomasum. **Archives of Animal Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 171-193, 2019.

FREITAS JÚNIOR, J. E; TAKIYA C. S.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; VENTURELLI, B. C.; VENDRAMINI, T. H. A.; MINGOTI, R. D.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; JESUS, E. F.; OLIVEIRA, M. D. S.; RENNÓ, F. P. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 7881-7891, 2018.

FREITAS JÚNIOR., J. E. **Fontes de gordura na dieta de vacas em lactação**. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 2012.

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R. D.; PAIVA, P. G. D.; GANDRA, É. R. D. S.; ARAKI, H. M. C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 3, p. 130-137, 2016a.

GANDRA, J. R.; MINGOTI, R. D.; BARLETTA, R. V.; TAKIYA, C. S.; VERDURICO, L. C.; FREITAS JR, J. E.; PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; CALOMENI G. D.; RENNÓ, F. P. Effects of flaxseed, raw soybeans and calcium salts of fatty acids on apparent total tract digestibility, energy balance and milk fatty acid profile of transition cows. **Animal**, v. 10, n. 8, p. 1303-1310, 2016b.

GENG, C. Y., REN, L. P., ZHOU, Z. M., CHANG, Y., & MENG, Q. X. Comparison of active dry yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and yeast culture for growth performance,

carcass traits, meat quality and blood indexes in finishing bulls. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 8, p. 982-988, 2016.

GOIRI, I.; INDURAIN, G.; INSAUSTI, K.; SARRIES, V.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Ruminant biohydrogenation of unsaturated fatty acids in vitro as affected by chitosan. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, n. 1-2, p. 35-40, 2010.

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

GUGLIELMELLI, A.; CALABRÒ, S.; CUTRIGNELLI, M.; GONZALEZ, O.; INFASCELLI, F.; TUDISCO, R.; PICCOLO, V. In vitro fermentation and methane production of fava and soy beans. **EAAP Scientific Series**, v. 127, n. 1, p. 457-460, 2010.

HAROLD, F. M. **The vital force**: a study of bioenergetics. New York, NY: W.H. Freeman and Co., 1986.

JENKINS, T.C; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E. E. Board-invented review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v.86, n.2, p. 397-412, 2008.

JENKINS, T.C.; BRIDGES W.C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **Europe Journal Lipid Science Technology**, v 109, p.778-789, 2007.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3851-3863, 1993.

JEON, S. J.; OH, M.; YEO, W. S.; GALVAO, K. N.; JEONG, K. C. Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92723, 2014.

JIMÉNEZ-OCAMPO, R.; VALENCIA-SALAZAR, S.; PINZÓN-DÍAZ, C. E.; HERRERA-TORRES, E.; AGUILAR-PÉREZ, C. F.; ARANGO, J.; KU-VERA, J. C. The role of chitosan as a possible agent for enteric methane mitigation in ruminants. **Animal**, v. 9, n. 11, p. 942, 2019.

- JOUANY, J. P.; MORGAVI, D. P. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v. 1, n. 10, p. 1443-1466, 2007.
- KRAMER, J. K. G.; SEHAT, N.; DUGAN, M. E. R.; MOSSOBA, M. M.; YURAWECZ, M. P.; ROACH, J. A. G.; EULITZ, K.; AALHUS, J. L.; SCHAEFER, A. L.; KU, Y. Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion-high-performance liquid chromatography. **Lipids**, v. 33, n. 6, p. 549-558, 1998.
- KONG, M.; CHEN, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51-63, 2010.
- LEITE, L.C.; LANNA, D.P.D. Avanços no estudo do metabolismo de lipídeos: perfil da gordura depositada na carne ou secretada no leite de ruminantes. In: SILVA, L.F.P.; RENNÓ, F.P. II Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes. Ed. 5D, v. 1, p. 147-164, 2009.
- MADRON, M. S.; PETERSON, D. G.; DWYER, D. A.; CORL, B. A.; BAUMGARD, L. H.; BEERMANN, D. H.; BAUMAN, D. E. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 4, p. 1135-1143, 2002.
- MAGALHÃES, T. S.; CARVALHO, G. G. P.; SANTOS, E. M.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; PINA, D. S.; PINTO, L. F. B.; MOURÃO, G. B.; SOARES, F. D. S.; EIRAS, C. E.; CIRNE, L. G. A.; LEITE, L. C. Effect of cottonseed processing and chitosan supplementation on lamb performance, digestibility and nitrogen digestion. **The Journal of Agricultural Science**, v. 157, n. 7-8, p. 636-642, 2019.
- MANSBRIDGE, R. J.; BLAKE, J. S. Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 1, p. S37-S47, 1997.
- MARTIN, C.; FERLAY, A.; MOSONI, P.; ROCHETTE, Y.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3445-3456, 2016.

- 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. Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 187, p. 35-39, 2016.
- MOON, C. D.; PACHECO, D. M.; KELLY, W. J.; LEAHY, S. C.; LI, D.; KOPEČNÝ, J.; ATTWOOD, G. T. Reclassification of *Clostridium proteoclasticum* as *Butyrivibrio proteoclasticus* comb. nov., a butyrate-producing ruminal bacterium. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2041–2045, 2008.
- NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: **The rumen microbial ecosystem**. Springer Netherlands, p. 523-632. 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**.7.ed. Washington, D.C.: Academic Press, 381 p. 2001.
- NAVES, A. B.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; TAKIYA, C. S.; VENDRAMINI, T. H. A.; MINGOTI, R. D.; RENNÓ, F. P. Effect of raw soya bean particle size on productive performance and digestion of dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 4, p. 778-788, 2015.
- NAVES, A.B.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; VERDURICO, L. C.; BENEVENTO, B. C.; MINGOTI, R.D.; RENNÓ, F. P. Desempenho e perfil plasmático de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja integral ou moído. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, n. 240, p. 579-588, 2013.
- NÖRNBERG, J. L.; LÓPEZ, J.; STUMPF JÚNIOR, W.; COSTA, P. B.; SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J. Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes lipídicas na fase inicial da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1431-1438, 2006.
- OLDICK, B. S.; FIRKINS, J. L. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 9, p. 2412-2420, 2000.

- 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, and milk yield and composition of dairy cows. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 301-307, 2016.
- PATRA, A. K.; YU, Z. Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations *in vitro*. **Journal Dairy Science**, v. 96, n. 3, p.1782–1792, 2013.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. **Metabolismo de Lipídeos**. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de Ruminantes*, 2ª edição, Jaboticabal: Funep, cap. 10, p. 299-321. 2011.
- PEREIRA, F. M.; CARVALHO, G. G. P.; MAGALHÃES, T. S.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; PINTO, L. F. B.; MOURÃO, G. B.; PIRES, A. J. V.; EIRAS, C. E.; NOVAIS-EIRAS, D.; AZEVEDO, J. A. G. EUSTÁQUIO FILHO, A. Effect of chitosan on production performance of feedlot lambs. **The Journal of Agricultural Science**, v. 156, n. 9, p. 1138-1144, 2019.
- PUCHALA, R.; LESHURE, S.; GIPSON, T. A.; TESFAI, K.; FLYTHE, M. D.; GOETSCH, A. L. Effects of different levels of lespedeza and supplementation with monensin, coconut oil, or soybean oil on ruminal methane emission by mature Boer goat wethers after different lengths of feeding. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 1127-1136, 2018.
- RODRIGUES, J. P. P.; PAULA, R. M.; RENNÓ, L. N.; FONTES, M. M. S.; MACHADO, A. F.; VALADARES FILHO, S. C.; HUHTANEN, P.; MARCONDES, M. I. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 6, p. 4435-4447, 2017.
- ROSSI, L. G. FIORENTINI, G.; VIEIRA, B. R.; NETO, A. J.; MESSANA, J. D.; MALHEIROS, E. B.; BERCHIELLI, T. T. Effect of ground soybean and starch on intake, digestibility, performance, and methane production of Nellore bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 226, p. 39-47, 2017.
- RUSSELL, J. B.; HOULIHAN, A. J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65-74, 2003.

SANTANA, M. C. A.; MESSANA, J. D.; FIORENTINI, G.; LAGE, J. F.; DIAN, P. H. M.; CANESIN, R. C.; REIS, R. A.; BERCHIELLI, T. T. Characteristics of carcass and meat of heifers finished on pasture amended with different supplement frequency and soybean oil source. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 98, n. 1, p. 32-43, 2017.

SANTANA, M. C. A.; FIORENTINI, G.; DIAN, P. H. M.; CANESIN, R. C.; MESSANA, J. D.; OLIVEIRA, R. V.; REIS, R. A.; BERCHIELLI, T. T. Growth performance and meat quality of heifers receiving different forms of soybean oil in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 194, p. 35-43, 2014.

SANTOS, M. V. **Microbiota ruminal de novilhos mantidos a pasto, suplementados com quitosana e digestibilidade in vitro de diferentes dietas para ruminantes**. 2018 65f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados. 2018.

SHINGFIELD, K. J.; BERNARD, L., LEROUX; C.; CHILLIARD, Y. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1140, 2010.

SILVA, G. G.; TAKIYA, C. S.; DEL VALLE, T. A.; JESUS, E. F.; GRIGOLETTO, N. T. S.; NAKADONARI, B.; CORTINHAS, C. S.; ACEDO, T. S.; RENNÓ, F. P. Nutrient digestibility, ruminal fermentation, and milk yield in dairy cows fed a blend of essential oils and amylase. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 11, p. 9815-9826, 2018.

SILVA, M. M. C. **Suplementação de lipídios em dietas para cabras leiteiras**. 2005. 129f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SOUZA, N.L.G.D.; BRANDÃO, H. M.; OLIVEIRA, L. F. C. Spectroscopic and thermogravimetric study of chitosan after incubation in bovine rumen. **Journal of Molecular Structure**, v.1005, n. 1-3, p.186-191. 2011.

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

VENTURELLI, B. C.; E FREITAS JUNIOR, J. E.; TAKIYA, C. S.; ARAÚJO, A. P. C., SANTOS, M. C. B., CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; VENDRAMINI, T. H. A.; RENNÓ, F. P. Total tract nutrient digestion and milk fatty acid profile of dairy cows fed diets containing different levels of whole raw soya beans. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1149-1160, 2015.

YANG, S. L.; BU, D. P.; WANG, J. Q.; HU, Z. Y.; LI, D.; WEI, H. Y.; ZHOU, L. Y.; LOOR, J. J. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. **Animal: an international journal of animal bioscience**, v. 3, n. 11, p. 1562, 2009.

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

CAPÍTULO I

**ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS
INSATURADOS EM DIETAS PARA NOVILHAS SOBRE O
METABOLISMO DIGESTIVO**

ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM DIETAS PARA NOVILHAS SOBRE O METABOLISMO DIGESTIVO

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da associação da quitosana ao óleo de soja e ao grão de soja integral sobre o consumo e a digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, balanço de nitrogênio e metabólitos sanguíneos em novilhas de corte. Cinco novilhas mestiças das raças Simental x Zebu, canuladas no rúmen, com aproximadamente 24 meses de idade, peso vivo inicial de $335 \pm 53,2$ kg foram distribuídas aleatoriamente em um quadrado latino 5×5 para receberem uma das cinco dietas experimentais: 1) CON = Controle (sem inclusão de ácidos graxos insaturados (AGI) ou quitosana); 2) OS = Óleo de Soja (inclusão de 2,5% de OS na matéria seca (MS) total); 3) GS = Grão de Soja (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* na MS total); 4) OSQ = Óleo de Soja + Quitosana (inclusão de 2,5% de OS + 0,20% de quitosana na MS total) e, 5) GSQ = Grão de soja + Quitosana (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* + 0,20% de quitosana na MS total). O volumoso utilizado foi a silagem de milho e o aditivo foi fornecido na forma de “topdress”. As dietas OS e GS com e sem associação com quitosana reduziram o consumo de nutrientes, com exceção no consumo de extrato etéreo (EE) que foi maior ($P < 0,05$) nos animais alimentados com as fontes de AGI. As dietas com AGI reduziram a digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) e aumentaram a do EE ($P < 0,05$). As dietas com AGI e quitosana aumentaram o pH ruminal e reduziram a concentração de nitrogênio amoniacal ($P < 0,05$). Além disso, de forma geral, as dietas com AGI e quitosana reduziram a produção total de AGCC, acetato, propionato e butirato, em Mmol. As dietas com AGI reduziram o consumo e excreção de nitrogênio (N), enquanto que a quitosana aumentou a retenção e eficiência na utilização de N ($P < 0,05$). A quitosana reduziu os níveis sanguíneos de triglicerídeos e VLDL ($P < 0,05$). As dietas com AGI melhoram a digestibilidade dos nutrientes entretanto, reduzem o consumo e utilização de N, e alteram a fermentação ruminal. Por outro lado, a quitosana não tem efeito no consumo, digestibilidade dos nutrientes, porém altera a utilização de N e fermentação ruminal para uma rota mais eficiente energeticamente em dietas para novilhas de corte.

Palavras-chave: aditivo, consumo, fermentação ruminal, grão de soja, óleo de soja

ASSOCIATION BETWEEN CHITOSAN AND UNSATURATED FATTY ACIDS SOURCES IN DIETS FOR HEIFERS ON DIGESTIVE METABOLISM

ABSTRACT

This study aimed evaluate the association effect between chitosan with soybean oil and whole soybean grain on nutrients intake and aparent digestibility, microbial protein synthesis, rumen fermentation, nitrogen balance, blood metabolites in beef heifers. Five Simental x Zebu crossbred heifers, rumen-cannulated, with approximately 24 months of age, initial live weight of 335 ± 53.2 kg were randomly distributed in a 5×5 Latin square experimental design to receive one of the five experimental diets: 1) CON = Control (without inclusion of unsaturated fatty acid (FA) or chitosan); 2) SO = Soybean Oil (dietary inclusion at 2,5% in total dry matter (DM)); 3) WS = Whole raw soybean (dietaty inclusion at 16% in total DM); 4) CHSO = Chitosan + Soybean Oil (dietary inclusion at 0,2% and 2,5% in total DM, respectively); 5) CHWS = Chitosan + Soybean Grain (dietary inclusion at 0,2% and 16% in total DM, respectively). The forage source was maize silage and the additive was provided on topdress form. The SO and GS diets with and without association with CHI decreased the nutrient intakes, except for the ether extract (EE), which was higher ($P < 0.05$) in animals fed with UFA sources. Diets with UFA reduced the digestibility of neutral detergent fiber (NDF) and increased the EE ($P < 0.05$). Diets with UFA and CHI increased rumen pH and reduced the concentration of ammoniacal nitrogen ($P < 0.05$). In addition, in general, diets with UFA and CHI reduced the total production of short-chain FA, acetate, propionate and butyrate, in Mmol. Diets with UFA reduced nitrogen intake and excretion (N), while CHI increased and retention and efficiency in the use of N ($P < 0.05$). CHI reduced blood levels of triglycerides and VLDL ($P < 0.05$). Diets with UFA decreased the reticular flow of DM, NDF and potentially digestible (pd) NDF in relation to the control group ($P < 0.05$). Diets with SO and WS with and without CHI association decreased the DM digestion rate, ruminal turnover of DM, NDF and passage of DM, NDF and NDFpd in relation to animals fed the control diet. Diets with UFA increase the digestibility of nutrients, reduce the intake and use of N, and change ruminal fermentation. On the other hand, CHI has no effect on intake, digestibility of nutrients and feeding behavior, but alters rumen fermentation to a more energetically efficient route in diets for beef heifers.

Keywords: additive, intake, ruminal fermentation, soybean grain, soybean oil

1 INTRODUÇÃO

Os efeitos positivos que a suplementação dietética de ácidos graxos podem exercer sobre o desempenho animal, e principalmente a qualidade dos produtos oriundos de ruminantes para consumo humano, tem aumentado o interesse em fornecer dietas com alto teor de gordura (SCHMIDELY et al., 2008). Sementes oleaginosas, principalmente a soja são comumente utilizadas para aumentar a qualidade da dieta de bovinos de diferentes categorias em fazendas comerciais e também como uma fonte de proteína, reduzindo a inclusão de milho e farelo de soja nas dietas (VENTURELLI et al, 2015; BARLETTA et al., 2016).

O fornecimento de altas quantidades de ácidos graxos insaturados, seja na forma de grão (ZANFERARI et al., 2018) ou óleo (BETTERO et al., 2017), modula a fermentação ruminal, alterando a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), melhorando o aproveitamento de energia e proteína.

As sementes oleaginosas, fornecidas como fonte de ácido graxos, seja na forma livre, como os óleos, ou a forma complexada, como grãos e sais de cálcio de ácidos graxos, ou ainda a sua associação com outros aditivos podem potencializar os efeitos moduladores no rúmen. Além disso, os ácidos graxos presentes nas sementes e nos óleos atuam promovendo alterações na população microbiana ruminal, resultando em incremento da síntese de produtos provenientes do processo digestivo dos alimentos, tornando a fermentação mais eficiente e com otimização no uso da energia (GUGLIELMELLI et al., 2010).

A quitosana é um aditivo que vem sendo testado com objetivo de melhorar o desempenho dos animais, através de alterações na formação de AGCC e no perfil de ácidos graxos. Seu mecanismo de ação ainda não está bem elucidado, mas baseia-se na ligação entre as cargas positivas da quitosana e as cargas negativas presente na superfície da membrana. Essa interação promove alteração na permeabilidade de membrana e resulta em extravasamento de constituintes intracelulares, causando morte celular. Seus efeitos no pH ruminal, fermentação ruminal e utilização de nitrogênio vem sendo descritos por diversos autores (JEON et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015; PAIVA et al., 2016), entretanto pouco tem-se estudado o efeito da associação da quitosana com fontes de ácidos graxos na alimentação de bovinos (GANDRA, et al., 2016; DEL VALLE, et al., 2017; ZANFERARI et al., 2018).

Tendo em vista este cenário, objetivou-se avaliar o efeito da associação ou não da quitosana a fontes de ácidos graxos naturalmente protegida (grão de soja inteiro) e não-

protegida (óleo de soja) sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, e metabólitos sanguíneos em novilhas de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Comitê de ética local de realização

O experimento foi conduzido no setor de nutrição e metabolismo de grandes ruminantes na Fazenda Experimental de Entre Rios, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, localizada na zona rural do município de Entre Rios - BA, Brasil.

Todos os protocolos para a utilização de animais nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA), da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (número de protocolo: 02/2018).

Os animais foram alocados em baias individuais de 25 m², cobertas, com piso de concreto e área de sol com chão de areia, equipadas com cochos e comedouros, permitindo o fornecimento de água *ad libitum* durante o período experimental.

2.2. Animais, delineamento experimental e dietas

Foram utilizadas cinco novilhas mestiças da raça Simental x Zebu com aproximadamente 24 meses de idade e peso vivo inicial de $335 \pm 53,2$ kg, fistuladas no rúmen com cânulas de silicone (Kehl ®) de 4 polegadas.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um quadrado latino 5×5 com períodos de 21 dias, em que 14 dias foram destinados à adaptação às dietas e ao manejo e 7 dias para a coleta de dados. Dessa forma, as dietas foram aleatoriamente distribuídas entre as novilhas e consistiram de: 1) CON = Controle (sem inclusão de ácidos graxos insaturados ou quitosana); 2) OS = Óleo de Soja, com inclusão de 2,5% de OS na matéria seca total; 3) GS = Grão de Soja, com inclusão de 16% de grão de soja *in natura* na matéria seca total; 4) OSQ = Óleo de Soja + Quitosana (inclusão de 2,5% de OS + 0,20% de quitosana na matéria seca total e, 5) GSQ = Grão de soja + Quitosana, com inclusão de 16% de grão de soja *in natura* + 0,20%

de quitosana na matéria seca total. A composição química e o perfil de ácidos graxos dos alimentos são apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Item (%)	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Quitosana	Óleo de soja
Matéria seca	26,5	88,9	88,1	91,7	88,3	99,9
Matéria orgânica	93,2	93,4	98,6	95,0	96,1	99,9
Matéria mineral	6,8	6,6	1,4	5,0	3,9	--
Extrato etéreo	2,3	1,3	3,5	18,3	0,6	99,9
Proteína bruta	7,4	50,6	9,7	42,2	43,8	--
NIDN ¹ (%MS)	18,6	4,8	8,2	9,5	--	--
NIDA ² (%MS)	9,0	2,5	2,7	6,9	--	--
FDN ³	54,0	14,8	15,0	19,5	--	--
FDNcp ⁴	47,9	11,5	11,7	13,0	--	--
FDNi ⁵	21,1	2,2	1,8	1,5	--	--
FDA ⁶	29,5	8,5	2,4	8,5	--	--
Lignina	4,5	1,5	1,2	2,5	--	--
CT ⁷	83,5	41,5	85,3	32,8	--	--
CNF ⁸	29,5	33,3	76,8	26,0	--	--
NDT ⁹	64,0	78,1	87,8	74,2	--	--
EL ¹⁰ (Mcal/kg)	1,6	2,6	2,1	3,3	--	6,5

¹Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; ²Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro corrigido para cinzas e proteína; ⁵Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁶Fibra em Detergente Ácido; ⁷Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁸Carboidratos Não-Fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁹Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2016); ¹⁰Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Ácido Graxo (%)	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Óleo de soja
AG totais ¹	1,35	2,29	5,65	19,2	99,9
C8:0	0,70	0,05	0,03	0,02	--
C10:0	0,13	0,12	0,06	0,11	--
C12:0	0,77	1,51	0,75	1,28	--
C14:0	8,61	2,06	0,42	1,33	0,55
C16:0	24,55	23,46	17,45	13,56	18,17
C16:1	0,95	0,37	0,28	0,23	--
C18:0	7,49	5,37	2,36	5,22	3,24
C18:1 c9	21,29	15,49	35,06	23,49	12,47
C18:2 n6	18,24	53,34	42,98	52,33	48,89
C18:3 n3	6,12	5,63	1,09	6,64	4,87

¹Ácidos graxos totais.

Os concentrados e as dietas foram formulados para serem isonitrogenados (Tabela 3 e Tabela 4, respectivamente) de modo a atender as exigências de animais com aproximadamente 350 kg de peso corporal, conforme as recomendações do NRC (2016). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia às 08:00h e às 13:30h.

Tabela 3 - Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais ¹				
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ
Milho moído	59,00	51,30	40,60	51,30	40,10
Farelo de soja	34,75	36,13	15,13	36,13	15,13
Óleo de soja	-	6,33	-	6,33	-
Grão de Soja	-	-	40,05	-	40,05
Quitosana	-	-	-	0,50	0,50
Ureia	2,53	2,53	0,50	2,53	0,50
Mistura mineral ²	3,73	3,73	3,73	3,73	3,73
Composição química (% da MS)					
Matéria seca	89,12	89,89	90,10	89,89	90,10
Matéria orgânica	93,15	93,17	92,70	93,17	92,70
Extrato etéreo	2,52	8,59	8,95	8,59	8,95
Proteína bruta	30,07	30,54	29,93	30,54	29,93
FDN ³	13,97	13,04	16,12	13,04	16,12
FDNi ⁴	1,85	1,74	1,68	1,74	1,68
Lignina	1,62	1,57	1,70	1,57	1,70
CT ⁵	60,58	52,24	53,87	52,24	53,87
CNF ⁶	51,37	43,95	39,14	43,95	39,14
NDT ⁷	80,22	86,29	85,37	86,29	85,37
EL ⁸ (Mcal/kg de MS)	2,40	2,30	2,60	2,30	2,60
AG ⁹ g/100 g of AG					
C14:0	0,85	0,89	0,92	0,89	0,92
C16:0	16,32	16,57	14,37	16,57	14,37
C18:0	2,89	3,00	3,48	3,00	3,48
C18:1 cis	23,00	21,61	23,23	21,61	23,23
C18:2	44,01	44,16	33,34	44,16	33,34
C18:3	2,30	5,61	3,59	5,61	3,59
Outros	1,23	1,17	1,28	1,17	1,28

¹CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ²Composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobre, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor. ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁵Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos Não-Fibrosos estimados com base na equação de Hall (2000); ⁷Nutrientes Digestíveis Totais estimados pelas equações do NRC(2016); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016); ⁹Ácidos graxos.

Tabela 4 - Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais ¹				
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ
Silagem de milho	60,02	60,01	60,05	60,01	60,05
Milho moído	23,59	20,5	16,19	20,5	16,04
Farelo de soja	13,89	14,45	6,05	14,45	6,05
Óleo de soja	-	2,53	-	2,53	-
Grão de Soja	-	-	16,02	-	16,02
Quitosana	-	-	-	0,20	0,20
Ureia	1,01	1,01	0,20	1,01	0,20
Mineral ²	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
Composição química					
Matéria seca	51,55	51,83	51,92	51,83	51,92
Matéria orgânica	93,19	92,47	93,00	92,47	93,0
Extrato etéreo	2,39	4,81	4,95	4,81	4,95
Proteína bruta	16,47	16,66	16,41	16,66	16,41
FDN ³	38,0	37,62	38,85	37,62	38,85
FDNi ⁴	13,39	13,34	13,32	13,34	13,32
Lignina	3,20	3,17	3,39	3,17	3,39
CT ⁵	78,08	72,91	71,79	72,91	71,79
CNF ⁶	38,25	35,28	33,35	35,28	33,35
NDT ⁷	67,55	70,79	70,41	70,79	70,41
EL, (Mcal/kg) ⁸	1,54	1,64	1,63	1,64	1,63
AG g/100 g of AG ⁹					
C14:0	5,08	5,09	5,10	5,09	5,10
C16:0	20,01	20,11	19,23	20,11	19,23
C18:0	5,28	5,32	5,52	5,32	5,52
C18:1 cis	20,91	20,34	20,99	20,34	20,99
C18:2	27,58	27,65	28,10	27,65	28,10
C18:3	4,27	4,40	4,79	4,40	4,79
Outros	1,79	1,77	1,81	1,77	1,81

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ²Composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobre, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível ⁵Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos não-fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁷Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2016); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016); ⁹Ácidos Graxos.

A quitosana foi fornecida de forma “*topdress*” às novilhas de acordo com o consumo de matéria seca de cada animal recebendo a respectiva dieta experimental (OSQ e GSQ) antes do fornecimento da ração, no período matutino. Dessa forma, para reduzir a seleção pelos animais, foi misturada a uma porção de concentrado, de modo a estimular o consumo do aditivo. A quitosana utilizada neste estudo apresentou as seguintes especificações técnicas: taxa de

desacetilação de 86,3%, 0,33 mg / mL de densidade aparente; pH de 7,9 e viscosidade <200 cPs (Polymar Indústria, Comércio Importação e Exportação Ltd., Fortaleza, CE).

2.3 Coletas de amostras e análises laboratoriais

No início de cada período experimental, foi realizada coleta de amostras dos ingredientes, enquanto as amostras de sobras foram colhidas diariamente durante o período de coleta de dados, do dia 15 ao dia 21 de cada período. Dessa forma, foram obtidas cinco amostras simples de sobras por animal, que ao final de cada período, formou-se a composta por cada animal. As coletas de fezes foram realizadas durante 3 dias consecutivos de cada período experimental, a cada 9 horas, representando ao final cada 3 horas de um período de 24 horas, segundo metodologia adaptada de Krizsan et al. (2010). Essas amostras foram armazenadas em sacos plásticos identificados e mantidas em freezer a -20°C, para análises posteriores dos nutrientes e estimativa de digestibilidade aparente total.

Previamente a realização das análises laboratoriais, as amostras de ingredientes, sobras e fezes foram descongeladas. As amostras de fezes foram homogeneizadas formando uma amostra composta de fezes por animal. Foram então submetidas a secagem em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 horas), moídas em moinhos tipo Willey equipados com peneiras de 1-mm e, então armazenados em potes plásticos até a realização das análises laboratoriais.

Amostras dos ingredientes, sobras e fezes foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS - Método: 950.05), cinzas (MM - Método: 942.05); proteína bruta (PB = N x 6,25; - método 984.13); extrato etéreo (EE - Método: 920.39) conforme metodologias descritas pela AOAC (2000). O conteúdo de matéria orgânica (MO) foi calculado conforme descrito por Zaklouta et al. (2011) através da seguinte fórmula: $MO (\% MS) = 100 - MM (\% MS)$.

Essas amostras foram também avaliadas quanto os conteúdos de fibra em detergente neutro (FDN), conforme as metodologias descritas por Van Soest et al. (1991), com a adição de alfa-amilase termoestável e sem inclusão de sulfito de sódio no detergente. Foram também analisados nos ingredientes os teores de lignina e fibra em detergente ácido (método: 973.18) (AOAC, 2012).

Os teores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) foram obtidos segundo recomendações de Licitra et al. (1996). Os

carboidratos não-fibrosos (CNF) dos alimentos foram estimados de acordo com Sniffen et al. (1992): $CNF = 100 - (MM + PB + EE + FDN_{cp})$, enquanto o CNF das dietas foi calculado segundo Hall (2000) através da seguinte fórmula: $CNF (\%) = 100 - [(\%PB - \%PB_{ureia} + \%ureia) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) dos ingredientes foram estimados segundo NRC (2001), em que: $NDT = PB_d + FDN_d + (EE_d * 2,25) + CNF_d$.

Os ácidos graxos dos ingredientes das dietas foram metilados de acordo com Kramer et al. (1997). O éster metílico de ácido graxo (FAME - Fatty Acid Methyl Ester) resultante foi determinado usando cromatógrafo de gás (modelo Focus GC; Thermo Scientific, Milão, Itália), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (100 mx 25 mm x 0,2 µm de espessura de filme; Supelco, Bellefonte, Pensilvânia). O hidrogênio foi usado como gás de arraste (1 ml / min) e o nitrogênio como gás auxiliar. As temperaturas do detector e do injetor foram fixadas em 250 °C, com proporção de divisão de 15:1. A temperatura do forno foi ajustada para 70 °C por 4 min, aumentada em 13 °C/min para 175°C, mantida por 27 min, aumentada em 4°C/min para 215°C e mantida por 31 min. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados comparando três referências FAME (Supelco FAME mix # C4-C24, CLA trans-9, cis 11 # 16413 e CLA trans-10, cis 12 # 04397; Sigma Aldrich). Os isômeros cis/trans-18: 1 foram identificados de acordo com sua ordem de eluição relatada nas mesmas condições cromatográficas (KRAMER et al., 1997).

2.4. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Os animais foram alimentados na forma de mistura total completa, e o ajuste da quantidade de alimento ofertado foi feito diariamente, com base no consumo de matéria seca do dia anterior, bem como a quantificação de modo a permitir de 5 a 10% de sobras. Assim, o consumo dos nutrientes foi estimado por meio da diferença entre o total de cada nutriente contido nos alimentos ofertados e o total de cada nutriente contido nas sobras.

As amostras de silagem, ingredientes e fezes foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de porosidade 2 mm, para estimar o teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Em seguida, foram acondicionadas em sacos de tecido não tecido (TNT), com tamanho de 5 x 5, 20 mg MS / cm² e incubados no rúmen de dois bovinos previamente adaptados a uma dieta semelhante a que foi fornecida aos animais durante o período experimental por 12 dias. Após 288 horas, os sacos foram removidos do rúmen, lavados em água corrente e analisados

quanto à concentração de fibra em detergente neutro (Método INCT CA-F 009/1, descrito por Detmann et al. (2012)).

A excreção total de fezes foi estimada através da concentração do indicador interno FDNi, baseando-se na razão entre a quantidade do indicador presente na ração fornecida ao animal e sua concentração nas fezes: $\text{Fezes (g dia}^{-1}\text{)} = \text{FDNi ingerido} / \text{concentração do FDNi nas fezes}$.

Os coeficientes de digestibilidade (CD) da MS, PB FDN e EE foram calculados da seguinte forma:

$$\text{CD} = [(\text{kg da fração ingerida} - \text{kg da fração excretada}) / (\text{kg da fração ingerida})] \times 100.$$

2.5. Avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal

No 15º dia de cada período experimental, amostras de 250 mL de líquido ruminal foram coletadas combinando nove alíquotas a partir de nove pontos diferentes no rúmen (dorso- cranial, dorso-medial, dorso-caudal, medial-cranial, medial, medial-caudal, ventro-cranial, ventro-medial e ventro-caudal). As coletas foram realizadas antes da alimentação pela manhã (0 h), e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 h após a primeira alimentação. Após a realização das coletas, o líquido ruminal foi filtrado com auxílio de uma malha de 1-mm para mensurações do pH ruminal, utilizando pH metro digital. Em seguida, 200 mL de amostras do líquido ruminal foram armazenados em recipientes plásticos e imediatamente congelados a -20°C para posteriores análises de AGCC e nitrogênio amoniacal.

Para quantificar as concentrações de AGCC as amostras foram submetidas a prévio descongelamento sendo em seguida centrifugadas a 1300 x g, por 20 minutos. Depois de centrifugado, foi transferido 1 mL do sobrenadante em um tubo de ensaio sendo adicionado 1 mL de ácido metafosfórico a 25%. Os tubos foram então identificados e armazenados em freezer a -20°C para as determinações de acetato, propionato e butirato utilizando-se a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (MATHEW et al.,1997).

As análises de nitrogênio amoniacal foram realizadas adicionando-se 0,5 mL de solução de tungstato de sódio a 10% a 1,5 mL de amostra em tubos de ensaio, que foram imediatamente centrifugados (1800 x g, 15 minutos) (BRODERICK e KANG, 1980). Posteriormente, foram pipetados 50 µL do sobrenadante e adicionado 1 mL do reagente tampão do kit comercial (K047

©, Bioclin, Belo Horizonte, MG). Os tubos foram então tampados, submetidos a agitação e,

colocados em banho-maria (37°C por 5 minutos). Então, a solução oxidante foi adicionada para que fosse verificada alteração da coloração das amostras. Após as amostras terem atingido a temperatura ambiente, foi procedida a leitura com auxílio de espectrofotômetro (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®) utilizando-se absorvância com comprimento de onda de 600 nm.

As concentrações de metano entérico foram estimadas utilizando a seguinte equação descrita por Moss et al. (2000):

$$\text{CH}_4 (\text{g/ 100 g de AG total}) = (\text{Acético} * 0,45) + (\text{Butírico} * 0,4) - (\text{Propiônico} * 0,275).$$

2.6. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

No 16º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação, foi realizada a coleta de urina nas novilhas, através de massagem da vulva ou micção espontânea. O conteúdo coletado em frascos plásticos estéreis foi filtrado e alíquotas de 10 mL foram adicionadas à 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas, precipitação do ácido úrico e volatilização do nitrogênio e armazenados para posteriores análises de ureia, creatinina e nitrogênio total. Este último foi determinado pelo método de Kjeldahl utilizando-se 2 mL de urina.

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias médias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras spot, de acordo com OLIVEIRA et al. (2001). A estimativa de excreção média diária de creatinina estabelecida para bovinos de corte foi de 27,1 mg. kg⁻¹ de peso corporal (BARBOSA et al., 2006). As análises de ácido úrico, ureia e creatinina foram realizadas utilizando-se kits comerciais da marca Labtest (Ácido Úrico liquiform – REF: 140; Ureia CE – REF: 27; Creatinina – REF: 35). As leituras foram realizadas com auxílio do espectrofotômetro semi-automático (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®). Com relação a alantoína, as concentrações foram determinadas conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas (DP) foi calculada pela soma dos valores de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, sendo expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas pela equação de Verbic et al. (1990) em que: $Y = X + 0,385 \text{ PV}^{0,75/0,85}$, no qual Y corresponde a excreção dos DP, 0,85 é a

recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas, X são as Pabs e 0,385 PV0,75, a contribuição endógena para a excreção de purinas.

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada através das purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação descrita por Chen e Gomes (1992):

$$Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,134 * 1.000)$$

em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (VALADARES et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

2.7. Concentrações dos metabólitos sanguíneos

No 21º dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular, antes do fornecimento das dietas. As amostras foram acondicionadas em tubos do tipo Vacutainer sem a presença de EDTA para a retração do coágulo. Para análise de glicose, o sangue foi coletado em tubos contendo fluoreto de potássio para impedir a atividade glicolítica. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1800 x g durante 15 min para a separação do soro. Posteriormente, os soros, foram transferidos para tubos Eppendorf® estéreis identificados e, armazenados a -20°C para posterior análises laboratoriais.

Após o prévio descongelamento, as amostras de soro foram analisadas utilizando kits comerciais (Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, MG, Brasil) quanto às concentrações de proteínas totais (Proteínas Totais; REF: 99), albumina (Albumina – REF: 19) e ureia (Ureia CE – REF: 27). Em relação ao perfil energético, foram avaliados nos soros das novilhas as concentrações de glicose (Glicose Liquiform – REF: 133), colesterol (Colesterol Liquiform – REF: 76) e triglicérides (Triglicérides Liquiform – REF: 87). Todas as leituras foram realizadas com auxílio do espectrofotômetro semiautomático sendo utilizados diferentes comprimentos de ondas conforme as descrições contidas nos kits comerciais.

2.8. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise estatística segundo delineamento em quadrado latino (5 x 5) utilizando-se o PROC MIXED do SAS 9.4 de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + \varepsilon_{ijk}$$

Onde Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; A_i = efeito aleatório do animal ($i = 1$ a 5); P_j = efeito aleatório do período ($j = 1$ a 5); D_k = efeito fixo de dieta ($k = 5$; CON, OS, GS, OSQ e GSQ) e; ε_{ijk} = erro aleatório pressuposto NID $\sim (0, \sigma^2)$.

As variáveis de fermentação ruminal foram analisadas de acordo com o delineamento anterior mencionado através de medidas repetidas no tempo, usando o PROC MIXED do SAS, segundo o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + D_k + \varepsilon_{ijk} + T_m + D_k \times T_m + \omega_{ijklm}$$

Onde Y_{ijklm} é o valor variável dependente, μ é a média geral, A_i , P_j , D_k , T_m and ε_{ijk} foram descritos anteriormente e ω_{ijklm} é o erro aleatório associado ao efeito de tempo pressuposto NID $\sim (0, \sigma^2)$; $T_m = \varepsilon$ é o efeito fixo do tempo de amostragem ($m = 1$ a 7); $T_m \times D_k$ = efeito fixo da interação entre dieta e tempo; $D_k \times T_m$.

Para avaliação das diferenças entre as dietas foram analisados os seguintes contrastes ortogonais: C1:(efeito de suplementação de gordura e aditivo em relação a dieta controle): CON versus fontes de gordura com e sem quitosana (OS; GS; OSQ e GSQ); C2 (efeito de quitosana independente da fonte de gordura): OS e GS versus OSQ e GSQ; C3 (efeito da fonte de gordura protegida e não protegida): OS versus GS e; C4 (efeito das fontes de gordura protegidas e não protegidas com quitosana): OSQ versus GSQ. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se o nível de significância de 5% e, as médias por meio do LSMEANS.

3 RESULTADOS

3.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Maiores consumos de MS ($P = 0,013$), MO ($P = 0,017$), PB ($P = 0,011$), FDN ($P = 0,016$), FDNi ($P = 0,002$), CNF ($P = 0,004$) e NDT ($P = 0,034$) foram observados nas novilhas alimentadas com a dieta CON em comparação àquelas alimentadas com as dietas com inclusão de ácidos graxos insaturados (OS e GS) com ou sem inclusão de quitosana (Contaste 1) (Tabela 5).

Em contrapartida, os animais alimentados com suplementação lipídica com e sem quitosana consumiram maior quantidade de EE ($P < 0,001$) quando comparado aos animais alimentados com a dieta CON (Contaste 1). Em relação ao consumo de MS e FDN em porcentagem do peso corporal, os animais recebendo dieta CON consumiram maior quantidade do que animais recebendo as demais dietas (Tabela 5).

Tabela 5 - Consumo de matéria seca e nutrientes em novilhas alimentadas com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Kg/dia										
MS ⁴	8,89	7,46	7,00	7,65	7,43	0,35	0,013	0,479	0,524	0,784
MO ⁵	8,30	7,09	6,51	7,15	6,95	0,33	0,017	0,399	0,502	0,925
PB ⁶	1,45	1,17	1,10	1,26	1,16	0,06	0,011	0,328	0,620	0,460
EE ⁷	0,23	0,37	0,35	0,40	0,38	0,01	<0,001	0,262	0,299	0,483
FDN ⁸	3,40	2,82	2,66	2,81	2,87	0,14	0,016	0,808	0,463	0,965
FDNi ⁹	1,46	1,14	1,02	1,12	1,03	0,06	0,002	0,265	0,963	0,856
CT ¹⁰	6,71	5,45	5,06	5,49	5,41	0,27	0,004	0,515	0,496	0,946
CNF ¹¹	3,30	2,63	2,43	2,72	2,50	0,13	0,004	0,283	0,787	0,713
NDT ¹²										
(%)PC ¹³	376	380	376	378	382	10,6	0,614	0,899	0,473	0,812
MS (%PC)	2,29	1,85	1,80	1,91	1,76	0,07	0,004	0,939	0,784	0,361
FDN (%PC)	0,91	0,73	0,72	0,76	0,73	0,03	0,003	0,670	0,848	0,634

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana; ²Erro Padrão da Média; ³Valor de probabilidade ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = (OS versus GS); C4 = (OSQ versus GSQ). ⁴Matéria seca; ⁵ Matéria orgânica; ⁶Proteína bruta; ⁷Extrato etéreo; ⁸Fibra em detergente neutro; ⁹Fibra em detergente neutro indigestível; ¹⁰Carboidratos totais; ¹¹Carboidratos não-fibrosos; ¹²Nutrientes digestíveis totais; ¹³Porcentagem do peso corporal.

Foi verificado efeito das dietas nas digestibilidades do EE e FDN (Tabela 6). Assim, maiores valores de digestibilidade do EE foram observados para os animais alimentados com as dietas contendo fontes de ácidos graxos ($P=0,003$) em comparação à dieta controle. A digestibilidade do FDN foi reduzida pelas dietas contendo fontes adicionais de ácidos graxos com e sem quitosana. ($P=0,031$).

Tabela 6 - Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana

Item (%)	Dietas experimentais ¹	EPM ²	Valor de P ³
----------	-----------------------------------	------------------	-------------------------

	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
MS ⁴	60,2	58,9	63,0	63,1	65,2	1,74	0,473	0,289	0,337	0,619
MO ⁵	67,7	68,8	70,5	71,5	72,6	1,47	0,242	0,314	0,611	0,732
PB ⁶	73,2	71,5	76,0	77,1	79,2	1,52	0,374	0,130	0,257	0,586
EE ⁷	76,2	92,5	92,5	94,3	94,0	2,24	0,003	0,703	0,999	0,963
FDN ⁸	47,6	36,7	40,6	38,0	37,1	2,61	0,031	0,765	0,439	0,858
CHOT ⁹	66,5	65,7	66,7	68,2	74,5	2,09	0,557	0,145	0,825	0,205

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana; ²Erro Padrão da Média; ³Valor de probabilidade ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = (OS versus GS); C4 = (OSQ versus GSQ).

⁴Matéria seca; ⁵Matéria orgânica; ⁶Proteína bruta; ⁷Extrato etéreo; ⁸Fibra em detergente neutro; ⁹Carboidratos totais.

3.2. Fermentação ruminal

Os valores de pH ruminal foram influenciados pelas dietas (P=0,031), sendo menor para os animais que foram alimentados com a dieta CON. (Tabela 7). Ademais esses valores foram alterados de acordo com os horários de coleta (P<0,001) (Figura 1).

Foi verificado efeito de interação entre a dieta e tempo apenas nas concentrações ruminiais de nitrogênio amoniacal (P<0,001). Dessa forma, no tempo de 6 horas após a alimentação foram observadas diferenças no N-NH₃ ruminal entre novilhas alimentadas com dietas controle e com suplementação lipídica, com ou sem associação à quitosana (Figura 2).

A inclusão de fontes de AGI nas dietas influenciou a produção total de AGCC (P<0,001), e as concentrações de acetato (P<0,001), propionato (P<0,001) e butirato (P<0,001) em Mmol de acetato (P=0,002) e butirato em Mol/100 mol (P<0,001), de modo que foram observadas menores concentrações dessas variáveis nas novilhas alimentadas com as dietas acrescidas de AGI, associadas ou não a quitosana, em comparação àquelas alimentadas com dieta CON (Contraste 1), com exceção das concentrações de acetato (Mol/100 mol), que foram mais altas (Tabela 7).

Independente da fonte lipídica, a ação da quitosana na dieta (OSQ e GSQ) reduziu as concentrações em Mmol de ácidos graxos total (P=0,007), acetato (P=0,007), propionato (P=0,004), butirato (P<0,001), em Mol/100mol de butirato (P=0,038) e de metano (P<0,001), em relação às dietas sem (OS e GS) (Contraste 2).

Na concentração de N-NH₃ ruminal, houve efeito das fontes de ácidos graxos insaturados em relação à dieta CON (Contraste 1; P<0,001), da adição de quitosana (Contraste

2; $P=0,033$), da forma física de fornecimento do ácido graxo (Contraste 3; $P=0,003$) e da associação entre a quitosana e a forma de fornecimento do ácidos graxo (Contraste 4; $P=0,001$).

Houve efeito dos horários de coleta sobre as concentrações de molares de AGCC totais ($P<0,001$), acetato ($P<0,001$), propionato ($P<0,001$) e butirato ($P<0,001$).

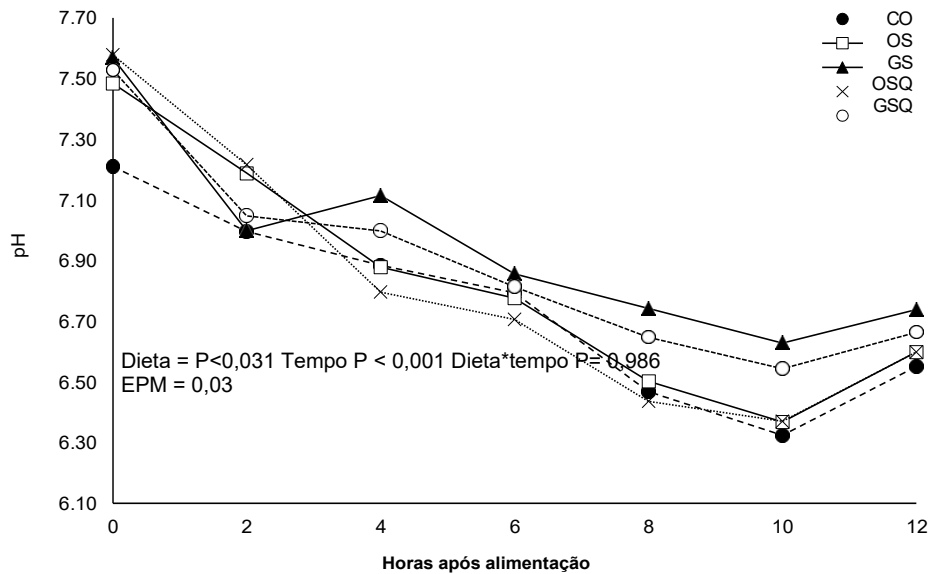
A inclusão de ácidos graxos reduziu as concentrações de CH_4 em relação à dieta CON ($P<0,001$) (Contraste 1), bem como a adição de quitosana associada aos ácidos graxos também promoveu redução nos níveis ruminais deste composto ($P<0,001$) (Contraste 2). Ademais, a produção de metano foi influenciada pelos horários de coleta.

Tabela 7- Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³					
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		Tempo*	Inter**	C1	C2	C3	C4
pH	6,7	6,8	6,9	6,8	6,9	0,03	<0,001	0,986	0,031	0,491	0,095	0,284
NH ₃ ⁴ (mg/dl)	12,2	10,2	8,0	11,4	9,0	0,32	<0,001	0,001	<0,001	0,033	0,003	0,001
Mmol												
AGCC Total ⁵	47,4	35,7	34,6	31,1	28,0	0,93	<0,001	0,999	<0,001	0,007	0,635	0,176
Acetato	30,8	23,7	23,1	20,7	19,0	0,60	<0,001	0,999	<0,001	0,007	0,670	0,252
Propionato	12,7	8,9	8,5	7,9	6,8	0,26	<0,001	0,973	<0,001	0,004	0,503	0,123
Butirato	4,4	2,9	2,9	2,5	2,1	0,09	<0,001	0,999	<0,001	<0,001	0,970	0,130
Mol/100 mol												
Acetato	65,2	66,7	67,0	66,5	67,7	0,18	0,649	0,596	0,002	0,626	0,742	0,107
Propionato	25,5	25,0	24,6	25,3	24,5	0,21	0,477	0,472	0,237	0,842	0,517	0,206
Butirato	9,2	8,1	8,3	8,0	7,7	0,08	0,312	0,997	<0,001	0,038	0,390	0,180
C2:C3 ⁶	3,1	2,6	3,2	2,6	2,7	0,18	0,860	0,520	0,527	0,513	0,290	0,784
CH ₄ ⁷ (g/ 100 g de AG total)	12,2	9,4	9,2	8,1	7,5	0,24	<0,001	0,999	<0,001	<0,001	0,789	0,306

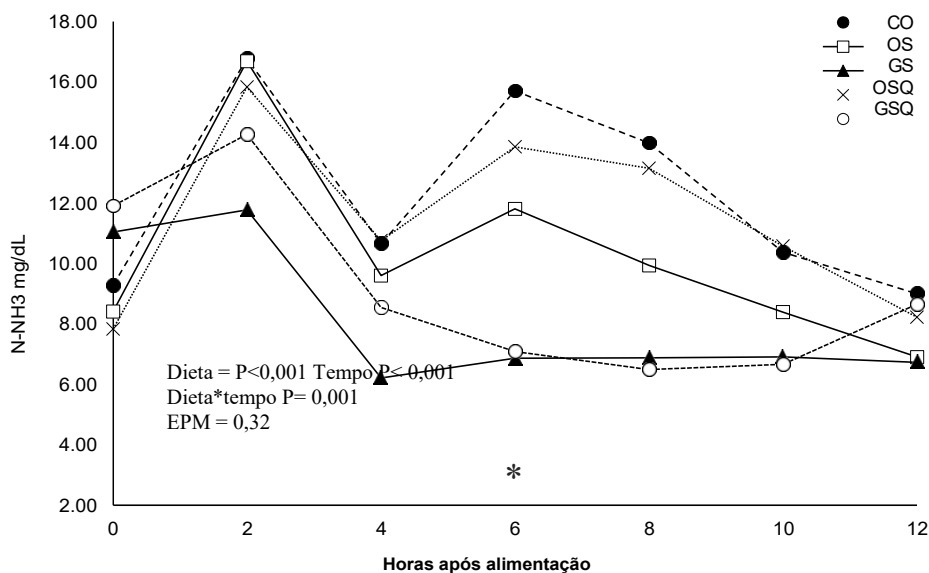
¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ²Erro padrão da média. ³Valor de probabilidade dos contrastes: C1 = controle versus suplementação com óleo (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana versus suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = óleo de soja versus grão de soja (OS versus GS); C4 = óleo versus grão de soja, ambos com quitosana (OSQ versus GSQ). ⁴Nitrogênio amoniacal; ⁵Ácidos graxos de cadeia curta; ⁶Relação acetato:propionato; ⁷Metano obtido através da equação de Moss et al. (2000): CH₄(g/ 100 g de AG total) = (ácido acético × 0.45) – (ácido propiônico × 0.275) + (ácido butírico × 0.40).

Figura 1 - Valores de pH observados na digesta ruminal em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana.



CO = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja + quitosana

Figura 2 - Concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃ mg/dL) na digesta ruminal de novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana.



CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. *valor de diferença entre as dietas no tempo 6 horas após a alimentação (CO versus GS = $P < 0.001$; CO versus GSCH = $P < 0.002$; CO vs. OS = $P < 0.039$).

3.3. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

As novilhas alimentadas com dieta com inclusão de fontes de ácidos graxos com ou sem quitosana apresentaram menor consumo de nitrogênio (g/dia) ($P = 0,001$), bem como menor excreção deste nutriente nas fezes ($P = 0,015$), em relação aos animais alimentados com a dieta CON (Contraste 1) (Tabela 8). Em relação ao balanço de nitrogênio, a retenção (g/dia) deste nutriente foi maior nas dietas OSQ e GSQ ($P = 0,010$), quando comparado às dietas OS e GS (Contraste 2). Dietas contendo fontes lipídicas associadas à quitosana, apresentaram maior eficiência na utilização de N ($P = 0,005$) em relação as que não tiveram associação com o aditivo (Contraste 2).

Tabela 8 - Balanço de nitrogênio (N) e síntese de proteína microbiana em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Consumo										
N- ingerido, g/dia	223,8	174,6	159,8	188,5	171,1	9,13	0,001	0,282	0,370	0,293
Excreção fecal de N										
g/dia	35,1	30,4	24,3	25,8	24,9	1,90	0,015	0,488	0,144	0,814
% N consumido	16,5	17,2	14,9	14,3	13,1	0,89	0,383	0,172	0,337	0,603
Excreção urinária de N										
g/dia	116,2	113,5	101,7	85,4	89,2	7,30	0,251	0,170	0,560	0,852
% N consumido	46,7	57,7	55,9	45,9	48,1	2,74	0,350	0,062	0,795	0,746
Balanço de N										
retido, g/dia	73,5	31,7	32,8	76,3	56,0	6,14	0,160	0,010	0,928	0,296
Eficiência										
N Microb ⁴ , g/dia	47,6	37,6	48,3	54,3	38,5	4,43	0,772	0,705	0,412	0,234
Eficiência ⁵	46,2	49,3	61,1	63,3	52,7	6,19	0,461	0,819	0,506	0,550

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana; ² Erro padrão da média; ³ Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = (OS versus GS); C4 = (OSQ versus GSQ); ⁴ Nitrogênio microbiano; ⁵ em g de PB microbiana/kg de NDT.

3.4. Concentrações dos metabólitos sanguíneos

Menores concentrações de colesterol foram verificadas em novilhas alimentadas com a dieta CON em comparação aos animais alimentados com dietas contendo fontes de ácidos graxos em associação ou não à quitosana (P=0,049) (Contraste 1) (Tabela 9). Novilhas alimentadas com as dietas OS e GS apresentaram valores de triglicerídeos maiores (P=0,039) em relação aquelas alimentadas com OSQ e GSQ (Contraste 2). Resultado similar foi observado nos valores de VLDL nas novilhas (P=0,039).

Quanto aos níveis de ureia e nitrogênio ureico no sangue, as novilhas alimentadas com dieta OS apresentaram maiores concentrações séricas (P=0,003; P=0,003, respectivamente) em relação aos animais alimentadas com dieta GS (Contraste 3).

Maiores concentrações de proteínas totais foram observadas em novilhas alimentadas com OSQ em relação àquelas alimentadas com GSQ (P=0,040). Por outro lado, maiores concentrações de glicose foram observados nas novilhas alimentadas com GSQ, em comparação aquelas alimentadas com OSQ (P=0,002) (Contraste 4).

Tabela 9 - Concentrações de metabólitos sanguíneos em novilhas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
PT ⁴ , U/L	8,4	8,4	8,2	8,7	8,0	0,12	0,731	0,907	0,438	0,040
Albumina, U/L	2,32	2,52	2,46	2,39	2,46	0,09	0,101	0,411	0,545	0,493
Ureia, mg/dL	39,8	49,1	37,6	41,5	40,6	2,00	0,349	0,311	0,003	0,768
NUS ⁵ , mg/dL	18,6	22,9	17,6	19,4	18,9	0,93	0,349	0,311	0,003	0,768
Glicose, mg/dL	66,8	73,1	64,9	54,4	74,9	3,62	0,997	0,278	0,151	0,002
Colesterol,mg/dL	68,4	89,3	103,2	97,5	114,2	8,11	0,049	0,486	0,477	0,389
TGL ⁶ , mg/dL	11,1	24,1	21,3	15,0	15,1	2,05	0,319	0,039	0,557	0,988
VLDL ⁷ , mg/dL	2,89	4,82	4,26	3,01	3,02	0,41	0,318	0,039	0,557	0,989

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana; ² Erro padrão da média; ³ Valor de probabilidade significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = (OS versus GS); C4 = (OSQ

versus GSQ); ⁴Proteínas totais; ⁵Nitrogênio ureico no sangue; ⁶Triglicerídeos; ⁷Very Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de muito baixa densidade).

4 DISCUSSÃO

4.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

O menor consumo de MS e nutrientes, bem como maior consumo de EE por animais alimentados com dietas contendo fonte suplementar de ácidos graxos era esperado devido à maior densidade energética dessas dietas (CON com 2,39% de EE, OS e GS com 4,81% e 4,95%, respectivamente) (Tabela 3). Este maior aporte energético para os animais resultou na diminuição do consumo de MS e demais nutrientes, por meio da regulação quimiostática.

Esses resultados são associados à fisiologia da digestão de ácidos graxos pós rúmen, por estimulação da enzima colecistoquinina (CCK) que ativa o centro da saciedade e suprime o esvaziamento gástrico, reduzindo a taxa de passagem e contribuindo para a distensão do rúmen e estimulação dos seus receptores físicos que também promovem o cessamento da ingestão de alimentos (ALLEN, 2000). Os resultados acima citados corroboram com os descritos por Del Valle et al. (2017) e Zanferari et al. (2018) ao avaliarem o efeito do óleo ou grão de soja e quitosana em dietas para vacas em lactação.

O consumo de FDN em porcentagem de peso corporal foi maior para os animais alimentados com a dieta CON. As dietas com maior teor energético suprem mais rapidamente as exigências energéticas do animal (ALLEN 2000). Desta forma, a dieta contendo menos gordura foi consumida em maior proporção para que as exigências energéticas dos animais fossem atendidas através da fibra.

As alterações nas digestibilidades de FDN e EE estão interligadas e ocorrem devido aos seguintes fatores: os ácidos graxos estão presentes em maior quantidade e mais disponíveis nas dietas contendo fontes lipídicas, portanto uma maior absorção desse nutriente é mais passível de acontecer do que na dieta sem inclusão de ácidos graxos que contém menor teor lipídico. Entretanto, essa maior quantidade de lipídeos na dieta, principalmente ácido linoleico, reduz a digestibilidade da fibra tanto pelo fato desses ácidos serem prejudiciais às bactérias ruminais, principalmente celulolíticas, por reduzir a tensão superficial da membrana microbiana e com isso prejudicar o crescimento microbiano, quanto pelo encapsulamento das partículas de alimento que impedem a adesão dos micro-organismos e assim a degradação da fibra (SULLIVAN et al., 2004; MAIA et al., 2010; YANG et al., 2009). Ambos os fatores - redução da população bacteriana e redução da colonização/degradação da fibra - são responsáveis por diminuir a digestibilidade da FDN.

Dietas com inclusão de lipídeos acima de 7% na MS podem ter a digestibilidade da MO e FDN prejudicadas, ao mesmo tempo que a população microbiana no rúmen pode ser alterada, com aumento das espécies gram-negativas e redução das gram-positivas e protozoários ciliados (JENKINS, 1993; SULLIVAN et al., 2004). Apesar do fornecimento de lipídeos não ultrapassar o recomendado, neste ensaio foram utilizadas fontes lipídicas advindas de sementes e óleo de soja, cujo acesso das bactérias é mais fácil, sendo assim, a digestibilidade fibra pode ter sido prejudicada desta maneira, como foi observado redução da digestibilidade da FDN em 19,9% nas dietas com adição de lipídeo em relação à dieta CON.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rodrigues et al. (2017) avaliando o efeito de níveis de óleo de soja em dietas de alto concentrado para vacas em lactação. Conforme relatado pelos autores, houve tendência de aumento linear da digestibilidade do EE. De mesma forma, Zanferari et al. (2017) relataram redução das digestibilidades da MS e FDN com associação de GS e quitosana.

Mingoti et al. (2016) avaliaram a inclusão de quitosana associada ao GS em dietas para vacas Holandesas em lactação e observaram redução na digestibilidade da FDN, e aumento na digestibilidade da PB. Os autores sugeriram que essa melhora na digestibilidade da PB, ocorreu devido à ação da quitosana nos micro-organismos ruminais, principalmente nas bactérias gram-positivas. Conforme descrito pelos autores, estes micro-organismos estão associados com a proteólise e deaminação, e conseqüentemente, redução na degradação ruminal da proteína. Dessa forma, com ação da quitosana, é comumente verificado aumento do fluxo intestinal e disponibilidade de peptídeos e aminoácidos para absorção pelo animal. Entretanto, devido à ação da quitosana nos micro-organismos fibrolíticos, pode-se inferir que a digestibilidade da FDN tenha sido prejudicada. Embora os autores tenham constatado efeito da ação da quitosana na digestibilidade da PB, resultado similar não foi observado neste estudo.

4.2. Fermentação ruminal

Houve efeito tanto da inclusão de quitosana, como da fonte de ácido graxo insaturado nos parâmetros de fermentação ruminal em novilhas de corte. Dessa forma, maiores valores de pH ruminal foram observados em animais alimentados com as dietas contendo fontes de ácidos graxos, com ou sem aditivos. Esse resultado pode estar relacionado com a menor produção de AGCC, bem como menor consumo de CNF.

Associado ao menor consumo e fermentação ruminal, o fornecimento de maior quantidade de ácidos graxos pode também ter interferido neste resultado. Conforme descrito por Jenkins (2007) e Chilliard et al.(2007), com uma maior disponibilidade de ácidos graxos no rúmen, as concentrações de C18:2 tornam-se mais altas, de maneira que a biohidrogenação ocorra em maior dimensão, auxiliando na remoção de H⁺ livre, contribuindo assim para impedir a queda do pH. Da mesma forma, Rodrigues et al. (2017) encontraram pH mais alto em animais recebendo dietas com alto nível de inclusão de ácidos graxos.

O efeito dos tempos de coleta no pH ruminal observado neste ensaio foi esperado devido ao grau de fermentação em relação aos horários após alimentação. Assim, à medida que acontece a degradação do alimento e formação dos AGCC, ocorre redução do pH ruminal, voltando a se elevar à medida que os ácidos são absorvidos pela parede ruminal.

A redução de AGCC ocorrida com o fornecimento de dietas contendo fontes de gordura pode ser atribuída à redução na digestibilidade da fibra nestas dietas, principalmente em relação à produção de acetato que é o principal produto da degradação da FDN. Além disso, a quitosana também promoveu redução da formação de AGCC, em comparação com as dietas contendo ácidos graxos com associação e sem associação à este aditivo, provavelmente devido à sua ação nas bactérias ruminais que resulta em redução da digestibilidade de nutrientes e por fim, na formação dos ácidos graxos ruminais.

Por outro lado, resultados opostos ao deste trabalho sobre os efeitos da quitosana e ácidos graxos na fermentação ruminal foram descritos em estudos prévios conduzidos com bovinos. Del Valle et al. (2017) não encontraram efeito da quitosana associada à dietas contendo ácidos graxos fornecidas a vacas em lactação na concentração de AGCC. Da mesma forma, Fiorentini et al. (2013) não observaram diferença nas concentrações desses ácidos em novilhas mestiças alimentadas com OS ou GS.

Como consequência da redução da digestibilidade da fibra e menor produção de AGCC, a produção de metano por vacas alimentadas com dietas contendo ácidos graxos foi menor. Ademais, a quitosana também mostrou efeito mitigador quando associado a fontes lipídicas. Devido à redução de acetato e de propionato, a relação desses C2:C3 não foi alterada, em resposta às diferentes dietas.

A partir dos resultados do presente estudo, é possível inferir que a inclusão de fontes de lipídeos e quitosana influenciaram a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em novilhas de corte, promovendo redução na produção deste componente. A inclusão do grão de soja em

substituição ao milho e ao farelo de soja nas duas dietas GS e GSQ, possibilitou a substituição de uma fonte de PDR por uma fonte de PNDR, que tem baixa proteólise ruminal. Em virtude disso, proporcionou diferença na disponibilidade de nitrogênio ruminal e nas concentrações de N-NH₃. Conforme ressaltado por Freitas Jr. et al. (2018), no momento em que ocorre inclusão de fontes de ácidos graxos em dietas para ruminantes, há também a retirada de amido, conseqüentemente, isso promove redução nas concentrações de CNF, o que altera a disponibilidade de carbono para a síntese de proteína microbiana.

Zanferari et al. (2018) também observaram redução nas concentrações de N-NH₃ ao fornecer dietas contendo grão de soja a vacas em lactação. De acordo com os autores, vários fatores podem estar relacionados à redução da produção de N-NH₃, incluindo mudanças na fermentação ruminal, nas populações bacterianas, diminuição do consumo de alimento e digestibilidade de nutrientes. Da mesma forma, Fiorentini et al. (2013) relataram a redução de N-NH₃ em novilhas alimentadas com GS e OS, embora estudos posteriores não tenham relatado tal diferença na concentração de N-NH₃ em vacas lactantes recebendo dietas com diferentes tamanhos de partícula do grão de soja (NAVES et al. 2015), nem recebendo ácidos graxos na forma de óleo (IVAN et al., 2013).

O uso de fontes de lipídeos, como o grão de soja, para modulação da fermentação ruminal influencia a atividade microbiana, principalmente dos micro-organismos degradadores de fibra, mas também de bactérias produtoras de amônia como *Prevotella ruminantium* e *Prevotella bryantii*. Essas bactérias, possuem alta sensibilidade aos ácidos graxos insaturados (FERME et al., 2004; MAIA et al., 2007). Apesar deste estudo não ter contemplado a contagem de micro-organismos, pode-se inferir que possivelmente o fornecimento de grão de soja reduziu a população deste grupo de micro-organismos e com isso, houve influência na produção de N- NH₃ (DOREAU e FERLAY, 1995).

As concentrações de metano, assim como os demais ácidos graxos produzidos no rúmen foram reduzidas com a adição de AGI e da quitosana. Similarmente, Rossi et al. (2017) observaram redução na emissão de metano entérico em novilhos Nelore alimentados com GS. A suplementação lipídica aumenta a eficiência energética e reduz a metanogênese, concomitantemente, através da ação sobre o crescimento de protozoários, bem como bactérias metanogênicas (DOHME et al., 2001; ROSSI et al., 2010). Os protozoários, assim como as bactérias celulolíticas, formadoras de acetato, são produtores de H⁺, sendo assim, com a diminuição desses micro-organismos, haverá também a redução de substrato para formação de

metano (MARTIN et al., 2010). Como observado neste estudo, as fontes lipídicas e a quitosana reduziram as concentrações ruminais de acetato, levando à redução de metano.

4.3. Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

O menor consumo e excreção de nitrogênio pelos animais alimentados com dietas com fontes adicionais de ácidos graxos ocorreu devido à menor ingestão de MS e, conseqüentemente de PB. Como não houve aumento na digestibilidade destas frações, naturalmente o consumo e excreção deste nutriente permaneceram nas mesmas proporções.

Além disso, neste estudo foi possível verificar que a adição da quitosana promoveu maior retenção de nitrogênio, bem como maior eficiência na utilização deste elemento.

Ao contrário, Vendramini et al. (2016) não observaram aumento da eficiência na utilização de nitrogênio em vacas lactantes alimentadas com dietas contendo GS, com inclusão ou não de quitosana. Entretanto a quitosana promoveu maior retenção de N, quando comparado ao GS, constatado pela maior digestibilidade de PB e menor excreção de N nas fezes, sem, no entanto haver aumento na excreção deste composto pelo leite ou urina.

Rodrigues et al. (2017) observaram redução na excreção de N pelas fezes, mas aumento da excreção na urina à medida que a inclusão de fonte lipídica aumentou. Gandra et al. (2016a) encontraram maior retenção de N em dietas contendo GS, associado e não associado à quitosana, em relação à dietas acrescidas de quitosana sem associação ou controle. Os autores atribuíram o resultado verificado à mudança no perfil proteico da dieta, na qual foi substituído farelo de soja presente da dieta contendo quitosana por grão de soja e com isto reduziu o balanço energético da dieta com quitosana.

4.4. Concentrações dos metabólitos sanguíneos

Novilhas alimentadas com dietas sem inclusão de fonte lipídica apresentaram menores concentrações séricas de colesterol em comparação aos animais alimentados com as demais dietas. Esse resultado já era esperado uma vez que houve menor consumo de EE nos animais alimentados com a dieta CON em relação às novilhas que consumiram das dietas com fontes de AGI. Da mesma forma, Naves et al. (2015) e Zanferari et al. (2018) observaram aumento do colesterol em vacas alimentadas com GS e atribuíram tal resultado também à maior ingestão de EE pelos animais. O fornecimento de ácidos graxos na dieta favorece a síntese de colesterol no

intestino e aumenta sua exportação, elevando as concentrações deste metabólito no sangue (NOBLE, 1981).

Novilhas alimentadas com as dietas OS e GS sem inclusão de quitosana apresentaram maiores valores de triglicerídeos e VLDL do que os animais alimentados com as mesmas dietas com inclusão de quitosana. Este aumento conjunto é justificado devido ao fato que os triglicerídeos são transportados no sangue pelas VLDL, bem como pelos quilomícrons, sendo o aumento dessas concentrações considerado normal em ruminantes que são alimentados com alta concentração de gordura, pois ocorre uma adaptação do metabolismo para que o organismo seja capaz de transportar a grande quantidade de ácido graxos que chegam no intestino para o tecido adiposo (RODRIGUES et al., 2017).

Maiores concentrações de glicose foram verificadas em novilhas alimentadas com dieta GSQ em comparação aos animais alimentados com dieta OSQ. Embora os níveis de glicose sejam influenciados pela produção de propionato (GARCIA-RODRIGUEZ et al., 2015), neste ensaio a quitosana não promoveu aumento na produção deste ácido graxo. Ao contrário, dietas com inclusão do aditivo proporcionaram menor formação de propionato. Logo, pode-se sugerir que o aumento da glicose sanguínea não esteve diretamente relacionado com a formação de propionato no rúmen. Esse aumento da glicose pode ser resultante de uma maior digestão intestinal do GS.

No entanto, com o uso de uma dieta base, e inclusão de doses crescentes de quitosana, Araújo et al. (2015) observaram aumento linear das concentrações de propionato e glicose. Já Zanferari et al. (2018) não encontraram efeitos da quitosana na concentração de glicose, mas observaram redução desse metabólito em animais alimentados com GS. Considerando os mesmos tratamentos, a concentração de proteínas totais foi maior em animais alimentados com OSQ. Araújo et al. (2015) não encontraram diferença utilizando quitosana na alimentação de novilhos da raça Nelore. Da mesma forma, Rodrigues et al., (2017) também não encontraram diferença nas concentrações proteicas de novilhas Jersey alimentadas com óleo de soja.

Com relação às concentrações de ureia e NUS, os níveis séricos foram maiores nas novilhas quando alimentadas com a dieta OS em comparação aos animais alimentados com a dieta GS, ambos sem aditivo. Esse resultado era esperado em virtude a maior produção de N-NH₃ no rúmen pelas novilhas recebendo dieta OS.

Quando as concentrações de N-NH₃ produzido no rúmen aumenta, os níveis de ureia e NUS no sangue também aumentam, por consequência. Segundo Kozloski (2012) o N-NH₃, que

é utilizado pelos micro-organismos, em especial as bactérias fibrolíticas, é também absorvido pela parede do rúmen, seguindo para o fígado, onde é formada ureia que fica circulante no sangue até ser recuperada ou excretada pela urina, principalmente. Ainda segundo o autor, a absorção da amônia é proporcional à sua concentração no rúmen e aumenta conforme o pH aumenta, o que pode ser constatado neste estudo que apresentou valores de pH entre 6,8 e 6,9, favoráveis à absorção da amônia.

5 CONCLUSÃO

Na concentração utilizada, a quitosana não altera o consumo e a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos. Entretanto, melhora o aproveitamento de nitrogênio pelos animais. Este aditivo também modula as concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta, favorecendo a utilização de energia.

As dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados, independente do processamento, alteram o consumo de nutrientes e a digestibilidade da fibra, bem como a produção de ácidos graxos de cadeia curta e concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1598-1624, 2000.

ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS JUNIOR, J. E.; BARLETTA, R.V.; GANDRA, J. R.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F. P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 206, p. 114-118, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official Methods of Analysis, 19th ed. AOAC International, Washington, DC, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official Methods of Analysis, 17th ed. AOAC International, Arlington, VA. 2000.

BARBOSA, A. L.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; VÉRAS, R. M. L.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; MARCONDES, M. I.; SOUZA, M. A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 870-877, 2006.

BARLETTA, R.V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JUNIOR J. E.; VERDURICO, L. C.; 1 , MINGOTI, R. D.; BETTERO, V. P.; BENEVENTO, B. C.; VILELA, F. G.; RENNO, F. P. High levels of whole raw soya beans in dairy cow diets: digestibility and animal performance. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 6, p. 1179-1190, 2016.

BETTERO, V. P.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; ARAÚJO, C. E.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; TAKIYA, C. S.; ZANFERARI, F.; PAIVA, P. G.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 30-38, 2017.

BRODERICK, G. A.; KANG, J. H. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media 1. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 64-75, 1980.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details.** Rowett Research Institute, 1992.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 8, p. 828-855, 2007.

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

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

DOHME, F., MACHMULLER, A., WASSERFALLEN, A., KREUZER, M. Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 47-51, 2001.

DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. **Livestock Production Science** v. 43, n. 2, p. 97–110.

FERME, D.; BANJAC, M.; CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; KAMEL, C.; AVGUŠTIN, G. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. **Folia Microbiology**. v. 49, n. 2, p. 151–155, 2004.

FIORENTINI, G; MESSANA, J. D.; DIAN, P. H. M.; REIS, R. A.; CANESIN, R. C.; PIRES, A. V.; BERCHIELLI, T. T. Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred

heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 181, n. 1-4, p. 26-34, 2013.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; TAKIYA C. S.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; VENTURELLI, B. C.; VENDRAMINI, T. H. A.; MINGOTI, R. D.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; JESUS, E. F.; OLIVEIRA, M. D. S.; RENNÓ, F. P. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 9, p. 7881-7891, 2018.

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

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R. D.; PAIVA, P. G. D.; GANDRA, É. R. D. S.; ARAKI, H. M. C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 3, p. 130-137, 2016a.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; ARRIOLA, J. A.; ASTIGARRAGA, N. M.; HEREDIA, I. B.; RUIZ, R.; GOIRI, I. Production performance and plasma metabolites of dairy ewes in early lactation as affected by chitosan. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 4, p. 20, 2015.

GUGLIELMELLI, A.; CALABRÒ, S.; CUTRIGNELLI, M.; GONZALEZ, O.; INFASCELLI, F.; TUDISCO, R.; PICCOLO, V. In vitro fermentation and methane production of fava and soy beans. **EAAP Scientific Series**, v. 127, n. 1, p. 457-460, 2010.

HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **Bulletin 339** Gainesville, University of Florida, p.1-25, 2000.

IVAN M.; PETIT, H. V.; CHIQUETTE, J.; WRIGHT, A. D. Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. **British Journal of Nutrition**. v. 109, n. 7, p. 1211-1218, 2013.

- JEON, S. J.; OH, M.; YEO, W. S.; GALVAO, K. N.; JEONG, K. C. Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92723, 2014.
- JENKINS, T.C.; BRIDGES W.C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **Europe Journal Lipid Science Technology**, v 109, n.8, p.778- 789, 2007.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3851-3863, 1993.
- JOUANY, J. P. Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. suppl_4, p. 1335S-1346S, 1996.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012, 214p.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 347-358, 1996.
- MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY, L. C.; FIGUERES, L.; WALLACE, R. J. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 91, n. 4, p. 303–314. 2007.
- MARTIN, C.; MORGAVI, D.P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal** v. 4, n. 3; p. 351–365, 2010.
- MATHEW, S.; SAGATHEMAN, S.; THOMAS, J.; MATHEN, G. An HPLC method for estimation of volatile fatty acids of ruminal fluid. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 67, n. 9, p. 805-807, 1997.
- MINGOTI, R.D.; FREITAS, J. E.; GANDRA, J.R.; GARDINAL, R.; CALOMENI, G.D.; BARLETTA, R.V.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; RENNO, F.P. Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 187, p. 35-39, 2016.

MOSS, A. R.; JOUANY, J. P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In: **Annales de Zootechnie**. EDP Sciences, 2000. p. 231-253.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 8.ed. Washington, D. C., 234p. 2016.

NAVES, A. B.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; TAKIYA, C. S.; VENDRAMINI, T. H. A.; MINGOTI, R. D.; RENNÓ, F. P. Effect of raw soya bean particle size on productive performance and digestion of dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 4, p. 778-788, 2015.

NOBLE, R. C. Digestion, transport and absorption of lipids. In: CHRISTIE, W. W. **Lipid metabolism in ruminant animals**. 1. ed. Oxford: Pergamon Press Ltd, 1981. p. 57-93.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; FILHO, S. C. V.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1621-1629, 2001.

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, and milk yield and composition of dairy cows. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 301-307, 2016.

PLAIZIER, J. C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T.; BAGG, R.; DICK, P.; MCBRIDE, B. W. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2918-2925, 2000.

RODRIGUES, J. P. P.; PAULA, R. M.; RENNÓ, L. N.; FONTES, M. M. S.; MACHADO, A. F.; VALADARES FILHO, S. C.; HUHTANEN, P.; MARCONDES, M. I. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 6, p. 4435-4447, 2017.

- ROSSI, L. G. FIORENTINI, G.; VIEIRA, B. R.; NETO, A. J.; MESSANA, J. D.; MALHEIROS, E. B.; BERCHIELLI, T. T. Effect of ground soybean and starch on intake, digestibility, performance, and methane production of Nelore bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 226, p. 39-47, 2017.
- SCHMIDELY, P.; GLASSER, F.; DOREAU, M.; SAUVANT, D. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. **Animal: an International Journal of Animal Bioscience**, v. 2, n. 5, p. 677-690, 2008.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets, II, Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**. v. 70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SULLIVAN, H. M.; BERNARD, J. K.; AMOS, H. E.; JENKINS, T. Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 3, p. 665-671, 2004.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfafa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives, **Journal of Dairy Science**. v. 82, n. 12, p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VENDRAMINI, T. H. A.; TAKIYA, C. S.; SILVA, T. H.; ZANFERARI, F.; RENTAS, M. F.; BERTONI, J. C.; CONSENTINIA, C.E.C.; GARDINAL, R.; ACEDO, T.S.; RENNÓ, F. P. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 12-21, 2016.
- VENTURELLI, B. C.; E FREITAS JUNIOR, J. E.; TAKIYA, C. S.; ARAÚJO, A. P. C., SANTOS, M. C. B., CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; VENDRAMINI, T. H. A.; RENNÓ, F. P. Total tract nutrient digestion and milk fatty acid profile of dairy cows fed diets

containing different levels of whole raw soya beans. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1149-1160, 2015.

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

ZAKLOUTA, M.; HILALI, M.; NEFZAOU, A.; HAYLANI, M. **Animal Nutrition and Product Quality Laboratory Manual**. ICARDA, Aleppo, Syria. 2011. 92p.

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

CAPÍTULO II

**ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS
INSATURADOS EM DIETAS PARA NOVILHAS SOBRE O
COMPORTAMENTO INGESTIVO E CINÉTICA RUMINAL**

ASSOCIAÇÃO ENTRE QUITOSANA E ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM DIETAS DE NOVILHAS SOBRE O COMPORTAMENTO INGESTIVO E CINÉTICA RUMINAL

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da associação da quitosana ao óleo de soja e ao grão de soja integral sobre o comportamento ingestivo, caracterização ruminal, fluxo reticular e cinética ruminal em novilhas de corte. Cinco novilhas mestiças das raças Simental x Zebu, canuladas no rúmen, com aproximadamente 24 meses de idade, peso corporral inicial de $335 \pm 53,2$ kg foram distribuídas aleatoriamente em um quadrado latino 5×5 para receberem uma das cinco dietas experimentais: 1) CON = Controle (sem inclusão de ácidos graxos insaturados (AGI) ou quitosana); 2) OS = Óleo de Soja (inclusão de 2,5% de OS na matéria seca (MS) total); 3) GS

= Grão de Soja (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* na MS total); 4) OSQ = Óleo de Soja + Quitosana (inclusão de 2,5% de OS + 0,20% de quitosana na MS total) e, 5) GSQ = Grão de soja + Quitosana (inclusão de 16% de grão de soja *in natura* + 0,20% de quitosana na MS total). O volumoso utilizado foi a silagem de milho e a quitosana foi fornecida na forma de “topdress”. Houve efeito das dietas nas eficiências de ruminação da MS e FDN ($P < 0,05$), sendo maiores nos animais recebendo dieta CON. Novilhas alimentadas com dieta GS apresentaram menor eficiência de ruminação da MS em relação aquelas alimentadas com a dieta OS ($P < 0,05$). As dietas com AGI diminuíram o fluxo reticular de MS, FDN e FDN potencialmente digestível (pd) em relação aos animais alimentados com a dieta controle ($P < 0,05$). As dietas com OS e GS associadas ou não à quitosana reduziram as taxas de digestão da MS, de renovação ruminal da MS, FDN e de passagem da MS, FDN e FDNpd em relação aos animais alimentados com a dieta controle ($P < 0,05$). A inclusão de quitosana não exerce efeito sobre o comportamento ingestivo dos animais, fluxo ruminal de nutrientes e dinâmica ruminal. Entretanto, as fontes de ácidos graxos insaturados, independente do processamento alteram a cinética ruminal dos nutrientes em dietas para novilhas de corte.

Palavras-chave: aditivo, bovinos, etologia, fluxo reticular, intestino

**ASSOCIATION BETWEEN CHITOSAN AND UNSATURATED FATTY ACIDS
SOURCES IN DIETS FOR HEIFERS ON FEEDING BEHAVIOR AND RUMINAL
KINETICS**

ABSTRACT

This study aimed evaluate the association effect between chitosan with soybean oil and whole soybean grain on feeding behavior, ruminal characterization, reticular flow and ruminal kinetics in beef heifers. Five Simental x Zebu crossbred heifers, rumen- cannulated, with approximately 24 months of age, initial body weight of 335 ± 53.2 kg were randomly distributed in a 5×5 Latin square experimental design to receive one of the five experimental diets: 1) CON = Control (without inclusion of unsaturated fatty acid (FA) or chitosan); 2) SO = Soybean Oil (dietary inclusion at 2,5% in total dry matter (DM); 3) WS = Whole raw soybean (dietary inclusion at 16% in total DM); 4) CHSO = Chitosan + Soybean Oil (dietary inclusion at 0,2% and 2,5% in total DM, respectively); 5) CHWS = Chitosan + Soybean Grain (dietary inclusion at 0,2% and 16% in total DM, respectively). The forage source was maize silage and the chitosan was provided on topdress form. There was diet effect on the rumination efficiencies of DM and NDF ($P < 0.05$), being higher in animals receiving CON diet. Heifers fed the WS diet showed lower DM rumination efficiency than animals fed the SO diet ($P < 0.05$). Diets with UFA decreased the reticular outflow of DM, NDF and potentially digestible (pd) NDF in relation to animals fed CON diet ($P < 0.05$). Diets with SO and WS with and without CHI association decreased the DM digestion rate, ruminal turnover of DM, NDF and passage of DM, NDF and pdNDF in relation to animals fed the CON diet ($P < 0,05$). The inclusion of chitosan has no effect on the animals' feeding behavior, rumen outflow of nutrients and rumen dynamics. However, the sources of unsaturated fatty acids, regardless of processing, alter the ruminal kinetics of nutrients in diets for beef heifers.

Keywords: additive, cattle, ethology, intestine, reticular flow, rumination

1 INTRODUÇÃO

A nutrição animal vem ao longo dos anos desenvolvendo tecnologias com intuito de aumentar a produtividade animal, através de estratégias que atendam às exigências nutricionais dos animais com o objetivo de torná-los mais produtivos. Dentre essas estratégias é possível destacar a utilização de aditivos alimentares que tenham poder de modular a fermentação ruminal através de alterações na sua microbiota e nos processos digestivos.

Dentre os aditivos avaliados, a quitosana tem sido sugerida na alimentação de ruminantes, desde que resultados promissores *in vitro* foram encontrados por Goiri et al. (2009). Este composto exerce efeito nas bactérias fibrolíticas, reduzindo sua população e consequentemente a taxa de passagem do conteúdo ruminal. Além disso, a quitosana favorece também o crescimento das bactérias amilolíticas e este conjunto de fatores resultam ao mesmo tempo em menor consumo e melhor digestibilidade, melhorando assim a aproveitamento de nutrientes pelo animal (GANDRA et al., 2016a).

Outra estratégia nutricional utilizada, não apenas para atender as necessidades energéticas, mas também para modular a população bacteriana ruminal é o fornecimento de fontes de ácidos graxos, principalmente, ácidos graxos insaturados (RABIEE et al., 2012). As fontes de lipídios podem reduzir a velocidade de fluxo de nutrientes para o duodeno por reduzir a digestibilidade da fibra, bem como reduzir o padrão de biohidrogenação. A extensão desses processos, no entanto, depende de diversos fatores como tipo de dieta, tempo de retenção no rúmen, fonte de lipídios, forma como são fornecidos na dieta e principalmente perfil de ácidos graxos (BOECKAERT et al., 2006). As fontes protegidas como sementes de oleaginosas inteiras promovem menos efeitos em nível ruminal do que os óleos vegetais (CHILLIARD et al., 2000).

Diversos estudos avaliando os efeitos associação da quitosana com diferentes tipos de ácidos graxos no comportamento ingestivo e cinética ruminal têm sido desenvolvidos principalmente em vacas leiteiras (GANDRA et al., 2016; DEL VALLE et al., 2017; HARAKI et al., 2018; ZANFERARI et al., 2018), mas pouco se tem estudado a ação destes aditivos em animais de corte.

Neste contexto, o presente experimento teve por objetivo avaliar o efeito da associação da quitosana a fontes de ácidos graxos insaturados no comportamento ingestivo, dinâmica ruminal e fluxo de nutrientes de novilhas de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Comitê de ética local de realização

O experimento foi conduzido no setor de nutrição e metabolismo de grandes ruminantes na Fazenda Experimental de Entre Rios, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, localizada na zona rural do município de Entre Rios - BA, Brasil.

Todos os protocolos para a utilização de animais nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA), da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (número de protocolo: 02/2018).

Os animais foram alocados em baias individuais de 25 m², cobertas, com piso de concreto e área de sol com chão de areia, equipadas com cochos e comedouros, permitindo o fornecimento de água *ad libitum* durante o período experimental.

2.2. Animais, delineamento experimental e dietas

Foram utilizadas cinco novilhas mestiças das raças Simental x Zebu com aproximadamente 24 meses de idade e, peso vivo inicial de $335 \pm 53,2$ kg, fistuladas no rúmen com cânulas de silicone (Kehl ®) de 4 polegadas.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um quadrado latino 5×5 com períodos de 21 dias, em que 14 dias foram destinados à adaptação às dietas e ao manejo e 7 dias para a coleta de dados. Dessa forma, as dietas foram aleatoriamente distribuídas entre as novilhas e consistiram de: 1) CON = Controle (sem inclusão de ácidos graxos insaturados ou quitosana); 2) OS = Óleo de Soja, com inclusão de 2,5% de OS na matéria seca total; 3) GS = Grão de Soja, com inclusão de 16% de grão de soja *in natura* na matéria seca total; 4) OSQ = Óleo de Soja + Quitosana (inclusão de 2,5% de OS + 0,20% de quitosana na matéria seca total e, 5) GSQ = Grão de soja + Quitosana, com inclusão de 16% de grão de soja *in natura* + 0,20% de quitosana na matéria seca total.

A composição e o perfil de ácidos graxos dos alimentos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Item (%)	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Quitosana	Óleo de soja
Matéria seca	26,5	88,9	88,1	91,7	88,3	99,9
Matéria orgânica	93,2	93,4	98,6	95,0	96,1	99,9
Matéria mineral	6,8	6,6	1,4	5,0	3,9	--
Extrato etéreo	2,3	1,3	3,5	18,3	0,6	99,9
Proteína bruta	7,4	50,6	9,7	42,2	43,8	--
NIDN ¹ (%MS)	18,6	4,8	8,2	9,5	--	--
NIDA ² (%MS)	9,0	2,5	2,7	6,9	--	--
FDN ³	54,0	14,8	15,0	19,5	--	--
FDNcp ⁴	47,9	11,5	11,7	13,0	--	--
FDNi ⁵	21,1	2,2	1,8	1,5	--	--
FDA ⁶	29,5	8,5	2,4	8,5	--	--
Lignina	4,5	1,5	1,2	2,5	--	--
CT ⁷	83,5	41,5	85,3	32,8		--
CNF ⁸	29,5	33,3	76,8	26,0	--	--
NDT ⁹	64,0	78,1	87,8	74,2	--	--
EL ¹⁰ (Mcal/kg)	1,6	2,6	2,1	3,3	--	6,5

¹Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; ²Nitrogênio insolúvel em detergente ácido; ³Fibra em detergente neutro; ⁴Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; ⁵Fibra em detergente neutro indigestível; ⁶Fibra em detergente ácido; ⁷Carboidratos totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁸Carboidratos não-fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁹Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2016); ¹⁰Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Ácido Graxo (%)	Silagem de milho	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja	Óleo de soja
AG totais ¹	1,35	2,29	5,65	19,2	99,9
C8:0	0,70	0,05	0,03	0,02	--
C10:0	0,13	0,12	0,06	0,11	--
C12:0	0,77	1,51	0,75	1,28	--
C14:0	8,61	2,06	0,42	1,33	0,55
C16:0	24,55	23,46	17,45	13,56	18,17
C16:1	0,95	0,37	0,28	0,23	--
C18:0	7,49	5,37	2,36	5,22	3,24
C18:1 c9	21,29	15,49	35,06	23,49	12,47
C18:2 n6	18,24	53,34	42,98	52,33	48,89
C18:3 n3	6,12	5,63	1,09	6,64	4,87

¹Ácidos graxos totais

A quitosana foi fornecida de forma “*topdress*” às novilhas de acordo com o consumo de matéria seca de cada animal recebendo a respectiva dieta experimental (OSQ e GSQ) antes do fornecimento da ração, no período matutino. Dessa forma, para reduzir a seleção pelos animais,

foi misturada a uma porção de concentrado, de modo a estimular o consumo do aditivo. A quitosana utilizada neste estudo apresentou as seguintes especificações técnicas: taxa de desacetilação de 86,3%, 0,33 mg / mL de densidade aparente; pH de 7,9 e viscosidade <200 cPs (Polymar Indústria, Comércio Importação e Exportação Ltd., Fortaleza, CE).

Os concentrados e as dietas foram formulados para serem isonitrogenados (Tabela 3 e Tabela 4, respectivamente) de modo a atender as exigências de animais com aproximadamente 350 kg de peso corporal, conforme as recomendações do NRC (2016). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia às 08:00h e às 13:30h.

Tabela 3 - Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais ¹				
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ
Milho moído	59,00	51,30	40,60	50,80	40,10
Farelo de soja	34,75	36,13	15,13	36,13	15,13
Óleo de soja	-	6,33	-	6,33	-
Grão de Soja	-	-	40,05	-	40,05
Quitosana	-	-	-	0,50	0,50
Ureia	2,53	2,53	0,50	2,53	0,50
Mistura mineral ²	3,73	3,73	3,73	3,73	3,73
Composição química (% da MS)					
Matéria seca	89,12	89,89	90,10	89,89	90,10
Matéria orgânica	93,15	93,17	92,70	93,17	92,70
Extrato etéreo	2,52	8,59	8,95	8,59	8,95
Proteína bruta	30,07	30,54	29,93	30,54	29,93
FDN ³	13,97	13,04	16,12	13,04	16,12
FDNi ⁴	1,85	1,74	1,68	1,74	1,68
Lignina	1,62	1,57	1,70	1,57	1,70
CT ⁵	60,58	52,24	53,87	52,24	53,87
CNF ⁶	51,37	43,95	39,14	43,95	39,14
NDT ⁷	80,22	86,29	85,37	86,29	85,37
EL ⁸ (Mcal/kg de MS)	2,40	2,30	2,60	2,30	2,60
AG ⁹ g/100 g of AG					
C14:0	0,85	0,89	0,92	0,89	0,92
C16:0	16,32	16,57	14,37	16,57	14,37
C18:0	2,89	3,00	3,48	3,00	3,48
C18:1 cis	23,00	21,61	23,23	21,61	23,23
C18:2	44,01	44,16	33,34	44,16	33,34
C18:3	2,30	5,61	3,59	5,61	3,59
Outros	1,23	1,17	1,28	1,17	1,28

¹CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ²Composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobalto, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor. ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente

Neutro indigestível; ⁵Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos Não-Fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁷Nutrientes Digestíveis Totais estimados pelas equações do NRC(2016); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016); ⁹Ácidos graxos.

Tabela 4 - Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais ¹				
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ
Silagem de milho	60,02	60,01	60,05	60,02	60,05
Milho moído	23,59	20,5	16,19	20,5	16,04
Farelo de soja	13,89	14,45	6,05	14,45	6,05
Óleo de soja	-	2,53	-	2,53	-
Grão de Soja	-	-	16,02	-	16,02
Quitosana	-	-	-	0,20	0,20
Ureia	1,01	1,01	0,20	1,01	0,20
Mineral ²	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
Composição química					
Matéria seca	51,55	51,83	51,92	51,83	51,92
Matéria orgânica	93,19	92,47	93,00	92,47	93,0
Extrato etéreo	2,39	4,81	4,95	4,81	4,95
Proteína bruta	16,47	16,66	16,41	16,66	16,41
FDN ³	38,0	37,62	38,85	37,62	38,85
FDNi ⁴	13,39	13,34	13,32	13,34	13,32
Lignina	3,20	3,17	3,39	3,17	3,39
CT ⁵	78,08	72,91	71,79	72,91	71,79
CNF ⁶	38,25	35,28	33,35	35,28	33,35
NDT ⁷	67,55	70,79	70,41	70,79	70,41
EL, (Mcal/kg) ⁸	1,54	1,64	1,63	1,64	1,63
AG g/100 g of AG ⁹					
C14:0	5,08	5,09	5,10	5,09	5,10
C16:0	20,01	20,11	19,23	20,11	19,23
C18:0	5,28	5,32	5,52	5,32	5,52
C18:1 cis	20,91	20,34	20,99	20,34	20,99
C18:2	27,58	27,65	28,10	27,65	28,10
C18:3	4,27	4,40	4,79	4,40	4,79
Outros	1,79	1,77	1,81	1,77	1,81

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ²Composição mineral por Kg do produto: 128g de cálcio, 44g de fósforo, 178g de sódio, 12g de enxofre, 5g magnésio, 107mg de cobalto, 1,25g de cobre, 50mg de cobalto, 50mg de iodo, 750mg de manganês, 12mg de selênio, 3,7g de zinco, 1,4g de ferro e 440mg de flúor; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível ⁵Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos não-fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁷Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2016); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2016); ⁹Ácidos Graxos.

2.3 Coletas de amostras e análises laboratoriais

No início de cada período experimental, foram realizadas as coletas de amostras dos ingredientes, enquanto as amostras de sobras foram colhidas diariamente durante o período de coleta de dados, do dia 15 ao dia 21 de cada período. Dessa forma, foram obtidas cinco amostras simples de sobras por animal, que ao final de cada período formou-se a composta por cada animal. Essas amostras foram armazenadas em sacos plásticos identificados e, mantidas em freezer a -20°C .

Previamente a realização das análises laboratoriais, as amostras foram descongeladas sob resfriamento e submetidas a secagem em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 horas). Em seguida, foram moídas em moinhos tipo Willey equipados com peneiras de 1-mm e, então armazenados em potes plásticos até a realização das análises laboratoriais.

Previamente a realização das análises laboratoriais, as amostras de ingredientes, sobras, conteúdo reticular e fezes foram descongeladas. As amostras de conteúdo reticular e fezes foram homogeneizadas formando uma amostra composta de cada material coletado por animal. Foram então submetidas a secagem em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 horas), moídas em moinhos tipo Willey equipados com peneiras de 1mm e, então armazenados em potes plásticos até a realização das análises laboratoriais.

Amostras dos ingredientes e sobras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS - Método: 950.05), matéria mineral (MM - Método: 942.05); proteína bruta (PB = $N \times 6,25$; - método 984.13); extrato etéreo (EE - Método: 920.39) conforme metodologias descritas pela AOAC (2000). O conteúdo de matéria orgânica (MO) foi calculado conforme descrito por Zaklouta et al. (2011) através da seguinte fórmula: $\text{MO (\% MS)} = 100 - \text{MM (\% MS)}$.

Essas amostras foram também avaliadas quanto aos conteúdos de fibra em detergente neutro (FDN), determinados conforme as metodologias descritas por Van Soest et al. (1991), com a adição de alfa-amilase termoestável e sem inclusão de sulfito de sódio no detergente. Foram também analisados nos ingredientes os teores de lignina e fibra em detergente ácido (FDA) (método: 973.18) (AOAC, 2012).

Os teores de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) foram obtidos segundo recomendações de Licitra et al. (1996). Os carboidratos não-fibrosos (CNF) dos alimentos foram estimados de acordo com Sniffen et al. (1992): $\text{CNF} = 100 - (\text{MM} + \text{PB} + \text{EE} + \text{FDNcp})$, enquanto o CNF das dietas foi calculado segundo Hall (2000) através da seguinte fórmula: $\text{CNF (\%)} = 100 - [(\% \text{PB} - \% \text{PB ureia} +$

%ureia) + %EE + %MM + %FDN]. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) dos ingredientes foram estimados segundo NRC (2001), em que: $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$.

As amostras de silagem, ingredientes do concentrado, conteúdo reticular e fezes foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de porosidade 2 mm, para estimar o teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Em seguida, foram acondicionadas em sacos de tecido não tecido (TNT), com tamanho de 5 x 5, 20 mg MS / cm² e incubados no rúmen de dois bovinos previamente adaptados a uma dieta semelhante a que foi fornecida aos animais durante o período experimental por 288 horas. Os sacos foram então removidos do rúmen, lavados em água corrente e analisados quanto à concentração de fibra em detergente neutro (Método INCT CA-F 009/1, descrito por Detmann et al. (2012)).

2.4. Comportamento ingestivo

No 14º dia de cada período experimental, após o período de adaptação foi avaliado o comportamento ingestivo dos animais. As novilhas foram submetidas à observações visuais, de forma individualizada, por 24 horas em intervalos a cada 5 minutos de modo a serem contabilizados os tempos despendidos em alimentação, ruminação e ócio (CARVALHO et al., 2008). As avaliações tiveram início às 08:00 h, no momento da alimentação e seguiram até às 08:00 h do dia seguinte.

Os dados foram coletados por observadores treinados e posicionados de modo a afetar o mínimo possível o comportamento dos animais. As novilhas não necessitaram se submeter a adaptação à luminosidade para coletas no período noturno, pois eram mantidas constantemente em ambiente iluminado, em grau de iluminação que não lhes causasse incômodo e ao mesmo tempo não prejudicasse as observações.

No mesmo dia, foram realizadas três observações por período do dia (manhã, tarde e noite) em cada animal, a fim de contabilizar as mastigações meréricas (número de mastigações por bolo regurgitado) e o tempo despendido entre a regurgitação e a redeglutição, utilizando-se cronômetros digitais, totalizando nove observações em cada animal por período experimental (POLLI et al., 1996).

A partir dos dados coletados, foram contabilizados os números de períodos em alimentação, ruminação e ócio. Dessa forma, foi calculada a duração média diária de cada

período de atividades dividindo-se a duração total de cada atividade (alimentação, ruminação e ócio em min/dia) pelo seus respectivos números de períodos registrados.

As eficiências de alimentação (EAL) e ruminação (ERU) da MS e FDN e o tempo de mastigação total (TMT min/dia) foram calculados conforme a metodologia descrita por Burger et al. (2000). Os resultados dos parâmetros comportamentais avaliados foram obtidos utilizando-se as seguintes equações:

Números de bolos ruminados:

$$NBR = TRU/NM$$

Em que: NBR = número de bolos ruminados por dia; TRU = tempo gasto em ruminação diariamente (h); NM = número de mastigações por dia.

Tempo de mastigação total:

$$TMT = TI + TRU$$

Em que: TMT = tempo de mastigação total (minutos/dia); TI = tempo gasto em ingestão diariamente (h); TRU = tempo gasto em ruminação diariamente (h).

Eficiência de alimentação da MS e da FDN:

$$EAL_{MS} = CMS/TI$$

$$EAL_{FDN} = CFDN/TI$$

Em que EAL_{MS} = eficiência de alimentação da MS (g MS ingerida/h); CMS (g) = consumo diário de matéria seca; TI = tempo gasto em ingestão diariamente (h); EAL_{FDN} = eficiência de alimentação da FDN (g FDN ingerida/h); CFDN = consumo diário da FDN (g).

$$ERU_{MS} = CMS/TRU$$

$$ERU_{FDN} = CFDN/TRU$$

Em que ERU_{MS} = eficiência de ruminação da MS (g MS ruminada/h); ERU_{FDN} = eficiência de ruminação da FDN (g FDN ruminada/h), TRU = tempo gasto em ruminação diariamente (h).

2.5. Fluxo reticular de nutrientes

Nos 16^o, 17^o e 18^o dias de cada período experimental, foram coletadas amostras das digestas reticular e de fezes a cada 9 horas, com o objetivo de representar o fluxo real das digestas. Dessa forma, foi obtido um total de oito sub-amostras de cada material amostrado, por animal, por período experimental (KRIZSAN et al., 2010).

A amostragem de digesta reticular foi realizada por meio de sucção, com auxílio de bomba de vácuo. Uma mangueira acoplada à bomba de vácuo, foi inserida no retículo pela cânula ruminal e então foram succionados 700 mL de digesta por cada horário de coleta (HUHTANEN et al., 1997; AHVENJÄRVI et al., 2000). As amostras foram acondicionadas em garrafas plásticas e congeladas para posteriores análises. As fezes foram coletadas direto da ampola retal, acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises.

Após o período experimental, todas as amostras da digesta reticular e das fezes foram descongeladas e as oito sub-amostras de cada material coletado foram homogeneizadas formando uma amostra composta por animal e por período contabilizando 25 amostras compostas representativas (5 digesta/animal x 5 períodos). Posteriormente, foram pesadas (kg) e em seguida, a digesta reticular foi separada em fase sólida e fase líquida, utilizando uma malha de 1 mm de porosidade. As amostras de cada fase foram também pesadas (kg) e, assim como as fezes, secas em estufa de ventilação forçada (65°C por 72 horas). Então, foram moídas em moinhos tipo Willey providos de peneiras de crivo de 2 mm. Após a moagem, foram acondicionadas para posteriores análises de MS, MO, MM, FDN e FDNi, conforme metodologias da AOAC (2000) anteriormente mencionadas.

A fibra em detergente neutro potencialmente digestível (FDNpd) foi obtida pela fórmula:

$$\text{FDNpd (g/kg)} = \text{FDN (g/kg)} - \text{FDNi (g/kg)}.$$

Foi adotado o sistema de único indicador sendo a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) usada como indicador para o cálculo do fluxo reticular, através da fase sólida (ROTTA et al., 2014):

$$\text{Fluxo reticular da MS (g/d)} = \frac{\text{Consumo de FDNi (g/d)}}{\text{concentração reticular de FDNi (g/d)}}$$

2.6. Dinâmica ruminal

Para determinação da dinâmica ruminal, todo o conteúdo do rúmen foi retirado manualmente através de cânula ruminal 4 horas e meia após a alimentação no 20º dia, e 2 horas antes da alimentação no 21º de cada período experimental (HARVATINE e ALLEN, 2006). O conteúdo ruminal total foi quantificado em relação ao peso e o volume em tambores graduados. Durante a retirada do conteúdo ruminal, alíquotas de 10% da digesta foram separadas para permitir amostragem acurada da composição ruminal.

As alíquotas foram filtradas em malha (1,0 mm de porosidade) separando o conteúdo sólido do líquido, para determinação do tamanho médio de partícula. Ambas as frações (sólida e líquida) foram pré-secas e corrigidas para matéria seca original, sendo realizadas posteriores análises de MS, MO, MM, FDN e FDNi, conforme metodologias da AOAC (2000) anteriormente mencionadas. As taxas de renovação ruminal, passagem ruminal, e digestão ruminal de cada nutriente foram calculadas de acordo com Oba e Allen (2003) através das seguintes equações:

$$\begin{aligned} \text{Taxa de renovação do rúmen (\%/h)} = \\ (\text{Consumo do nutriente/h} / \text{tamanho do compartimento (massa ruminal do nutriente)}) / 24 \\ \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Taxa de passagem do rúmen (\% / h)} = \\ (\text{Fluxo do nutriente no compartimento/ pool do nutriente no rúmen}) / 24 \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Taxa de digestão no rúmen (\% / h)} = \\ \text{taxa de turnover no rúmen (\% / h)} - \text{A taxa de passagem do rúmen (\% / h)} \end{aligned}$$

2.7 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise estatística segundo delineamento em quadrado latino (5 x 5) utilizando-se o PROC MIXED do SAS 9.4 de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + \epsilon_{ijk}$$

Onde Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; A_i = efeito aleatório do animal (i = 1 a 5); P_j = efeito aleatório do período (j = 1 a 5); D_k = efeito fixo de dieta (k = 5; CON, OS, GS, OSQ e GSQ) e; ϵ_{ijk} = erro aleatório pressuposto NID ~ (0, σ^2).

As diferenças entre as dietas foram analisadas através contrastes ortogonais: C1 – Efeito das dietas contendo fonte de gordura em relação ao controle: (OS; GS; OSQ e GSQ vs CON); C2 – efeito das dietas com fonte de gordura e quitosana em relação às dietas com fonte de gordura e sem quitosana: (OS e GS vs OSQ e GSQ); C3 – efeito da fonte de gordura protegida e não protegida sem quitosana: (OS vs GS) e C4 – efeito da fonte de gordura protegida e não protegida com quitosana: (OSQ vs GSQ). O nível de significância foi estabelecido em 0,05. As medias foram obtidas por meio do LSMEANS.

3 RESULTADOS

3.1. Comportamento ingestivo

De forma geral, as dietas experimentais avaliadas com suplementação lipídica em associação ou não com à quitosana não influenciaram o comportamento ingestivo das novilhas (Tabela 5). Contudo, maiores eficiências de ruminação da MS ($P < 0,001$) e FDN ($P = 0,013$) foram observadas em novilhas alimentadas com a dieta CON, em comparação aos animais alimentados com as demais dietas. Além disso, foi observada menor eficiência de ruminação da MS ($P = 0,029$) nas novilhas alimentadas com GS em relação as que se alimentaram com OS (Contraste 3).

Tabela 5 - Comportamento ingestivo de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Consumo(kg/dia)										
MS ⁴	8,89	7,46	7,00	7,65	7,43	0,35	0,013	0,479	0,524	0,784
FDN ⁵	3,40	2,82	2,66	2,81	2,87	0,14	0,016	0,808	0,463	0,965
Atividades ⁶										
Alimentação	278	278	246	255	267	9,19	0,413	0,955	0,218	0,635
Ruminação	448	521	503	487	458	12,82	0,218	0,219	0,683	0,514
Ócio	714	641	691	698	715	18,09	0,598	0,394	0,456	0,797
Mastigação										
NB ⁷	45,4	45,4	45,2	44,8	45,0	0,18	0,844	0,812	0,916	0,938
NBR ⁸	561	657	646	632	618	16,40	0,134	0,552	0,857	0,812
TMM ⁹	47,7	47,8	46,7	46,3	44,9	0,89	0,368	0,200	0,543	0,427
TMT ¹⁰	12,0	13,3	12,4	12,3	12,0	0,30	0,597	0,395	0,454	0,796
Número de períodos/dia										
Alimentação	14,0	13,8	12,8	14,2	13,4	0,86	0,756	0,700	0,587	0,663
Ruminação	17,2	18,2	16,2	16,0	15,6	0,43	0,530	0,174	0,170	0,775
Ócio	27,8	29,6	27,0	28,0	26,6	0,96	0,999	0,544	0,274	0,548
Eficiências de alimentação										
g MS / hora	1,92	1,80	1,62	1,86	1,73	0,08	0,130	0,364	0,185	0,330
g FDN /hora	0,712	0,681	0,572	0,682	0,657	0,03	0,384	0,508	0,246	0,785
Eficiências de ruminação										
g MS / hora	1,18	0,95	0,79	0,96	0,98	0,04	<0,001	0,053	0,029	0,673
g FDN /hora	0,44	0,36	0,29	0,35	0,38	0,02	0,013	0,174	0,103	0,542

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ² Erro padrão da média. ³Valor de probabilidade dos contrastes: C1 = controle versus suplementação com óleo (CON vs OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana versus suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = óleo de soja versus grão de soja (OS versus GS); C4 = óleo versus grão de soja, ambos com quitosana (OSQ versus GSQ); ⁴Matéria seca; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶Em minutos por dia; ⁷Número de bolos por dia; ⁸Número de bolos ruminados por dia; ⁹Tempo de mastigação merérica por bolos/dia (seg); ¹⁰Tempo de mastigação total (h / dia);

3.2. Caracterização ruminal e fluxo reticular

Não foi verificado efeito da suplementação de ácidos graxos na forma de OS ou GS em associação ou não à quitosana sobre o peso da digesta e volume ruminal (Tabela 6). Da mesma

forma, também não foi observado efeito das dietas sobre os pools de MS, MO, FDN e FDNi, assim como nas digestibilidades ruminais de MS, MO, FDN e FDNpd ($P>0,05$). Todavia, maiores valores de fluxo reticular em g/dia de MS, FDN e FDNpd ($P=0,049$; $P=0,002$ e $P=0,002$, respectivamente) foram observados nos animais recebendo dieta CON em relação às novilhas alimentadas com as demais dietas (Contraste 1).

Tabela 6 - Caracterização ruminal e fluxo reticular de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Digesta ruminal (MN kg)	45,8	47,5	45,4	43,0	44,4	1,71	0,632	0,058	0,296	0,462
Vol. ruminal (L)	55	55	52	49	52	1,71	0,380	0,272	0,543	0,467
Pool ruminal (kg)										
MS ⁴	10,2	10,7	10,6	9,0	10,7	0,39	0,950	0,214	0,869	0,068
MO ⁵	8,1	8,4	8,3	6,9	8,4	0,33	0,863	0,215	0,911	0,069
FDN ⁶	6,3	6,2	6,7	5,4	6,6	0,27	0,807	0,303	0,437	0,073
FDNi ⁷	4,5	4,4	4,8	3,9	4,7	0,19	0,811	0,304	0,436	0,073
Digestibilidade ruminal (%)										
Matéria Seca	64,8	64,6	66,7	67,2	68,3	1,42	0,416	0,460	0,583	0,772
MO	71,3	72,0	73,5	73,8	75,6	1,20	0,295	0,400	0,639	0,568
FDN	34,8	32,7	38,6	37,0	41,0	2,78	0,101	0,973	0,875	0,336
FDNpd ⁸	63,9	53,4	61,7	60,4	63,5	3,05	0,242	0,369	0,236	0,647
Fluxo reticular (kg/dia)										
MS ⁴	2,9	2,5	2,3	2,4	2,2	0,12	0,049	0,760	0,525	0,487
FDN ⁶	2,3	1,8	1,6	1,8	1,6	0,09	0,002	0,920	0,362	0,482
FDNpd ⁸	0,87	0,68	0,61	0,67	0,61	0,11	0,002	0,942	0,356	0,467

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ² Erro padrão da média. ³ Valor de probabilidade dos contrastes: C1 = controle versus suplementação com óleo (CON versus OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana versus suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = óleo de soja versus grão de soja (OS versus GS); C4 = óleo versus grão de soja, ambos com quitosana (OSQ versus GSQ); ⁴ Matéria seca; ⁵ Matéria orgânica; ⁶ Fibra em detergente neutro; ⁷ Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸ Fibra em detergente neutro potencialmente disponível.

3.3. Dinâmica ruminal

Assim como foi observado nos fluxos reticulares de MS, FDN e FDNpd, a inclusão de fontes de ácidos graxos com ou sem quitosana nas dietas influenciaram a taxa de digestão da MS (P=0,027) e de renovação ruminal da MS (P= 0,004) e FDN (P=0,039) (Contraste 1) (Tabela 7). Desse modo, menores valores de fluxo de nutrientes foram observados nas novilhas alimentadas com as dietas contendo suplementação lipídica, com e sem inclusão de quitosana, em comparação aos animais alimentados com a dieta CON.

Da mesma forma, menores taxas de passagem de MS (P=0,025), FDN (P=0,013) e FDNpd (P=0,005) foram observadas nas novilhas alimentadas com a dietas contendo fontes de ácidos graxos, em associação ou não com a quitosana em relação aos animais alimentados com a dieta CON (Contraste 1) (Tabela 7).

Tabela 7 - Dinâmica ruminal de novilhas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados associados a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Taxa de digestão ⁴										
MS ⁵	2,4	1,8	1,9	2,1	1,9	0,12	0,027	0,264	0,872	0,472
FDN ⁶	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,08	0,822	0,412	0,600	0,883
FDNpd ⁷	2,7	2,4	2,6	2,7	2,7	0,30	0,808	0,723	0,784	0,962
Renovação ruminal ⁸										
MS ⁵	3,6	2,8	2,8	3,9	2,8	0,18	0,004	0,334	0,860	0,211
FDN ⁶	2,2	1,8	1,7	2,4	1,7	0,13	0,039	0,489	0,594	0,310
FDNpd ⁷	4,7	3,8	3,8	4,3	4,0	0,05	0,292	0,555	0,950	0,671
Taxa de passagem ⁹										
MS ⁵	1,2	0,9	0,9	1,0	0,8	0,04	0,025	0,991	0,573	0,241
FDN ⁶	1,5	1,2	1,0	1,2	1,0	0,06	0,013	0,868	0,237	0,227
FDNpd ⁷	2,0	1,5	1,2	1,5	1,3	0,09	0,005	0,942	0,185	0,383

¹ CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. ² Erro padrão da média. ³Valor de probabilidade dos contrastes: C1 = controle versus suplementação com óleo (CON vs OS+GS+OSQ+GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana versus suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS+GS versus OSQ+GSQ); C3 = óleo de soja versus grão de soja (OS versus GS); C4 = óleo versus grão de soja, ambos com quitosana (OSQ versus GSQ); ⁴Kd descrita em %/h; ⁵Matéria orgânica; ⁶Fibra em detergente neutro; ⁷Fibra em detergente neutro potencialmente disponível; ⁸descrita em %/h; ⁹Kpdescrita em %/h.

4 DISCUSSÃO

4.1. Comportamento ingestivo

A redução nas eficiências de ruminação (ERU) da MS e FDN apresentaram relação direta com os níveis de consumo de nutrientes dos animais. Portanto, a maior eficiência de ruminação observada nos animais recebendo dieta CON, está ligada ao maior consumo desta, e a ERU proporcionou maior digestibilidade da fibra por reduzir o tamanho de partícula, facilitando a adesão das bactérias fibrolíticas e também por manter um pH ótimo para o desenvolvimento destes micro-organismos.

A ingestão de alimento e as atividades de comportamento ingestivo dos bovinos tem relação direta com a digestibilidade dos componentes da dieta. Dessa forma, a cinética de digestão e sua passagem pelo rúmen, bem como as eficiências de ingestão e de ruminação são afetadas principalmente pelo consumo animal. Conseqüentemente, isso provoca alterações nos tempos despendidos nas atividades de ingestão, ruminação e ócio (NRC, 2001; CARVALHO, et al. 2008).

A eficiência de ruminação do alimento está diretamente relacionada com a MS da dieta e é influenciada por sua composição de maneira que, uma maior proporção de concentrado, possui maior peso e menor quantidade de FDN em cada bolo. Portanto, menos bolos alimentares são regurgitados e menos tempo é gasto com remastigação, conseqüentemente, as eficiências de ruminação da MS e FDN aumentam (SILVA et al., 2005; MISSIO et al., 2010).

De acordo com Berchielli et al. (2011), a qualidade e quantidade de alimento consumido promove alterações no tempo destinado à ruminação. O fornecimento de grãos inteiros de cereais, ao invés de triturados, pode aumentar o tempo destinado à mastigação durante o consumo e ruminação. Em virtude disso, há redução das eficiências de alimentação e ruminação, visto que o tempo despendido nestas atividades é inversamente proporcional à eficiência.

Hakari et al. (2018) ao avaliar comportamento ingestivo de novilhas Jersey alimentadas com GS associado e não associado à quitosana observaram menor eficiência de ruminação da MS nos animais alimentados com GSQ e atribuíram esse resultado à presença do GS, que pode aumentar o tamanho de partícula da dieta e, assim, reduzir a eficiência de ruminação da MS. Deste modo, a inclusão de grão de soja na dieta pode explicar a redução da eficiência de

ruminação da MS e FDN observada neste estudo nos animais alimentados com dieta GS em relação aos alimentados com dieta OS.

4.2. Caracterização ruminal e fluxo reticular

O volume e peso da digesta ruminal não apresentaram influência das dietas neste estudo. Resultados similares foram encontrados por Freitas Jr. et al., (2018) ao avaliar diferentes fontes de gordura (não protegida, protegida fisicamente e protegida quimicamente) na alimentação de vacas em lactação. Barletta et al. (2016) avaliando fluxo de ácidos graxos em vacas lactantes encontraram resultados semelhantes aos desse estudo, e relacionou a falta de efeito dos ácidos graxos no volume e peso da digesta ruminal com a redução do CMS e das taxas de passagem e renovação ruminais. Os ácidos graxos induzem a um menor consumo, que acarreta na redução do fluxo de nutrientes através do rúmen e desta forma, melhora na digestibilidade de nutrientes, sendo assim, uma menor taxa de passagem promove aumento do peso e volume ruminal (FREITAS JR. et al, 2019). Pode-se, assim sugerir que o menor consumo, digestibilidade e taxa de passagem observados nos animais recebendo dieta com fontes de ácidos graxos neste estudo, aumentaram o peso e volume da digesta, equivalendo-se aos valores correspondentes aos animais alimentados com a dieta CON.

Os fluxos reticulares de MS, FDN e FDNpd foram menores nas novilhas alimentadas com dieta contendo fontes de AGI. Esse resultado pode ser justificado pela redução na taxa de passagem que, conseqüentemente, refletiu em menor fluxo para o retículo. Ademais, dietas com fontes lipídicas proporcionaram menor eficiência de ruminação em relação à dieta CON, fato que contribuiu para redução do fluxo de digesta para o retículo. Segundo mencionado por Allen (1996), o tamanho da partícula está relacionado com a saída de digesta do rúmen, sendo assim, o aumento da ruminação reduz tamanho de partícula e promove aumento dos movimentos ruminais e esses dois eventos associados culminam em um maior escape de digesta para o retículo.

4.3. Dinâmica ruminal

As taxas de digestão da MS, renovação ruminal da MS e FDN e de passagem da MS, FDN e FDNpd foram maiores nas novilhas recebendo dieta CON em relação aos animais alimentados com as dietas contendo suplementação lipídica, com ou sem adição de quitosana.

A

taxa de passagem do rúmen é determinada pela categoria e estado fisiológico dos animais, nível de ingestão de ração e taxa de digestão ruminal (FORBES, 2007).

Barletta et al. (2016) relataram que fontes lipídicas tenderam a reduzir a taxa de passagem da MS em bovinos alimentados com fontes lipídicas e atribuíram à maior permanência do alimento no rúmen, sem que o peso e volume do conteúdo ruminal fosse alterado, decorrente da menor digestibilidade do alimento. Logo, esses animais apresentaram uma menor taxa de passagem da digesta, assim como ocorrido neste estudo. Ademais, a maior taxa de digestão dos animais da dieta CON pode ter ocorrido devido à maior digestibilidade da FDN desta dieta em relação às demais.

As taxas de digestão e passagem se opõem, de forma que uma menor taxa de passagem se correlaciona com maior digestão (ALLEN e MERTENS, 1988). Assim, era esperado que a inclusão de ácidos graxos reduzisse a taxa de digestão, ao mesmo tempo em que a taxa de passagem fosse aumentada. Este resultado, entretanto, não foi observado neste trabalho, cujas taxas de digestão e passagem da MS foram menores nos animais recebendo dieta acrescidas de fontes de AGI quando comparados à dieta CON.

A taxas de renovação da MS e FDN em novilhas alimentadas com a dieta CON foram maiores do que os animais alimentados com as dietas com inclusão de fontes de ácidos graxos insaturados. Neste estudo, os animais alimentados com fontes de AGI apresentaram redução de consumo, o que acarretou em menor taxa de passagem e, conseqüentemente, menor taxa de renovação ruminal e fluxo reticular. Segundo Allen (2000), a redução do consumo ocorre devido a presença de altos níveis de lipídeos que podem suprimir a digestão de fibra, provocando a distensão do rúmen-retículo e ativação de mecanorreceptores que promovem saciedade. Além disso, os lipídeos são estimuladores da colecistoquinina, hormônio responsável por promover saciedade e inibir o esvaziamento gástrico. Uma redução na taxa de passagem aumenta o período que o alimento permanece trato gastrointestinal, aumentando a digestibilidade total da MS e compensando os efeitos negativos dos AGI na fermentação ruminal (FREITAS JR et al. 2019). Isto corrobora com os resultados obtidos neste estudo, em que os animais alimentados com fontes de AGI apresentaram redução das taxas de digestão, renovação e passagem da MS e FDN. Entretanto, a digestibilidade total dos nutrientes, com exceção da FDN não apresentou diferença em relação à dieta CON. Logo, os nutrientes por passarem mais tempo no intestino, devido à redução da taxa de passagem dos alimentos com AGI, foram melhor digeridos pelas enzimas e absorvidos, compensando assim a redução da

utilização destes nutrientes pelos micro-organismos ruminais. Como a digestão da fibra acontece quase na sua totalidade no rúmen, a digestibilidade aparente total da FDN foi maior no grupo CON em comparação às demais dietas, seguindo o mesmo padrão que as taxas de digestão, passagem e renovação ruminal deste nutriente.

Por outro lado, Bettero et al. (2017) observaram redução na taxa de renovação ruminal em animais recebendo dieta CON em relação às dietas contendo fontes de ácidos graxos e tendência à redução das taxas de passagem da MS e FDN com adição de ácidos graxos. Esse efeito observado corrobora com os resultados de taxa de passagem deste estudo. A redução nas taxas de passagem e renovação da FDN nas dietas com fontes lipídicas sem que tenha havido aumento na taxa de digestão, sugere que a inclusão de ácidos graxos interferiu na degradação da fibra, reduzindo a eficiência de degradação, como proposto por Rodrigues et al. (2017).

Diante dos resultados obtidos é possível inferir que as fontes lipídicas prejudicaram a digestibilidade da fibra, provavelmente devido à redução da população microbiana ou em virtude do comprometimento na aderência da bactéria à fibra através do encapsulamento da partícula. Dessa forma, as taxas de digestão da MS e da fibra, bem como taxa de renovação e de passagem destas dietas foram prejudicadas.

5 CONCLUSÃO

A inclusão de quitosana não exerce efeito sobre o comportamento ingestivo, fluxo ruminal de nutrientes e dinâmica ruminal quando fornecidos em dietas para novilhas de corte. Entretanto, as fontes de ácidos graxos insaturados, independente da forma física, alteram a cinética ruminal dos nutrientes em dietas para bovinos pertencentes a esta categoria animal.

REFERÊNCIAS

AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; VARVIKKO, T. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **British Journal of Nutrition**, v.83, n.1, p.67-77, 2000.

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.7, p.1598-1624, 2000.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal Animal Science**, v.74, n.12, p.3063–3075. 1996.

ALLEN, M.S.; MERTENS, D.R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. **The Journal of Nutrition**. v. 118, n. 2, p. 261–270, 1988.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official Methods of Analysis, 19th ed. AOAC International, Washington, DC, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Official Methods of Analysis, 17th ed. AOAC International, Arlington, VA. 2000.

BARLETTA, R.V. BARLETTA; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; ARAÚJO, C. E.; VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F.; JESUS, E. Ferreira; MINGOTI, R. D.; BENEVENTO, B. C.; FREITAS JÚNIOR, J. E. de. Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 111-121, 2016b.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de Ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. 616 p.

BETTERO, V. P.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; ARAÚJO, C. E.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; TAKIYA, C. S.; ZANFERARI, F.; PAIVA, P. G.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 30-38, 2017.

BOECKAERT, C.; BOON, N.; ABDULSUDI, I. Z.; VERSTRAETE, W.; FIEVEZ, V. Accumulation of biohydrogenation intermediates and changes in the rumen protozoal population after micro algae feeding to dairy cattle. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 71, n. 1, p. 83, 2006.

BÜRGER P. J.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C. D.; SILVA, J. F. C. D.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Ingestive behavior in Holstein calves fed diets with different concentrate levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 1, p. 236-242, 2000.

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

CARVALHO G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R.; RIBEIRO, L. S. O.; CHAGAS, D. M. T. Ingestive behavior of Santa Inês sheep fed diets with cocoa meal. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, n.4. p. 660-665, 2008.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; BONNET, M.; ROUEL, J.; BOCQUIER, F. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, n. 1, p. 127-134, 2000.

FORBES, J. M. Voluntary Food Intake and Diet Selection in Farm Animals. 2Ed., 2007.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; BETTERO, V. P.; ZANFERARI, F.; DEL VALLE, T. A.; PAIVA, P. G.; DE JESUS, E. F. , TAKYIA, C. S.; LEITE, L. C.; DIAS, M.; RENNÓ, F. P. Ruminal fatty acid outflow in dry cows fed different sources of linoleic acid: reticulum and omasum as alternative sampling sites to abomasum. **Archives of Animal Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 171-193, 2019.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; TAKIYA C. S.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; VENTURELLI, B. C.; VENDRAMINI, T. H. A.; MINGOTI, R. D.; CALOMENI, G. D.; GARDINAL, R.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; JESUS, E. F.; OLIVEIRA, M. D. S.; RENNÓ, F. P. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows

fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids.

Journal of Dairy Science, v. 101, n. 9, p. 7881-7891, 2018.

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R. D.; PAIVA, P. G. D.; GANDRA, É. R. D. S.; ARAKI, H. M. C. Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 3, p. 130-137, 2016a.

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

HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **Bulletin 339** Gainesville, University of Florida, p.1-25, 2000.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Ruminant and Total Tract Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n.3, p.1092–1103, 2006.

HUHTANEN, P.; BROTZ, P. G.; SATTER, L. D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.

KRIZSAN, S. J.; AHVENJÄRVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G. A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.3, p.1138-1147, 2010.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 347-358, 1996.

MISSIO, R. L.; CARNEIRO, M. S.; PEREIRA, E. S.; SOUTO, J. S.; MORAIS NETO, L. B.; REGADA FILHO, J. G. L.; ALENCAR, C. E. M. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1571-1578, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 8 ed. Washington, D. C., 234p. 2016.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed, Washinton, D. C., National Academic Press, 381p. 2001.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.1, p.184–194, 2003.

POLLI, V. A.; RESTLE, J.; SENNA, D. B. D.; ALMEIDA, S. D. Aspectos relativos à ruminacão de bovinos e bubalinos em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 25, p. 987-993, 1996.

RABIEE, A. R.; BREINHILD, K.; SCOTT, W.; GOLDBERGER, H. M.; BLOCK, E.; LEAN, I. J. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and metaregression. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n.6, p. 3225–3247, 2012.

RODRIGUES, J. P. P.; PAULA, R. M.; RENNÓ, L. N.; FONTES, M. M. S.; MACHADO, A. F.; VALADARES FILHO, S. C.; HUHTANEN, P.; MARCONDES, M. I. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 6, p. 4435-4447, 2017.

ROTTA, P. P.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; COSTA E SILVA, L. F.; PAULINO, M. F.; MARCONDES; M. I.; LOBO, A. A. G.; VILLADIEGO, F. A. C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 7, p. 2996-3006, 2014.

SILVA, R.R.; SILVA, F. F.; CARVALHO, G. G. P.; FRANCO, I. L.; VELOSO, C. M.; CHAVES, M. A.; BONOMO, P.; PRADO, I. N.; ALMEIDA, V. S. Comportamento ingestivo de novilhas mestiças de holandês x zebu confinadas. **Archivos de Zootecnia**, v.54, n. 205, p.75-85, 2005.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets, II, Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**. v. 70, n.11, p.3562-3577, 1992.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

ZAKLOUTA, M.; HILALI, M.; NEFZAOU, A.; HAYLANI, M. **Animal Nutrition and Product Quality Laboratory Manual**. ICARDA, Aleppo, Syria. 2011. 92p.