

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**QUITOSANA EM DIETAS PARA VACAS JERSEY ALIMENTADAS COM FONTES
DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS**

OLGA CEDRO DE MENEZES

SALVADOR - BAHIA
DEZEMBRO – 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**QUITOSANA EM DIETAS PARA VACAS JERSEY ALIMENTADAS COM FONTES
DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS**

OLGA CEDRO DE MENEZES

Zootecnista

SALVADOR - BAHIA
DEZEMBRO - 2023

OLGA CEDRO DE MENEZES

**QUITOSANA EM DIETAS PARA VACAS JERSEY ALIMENTADAS COM
FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS**

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 Animal

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

**SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO– 2023**

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Menezes, Olga Cedro de.

Quitosana em dietas para vacas jersey alimentadas com fontes de ácidos graxos insaturados /
Olga Cedro de Menezes. - 2023.
92 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, 2023.

1. Zootecnia. 2. Nutrição animal. 3. Bovinos - Alimentação e ração. 4. Alimentos - Aditivos. 5.
Quitosana. 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

QUITOSANA EM DIETAS PARA VACAS JERSEY ALIMENTADAS COM FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

Olga Cedro de Menezes

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

Salvador, 08 de dezembro de 2023

Comissão examinadora:



Dr. José Esler de Freitas Júnior
UFBA
Orientador / Presidente

Documento assinado digitalmente



GUILHERME RIBEIRO ALVES
Data: 12/12/2023 13:16:27-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Guilherme Ribeiro Alves
UFBA

Documento assinado digitalmente



LAUDI CUNHA LEITE
Data: 12/12/2023 10:35:46-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Laudi Cunha Leite
UFRB

Documento assinado digitalmente



FABIANO FERREIRA DA SILVA
Data: 11/12/2023 11:54:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Fabiano Ferreira da Silva
UESB

Documento assinado digitalmente



ADRIANA REGINA BAGALDO
Data: 11/12/2023 09:41:47-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dra. Adriana Regina Bagaldo
UFRB

“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS por todas as oportunidades concedidas a mim, pela força e tranquilidade nos momentos de fraqueza e dificuldades, os quais foram muitos. A presente tese não poderia chegar a bom porto também sem a preciosa ajuda de várias pessoas.

À minha mãe, Eva Cedro, pelo amor, carinho e atenção que me deu.

De forma incondicional a meu namorado Vinicius Carvalho que sempre esteve presente em todos os momentos, pelo amor, pela presença constante, incentivo e paciência, me fazendo acreditar que posso mais do que imagino.

A minha família, que mesmo distante se fez presente em vários momentos. E a minha mais nova família que esteve apoiando sempre, meus sogros Magali Carvalho e Cesar Carvalho, meus cunhados Vitor Carvalho e Janderson, e os demais que estiveram presentes.

Aos meus grupos de amigos, os quais cada um participou de uma forma, apoiando, bebendo, brincando, chorando, reclamando.

Ao Professor José Esler pela orientação e oportunidade de realizar esse doutorado. Ao Professor Ricardo Guerra pela sua atenção e toda ajuda proporcionada.

A todos da Fazenda Experimental de Entre Rios, pessoas pelas quais tenho um grande apreço e foram fundamentais para que meu trabalho pudesse ser desenvolvido e minha permanência na fazenda fosse mais agradável. Obrigada pelos cuidados, pelas conversas e pela companhia.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFBA pelo ensino, por todo conhecimento *transmitido*.

A Universidade Federal da Bahia pela disponibilidade dos setores de Fazenda experimental de Entre Rios e laboratórios do EMEVZ.

Por último, mas não menos importante, a todos meus amigos que ajudaram no decorrer desse doutorado, Victor Hugo, Quésia Costa, Camilla Rezende, Maria Leonor, Sarah Nogueira, Layse Gordiano, Maria Clara, Murilo, cada um de vocês foi importante nessa caminhada.

Á CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos meu muitíssimo obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

OLGA CEDRO DE MENEZES, filha de Eva Cedro de Souza e Tilemon Jorge T. de Menezes, nasceu em Feira de Santana, estado da Bahia, no dia 27 de novembro de 1993. Em 2012, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, finalizando-o no ano de 2017. Em 2018 iniciou e finalizou a Especialização em Docência no Ensino Superior, pela Uniasselvi. No mesmo ano, ingressou no Programa Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB, sob a orientação da professora Dra. Adriana Bagaldo, defendendo a dissertação no mês de março de 2020. Em 2020, 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 2023 submeteu-se à banca examinadora para defesa da tese e conclusão do Doutorado.

REVISÃO DE LITERATURA

Página

Quadro 1.	Lista aditivos autorizados pelo MAPA para uso na alimentação animal no Brasil.	18
Tabela 1.	Principais achados científicos de estudos realizados entre os anos de 2016 a 2023 que avaliaram os efeitos da inclusão de quitosana em dietas para bovinos de diferentes categorias animais	26
_____ 2.	Principais achados científicos de estudos realizados entre os anos de 2015 a 2021 que avaliaram os efeitos da inclusão de diferentes formas de ácidos graxos poli-insaturados em dietas para bovinos de diferentes categorias animais.	34

Capítulo 1

Tabela 1.	Composição bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais, com base na matéria seca	50
_____ 2.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais	51
_____ 3.	Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais	52
_____ 4.	Consumo de matéria seca e nutrientes em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	63
_____ 5.	Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	64
_____ 6.	Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	65
_____ 7.	Balanço de nitrogênio (N) em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	67
_____ 8.	Concentrações de derivados de purina e síntese de proteína microbiana em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	68
_____ 9.	Concentrações de metabólitos sanguíneos em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	69
_____ 10.	Produção e composição do leite em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	70
_____ 11.	Concentrações de ácidos graxos do leite em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	71
_____ 12.	Balanço de energia em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	72
_____ 13.	Caracterização ruminal e fluxo omasal de vacas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	73

_____14.	Dinâmica ruminal de vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana	74
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

		Página
Figura 1.	Vias do metabolismo ruminal de 18:3n-3 (baseado em Ferlay et al., 2017). As setas com linhas sólidas destacam a principal via de biohidrogenação, e as setas com linhas tracejadas descrevem a formação de intermediários menores, sob condições fisiologicamente normais no rúmen.	21
_____ 2.	Estrutura química da quitina e da quitosana.	22
_____ 3.	Diagrama esquemático das fontes de quitina e quitosana e seu modo de ação em ruminantes e qualidade da silagem. Fonte: Adaptado de Shah et al (2022).	30

Capítulo 1

Figura 1.	Valores de pH observados na digesta ruminal em vacas Jersey em lactação alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana.	66
_____ 2.	Concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃ mg/dL) na digesta ruminal de Jersey em lactação alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana	66

LISTA DE ABREVIATURAS

AG -	Ácidos Graxos
AGCC -	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AGI	Ácido Graxos Insaturados
AGPI	Ácidos Graxos Poli-insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AGV	Ácidos graxos voláteis
AOAC -	Association of Official Analytical Chemists
CA-	Caroço de algodão
CD -	Coeficiente de Digestibilidade
CED -	Consumo energia digestível
CEL -	Consumo energia líquida
CMS -	Consumo de matéria seca
CH ₄ -	Metano
CLA -	Ácido Linoleico Conjugado
CNF -	Carboidratos Não-Fibrosos
CNFd -	Carboidratos Não-Fibrosos Digestíveis
CON -	Controle
CT -	Carboidratos Totais
EL -	Energia Líquida
EE -	Extrato Etéreo
EEd -	Extrato Etéreo Digestível
ELL -	Energia Líquida de Lactação
EST-	Extrato seco total
ESD-	Extrato seco desengordurado
ECC-	Escore de condição corporal
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
GMD-	Ganho médio diário
GS-	Grão de soja
H ⁺	Hidrogênio
Kp-	Taxa de passagem
LCE-	Leite corrigido para energia
LIN-	Linhaça
MAPA-	Ministério da Agricultura e Pecuária
MM -	Matéria Mineral
MO -	Matéria Orgânica
MON-	Monesina
MS -	Matéria Seca
N -	Nitrogênio
Na+	Sódio cátion
NDT -	Nutrientes Digestíveis Totais
NEL-	Energia líquida de lactação
NIDA -	Nitrogênio Indigestível em Detergente Ácido

NIDN -	Nitrogênio Indigestível em Detergente Neutro
N-NH ₃ -	Nitrogênio Amoniacal
NRC -	National Research Council
OL -	Óleo de linhaça
OE -	Óleo essencial
OP-	Óleo de palma protegido
OS -	Óleo de Soja
PB -	Proteína Bruta
PBd -	Proteína Bruta Digestível
PC	Peso Corporal
PLg-	Leite corrigido para gordura
pH -	Potencial Hidrogeniônico
QT -	Quitosana
Rpm -	Rotações por minuto
SCAG -	Sais de Cálcio de Ácidos Graxos
TMR -	Ração completa

SUMÁRIO

Página

1	INTRODUÇÃO	15
2	HIPÓTESE.....	17
3	OBJETIVOS	17
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.1	Aditivos na alimentação de ruminantes e seus efeitos no metabolismo ruminal.....	17
4.2	Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes.....	21
4.3	Ácidos graxos insaturados na alimentação de ruminantes.....	29
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

Efeitos da associação de quitosana com fontes de ácidos graxos insaturados sobre o consumo, digestibilidade, fermentação ruminal e metabolismo em vacas leiteiras

	RESUMO.....	46
	ABSTRACT	47
1.	INTRODUÇÃO	48
2.	MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1	Comitê de ética e localização.....	49
2.2	Animais, delineamento experimental e dietas	49
2.3	Coletas de amostras e análises laboratoriais	53
2.4	Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total	54
2.5	Fermentação ruminal	55
2.6	Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana.....	56
2.7	Metabólitos sanguíneos.....	57
2.8	Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite	58
2.9	Balanço de energia.....	59
2.10	Fluxo omasal de nutrientes	59
2.11	Dinâmica Ruminal	60
2.12	Indicadores para reconstituição da digesta verdadeira.....	61

2.13 Análises estatísticas	61
3. RESULTADOS	62
3.1 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total	62
3.2 Fermentação ruminal	64
3.3 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana.....	67
3.4 Metabólitos sanguíneos.....	68
3.5 Produção, composição e ácidos graxos do leite.....	69
3.6 Balanço de energia.....	72
3.7 Caracterização ruminal e fluxo omasal.....	72
3.8 Dinâmica ruminal	73
4. DISCUSSÃO	74
5 CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

1 INTRODUÇÃO

As rápidas transformações que tem ocorrido no cenário de produção de leite mundial fazem necessárias atualizações nutricionais, para adequação a exigência dos animais. Esse comportamento é justificado pelo fato das vacas leiteiras de alta produção apresentarem necessidades energéticas relativamente altas que, muitas vezes, excedem a capacidade de ingestão de nutrientes e, assim, limitam sua produção de leite (ZANFERARI et al., 2018).

Conforme ressaltado por Vandehaar et al. (2016), essas melhorias na produtividade são explicadas em grande parte pelo aumento do potencial genético dos animais que, aumentam as demandas nutricionais para atingir a produção. Dessa forma, na nutrição de ruminantes, muitos tipos de aditivos alimentares têm potencial para serem utilizados de modo a promover melhorias no desempenho produtivo, manutenção da boa saúde e, a condição metabólica dos animais de criação (SHAH et al., 2022), em virtude da manipulação do ecossistema ruminal.

Como mencionado anteriormente, a manipulação do ecossistema ruminal pode ser realizada através do uso de aditivos, a exemplo dos antibióticos ionóforos, que se apresentaram como alternativas promissoras desde a década de 70 (NRC, 2001). No rúmen eles atuam em nível de membrana celular das bactérias, alterando seu transporte de íons (RUSSEL E HOULIHAN, 2003). Contudo, o uso enfrenta uma aceitação reduzida devido aos possíveis resíduos em produtos de origem animal e, em virtude do desenvolvimento de cepas resistentes de bactérias (SANTOS et al., 2019). A União Europeia em janeiro do ano de 2006 (diretiva 1831/2003/CEE, COMISSÃO EUROPEIA, 2003), proibiu a utilização de ionóforos na alimentação animal, assim, essa mesma ação fosse utilizada nos países de produção animal.

Desse jeito, segundo descrito por Rennó et al. (2011) o uso de aditivos não antibióticos, passou a ser objeto de pesquisa, como alternativa aos ionóforos. Dentre estas opções de aditivos é possível destacar a quitosana, a qual apresenta grandes perspectivas em função de suas características semelhantes aos dos ionóforos. É possível também, mencionar a utilização de lipídios em dietas para ruminantes, pois possuem potencial de promover modificação da microbiota ruminal. Estudos realizados por Jenkins (1993), os lipídios além de aumentar a densidade energética das dietas, reduz o incremento calórico e influencia o crescimento de microrganismos, alterando o processo de biohidrogenação.

Estudos realizados por Kong et al. (2010) mostram que a quitosana é um biopolímero atóxico e biodegradável, a qual tem aplicação em várias áreas, como medicina e preservação de

alimentos, principalmente por causa de suas propriedades antimicrobianas. Embora o mecanismo de ação da quitosana ainda não tenha sido totalmente elucidado, algumas pesquisas como Helander et al. (2001) e Kong et al. (2010) mencionaram a teoria de permeabilidade celular devido as interações entre a quitosana policatiônica e as cargas eletronegativas na célula bacteriana.

Alguns estudos envolvendo bovinos leiteiros e de corte foram conduzidos ao longo dos anos (ARAÚJO et al., 2015; PAIVA et al., 2016; HARYATI et al., 2019; GORDIANO et al., 2023) e observaram que a inclusão de quitosana promoveu mudanças nos parâmetros de fermentação ruminal, modificações no padrão de produção de ácidos graxos voláteis (AGV) de ácido acético para ácido propiônico, diminuindo assim a proporção de ácido acético, além de ter potencial para alterar a fermentação ruminal e afetar a produção de metano (CH₄).

Além da inclusão da quitosana, a suplementação lipídica com fontes de ácidos graxos insaturados nas formas protegidas, sementes e não-protetidas como os óleos, é outra ferramenta em dietas para bovinos com o objetivo de aumentar a produtividade dos animais através do incremento da densidade energética das dietas. Ao longo dos anos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar fontes lipídicas em dietas para vacas em lactação (FREITAS JR. et al., 2010; RENNO et al., 2013; FREITAS JR. et al., 2014; GANDRA et al., 2014; BARLETTA et al., 2016; MINGOTI et al., 2016; BETTERO et al., 2017; FREITAS JR. et al., 2018).

Diferentes respostas no consumo de matéria seca (CMS) e digestibilidade de nutrientes às fontes de gordura suplementar em dietas de vacas leiteiras são observadas, especialmente quando diferentes formas de fornecimento de gordura são comparadas (NRC, 2001). Outras pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de avaliar o impacto da associação entre este aditivo e fontes de AGI nos parâmetros ruminais ou desempenho produtivo dos animais (GANDRA et al., 2016; DEL VALLE et al., 2017; HARAKI et al., 2018; ZANFERARI et al., 2018). Dessa forma, a partir da associação entre a quitosana e os ácidos graxos insaturados foram verificadas mudanças nos parâmetros de fermentação ruminal em vacas, como o encontrado por Zanferari et al. (2018).

Diante deste cenário, objetivou-se com o presente estudo avaliar a ação da quitosana associada a diferentes formas e fontes de ácidos graxos insaturados no desempenho, produção e perfil de ácidos graxos do leite, parâmetros digestivos e cinética ruminal de vacas Jersey em lactação.

2 HIPÓTESE

A inclusão de quitosana em associação a diferentes fontes e formas de ácidos graxos insaturados, em dietas para vacas Jersey em lactação altera o perfil de ácidos graxos do leite, aumenta a eficiência energética ruminal sem modificar a cinética ruminal, o consumo e digestibilidade de nutrientes, melhorando a utilização dos nutrientes e diminuindo as perdas energéticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão ou não da quitosana e de fontes de ácidos graxos insaturados em dietas para vacas Jersey em lactação.

3.2 Objetivos específicos

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão da quitosana em associação ou não às fontes de ácidos graxos insaturados nas variáveis de:

- ✓ Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes do trato total
- ✓ Fermentação ruminal
- ✓ Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana
- ✓ Metabólitos sanguíneos
- ✓ Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite
- ✓ Balanço de energia
- ✓ Caracterização ruminal e fluxo omasal de nutrientes
- ✓ Dinâmica ruminal

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Aditivos na alimentação de ruminantes e seus efeitos no metabolismo ruminal

Na produção animal, os aditivos alimentares são comumente utilizados para melhorar a saúde e a produtividade dos animais, sendo eles incorporados durante a formulação da ração (SWIATKIEWICZ et al., 2015). Diante do avanço das pesquisas voltadas para a nutrição de

precisão, foram descobertas uma gama de aditivos que respondem positivamente sobre as características do alimento ou diretamente no desempenho animal, sendo seu uso permitido desde que não prejudiquem o valor nutritivo da ração (MAPA, 2015). Dessa forma, de acordo com o MAPA (2004) os aditivos podem ser classificados de diversas formas e agrupados na alimentação animal em cinco categorias referentes à sua função:

Quadro 1. Lista aditivos autorizados pelo MAPA para uso na alimentação animal no Brasil

CLASSIFICAÇÃO	TIPOS
Tecnológicos	conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, adsorventes, aglomerantes, antiaglomerantes, antiumectantes, umectantes, gelificantes e espessantes.
Sensoriais	corantes, flavorizantes, aromatizantes e palatibilizantes. aditivos nutricionais. vitaminas, micro minerais, aminoácidos e ureia.
Zootécnicos botânicos	Ervas, especiarias, extratos vegetais e óleos essenciais. Melhoradores da digestibilidade: enzimas e ácidos orgânicos. Equilibradores de floraintestinal: probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, nutracêuticos.
Anticoccidianos ou coccidiostáticos (de natureza química)	Ionoforos: monensina, narasina, decoquinato, diclazuril, robenidina, halofuginona, amprólio + etopabato (somente associados), clopidol, clopidol + metilbenzoquato (somente nesta combinação), nicarbazina.

Para melhor compreender a relevância do uso dos aditivos na dieta de ruminantes, todo o mecanismo de aproveitamento da ração pelo animal deve ser estudado, em especial sua digestibilidade. Uma vez que se acredita que a maior geração de perda de nutrientes na digestão dos ruminantes acontece no rúmen-retículo, sendo o objetivo de todo pesquisador aprimorar estudos sobre a degradação do alimento, mediante a minimização, eliminação ou alteração dos

processos ineficientes (DANIELI e SHOGOR, 2020). Dessa forma, a utilização de alguns aditivos alimentares age de forma a proporcionar o aumento da eficiência na utilização de alimentos, melhorar a fermentação, e modular a população ruminal (COBELLIS et al., 2016).

Entre os aditivos mais utilizados na produção intensiva de bovinos estão os ionóforos, que compreendem um tipo de antibiótico, produzido principalmente por linhagens de bactérias do gênero *Streptomyces* (COSTA, 2015). Os ionóforos são antibióticos que atuam nos microrganismos ruminais, reduzindo a quantidade de bactérias metanogênicas e celulolíticas, as quais produzem CO₂ e hidrogênio (H₂)(SANTANA NETO et al., 2012). Eles agem inibindo as bactérias gram-positivas que geram ácido acético, láctico, butírico e H₂ (GONÇALVES NETO e PEREIRA, 2010).

Essas ações dos ionóforos ocorrem devido à sensibilidade dos microrganismos à translocação do gradiente de concentração de íons através da membrana celular. No ambiente ruminal, o sódio (Na⁺), é o cátion extracelular predominante, enquanto o cátion potássio (K⁺) é predominante no meio intracelular dos microrganismos (RUSSEL e STROBEL, 1989) e a concentração tende a ser alterada na presença da monensina.

No Brasil apenas poucos ionóforos possuem o registro com a devida autorização do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) para sua utilização: a monensina sódica, lasalocida, narasina e salinomycinásódica, sendo a monensina a mais estudada e utilizada no território nacional como promotor de crescimento para animais. Porém, o amplo uso de antibióticos para a saúde humana e animal tem sido amplamente desencorajado devido a seus efeitos residuais em produtos e resíduos de origem animal, associado ao desenvolvimento de cepas microbianas patogênicas resistentes e contaminação ambiental (FOUNOU et al., 2016).

Diante deste cenário, após 30 anos de uso de antibióticos ionóforos, a União Européia adotou o princípio da prevenção e proibiu sua aplicação na alimentação animal a partir do final de 2005, pensando em reduzir os riscos de resistência antimicrobiana causados pelo uso prolongado desse aditivo (RATCLIFF, 2003). Com isso, cada vez mais são realizados estudos com diferentes substâncias a fim de promover melhoras na dieta animal, sem que haja resistência e efeitos residuais.

Os lipídios, são uma dessas substâncias, as quais podem ser utilizados em dietas para ruminantes, como aditivos alimentares, variando em relação à composição e disponibilidade de ácidos graxos. Dentre estas opções, é possível mencionar a inclusão de óleos vegetais, sementes de oleaginosas e sais de cálcio de ácidos graxos que se apresentam na forma de fonte de gordura

não-protegida, parcialmente protegidas e totalmente protegidas da ação microbiana, respectivamente (SANTANA et al., 2017).

De acordo com estudos de Gandra et al. (2016) e Zanferari et al. (2018), a utilização de lipídios como aditivos ocorre principalmente com animais em lactação e alta produtividade. Portanto, os benefícios são atribuídos pela grande disponibilidade de fontes de gordura insaturada, onde ocorre o aumento da eficiência do uso da energia bruta (aumento da ingestão de energia líquida quando a ingestão de MS é reduzida). Assim, segundo explicam Palmquist e Mattos (2006) quando se adicionam fontes de gorduras na dieta, ocorre a substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis por lipídios, possibilitando o melhor consumo de forragem e fermentação ruminal (partição de nutrientes para secreção do leite e qualidade da carne).

Buccioni et al. (2012) explicam que os lipídios nos ruminantes passam por processos que modificam sua composição antes de serem absorvidos no intestino, como a lipólise e a biohidrogenação. Estes processos ocorrem em nível ruminal e são realizados por bactérias específicas. Essas bactérias são divididas em dois grupos. O primeiro, apresenta como principais bactérias constituintes a *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* e *R. flavifaciens*, que formam como intermediário, o ácido rumênico, e como produto final, o ácido vacênico. Já o segundo grupo, é composto pelas bactérias *Fusocillus ssp.* e *B. proteoclasticus*, que convertem os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) a ácido esteárico (BUCCIONI et al., 2012). As espécies de bactérias ruminais mais ativas envolvidas na biohidrogenação do C18 pertencem ao grupo "*Butyrivibrio*", onde todas as bactérias formam o ácido linoleico conjugado (CLA) a partir de ácido linoleico, enquanto que apenas *Clostridium proteoclasticum* é capaz de converter C18:1 *trans*-11 a C18:0 (KEMP et al., 1975; POLÁN et al., 1964). Posteriormente, o *C. proteoclasticum* foi reclassificado como *Butyrivibrio proteoclasticus* (MOON et al., 2008).

Outra substância que vem sendo estudada como aditivo alimentar em dietas para ruminantes é a quitosana, uma vez que estudos realizados por GOIRI et al., (2009, 2010) detectaram que a quitosana reduz o processo de biohidrogenação *in vitro* e aumenta a proporção de ácidos graxos, além de ser um agente antimicrobiano natural, e modificar os intermediários da biohidrogenação de duas fontes de gordura. Assim, com a proibição constante do uso de antibióticos como promotores de crescimento, a busca por produtos alternativos que desempenhem a mesma ação sobre a microbiota do rúmen cresce cada vez mais

(VENDRAMINI et al., 2016), dessa maneira, a quitosana se destaca por ser um produto natural, renovável e biodegradável (KONG et al., 2010).

Muitas pesquisas estão sendo conduzidas para avaliação do uso da quitosana em substituição aos ionóforos na dieta de animais (PAIVA et al., 2016). O efeito da quitosana com finalidade antimicrobiana foi validada em 1979 por Allan e Hardwiger (PEREIRA, 2017). Hoje há diversos estudos que comprovam o efeito modulador da quitosana na fermentação ruminal. Santos (2018) cita que a quitosana seleciona as bactérias gram positivas e gram negativas. Já Costa et al. (2017) afirmam que a adição de quitosana na dieta de bovinos favorece a saúde ruminal e melhora a conversão alimentar.

4.2 Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes

A quitosana (QT) é o segundo biopolímero natural mais abundante na Terra depois da celulose e é comumente encontrada nas conchas de crustáceos marinhos e paredes celulares de fungos (HARAHAP et al., 2022). Ela é obtida a partir da deacetilação da quitina (Figura 2), presente no exoesqueleto de crustáceos como caranguejos e camarões (HARAHAP et al., 2020). O que difere a quitina e a quitosana é a quantidade de 2-acetamino-2-desoxi-D-glicopirranose (GlcNAc) e 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose (GlcN), que predominam em ambos respectivamente (RENNÓ et al., 2011). A quitina pode formar quitosana pela ação da enzima quitina deacetilase e, posteriormente, por ação da quitinase que forma quitosanaoligossacarídeos e, finalmente, a D-glicosamina (MATSUI, 2007).

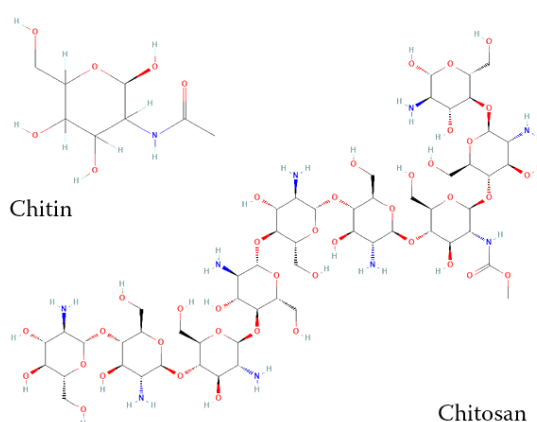


Figura 1. Estrutura química da quitina e da quitosana. Fonte: Anggraeni et al. (2022)

Para diferenciar quitosana de quitina, o grau de desacetilação (GD) também tem sido usado. Quando esse grau excede um limite predeterminado (como 50%), é referido como quitosana

(CHENG et al., 2020). A quitosana tem recebido atenção devido ao seu potencial de aplicação em humanos, na medicina veterinária (Figura 3) e na conservação de alimentos, notadamente por suas propriedades contra bactérias, fungos e leveduras (KONG et al., 2010). Ele foi isolado pela primeira vez em 1811, pelo francês Henri Braconnot, extraída de fungos superiores e por isso denominada “fungina” (SKAUGRUD e SARGENT, 1990).

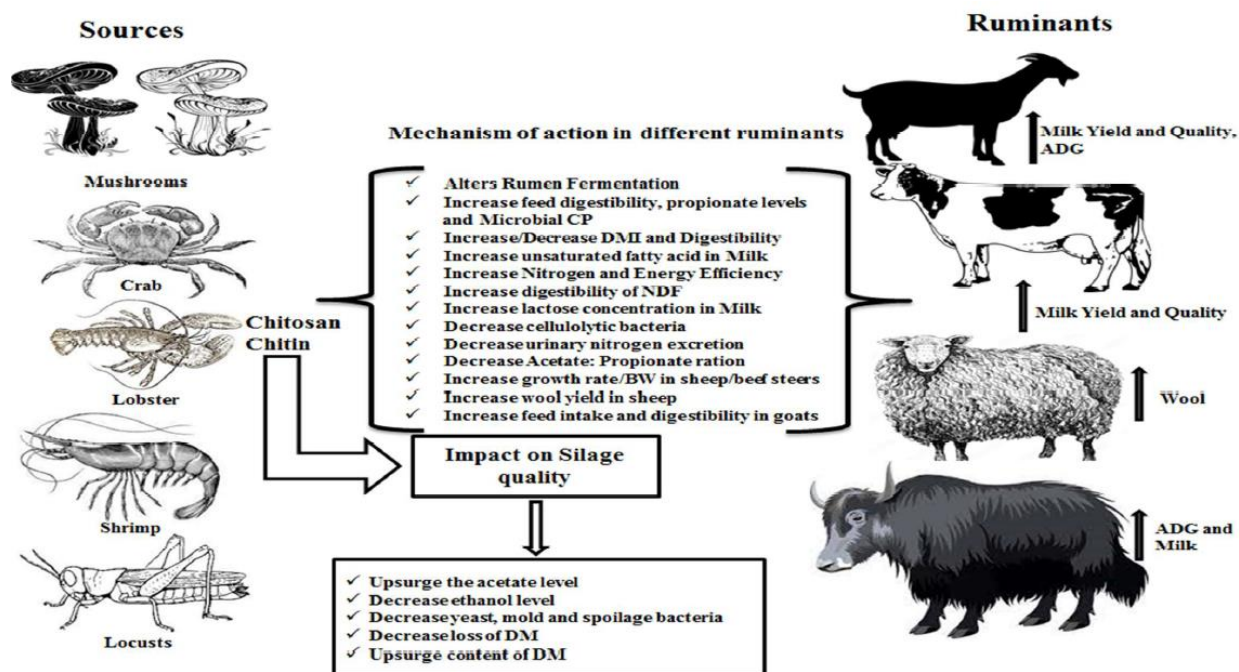


Figura 2. Diagrama esquemático das fontes de quitina e quitosana e seu modo de ação em ruminantes e qualidade da silagem. Fonte: Adaptado de Shah et al (2022).

Os pesquisadores Allan e Hardwinger, no ano de 1979 propuseram pela primeira vez sobre o potencial da atividade antibacteriana da quitosana, eles testaram os efeitos da quitosana e quitina sobre diferentes gêneros de fungos, apresentando a quitosana um efeito mais sensível a grande maioria dos fungos utilizados. Além disso, Tang et al. (2010), afirmaram que ela possui amplo espectro de ação com doses mínimas inibitórias contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. A atuação em bactérias do rúmen ocorre por meio de uma interação eletrostática com os elementos aniônicos da parede celular bacteriana. Ou seja, ela interage com a superfície lipopolissacarídea das bactérias gram-negativas e da mesma forma com a fração peptideoglicana das bactérias gram-positivas, ambas aniônicas. Contudo, determinados estudos apontam que bactérias gram-positivas são mais susceptíveis a quitosana do que as bactérias gram-negativas (WANG, 1992; NO et al., 2002; SENEL et al., 2004; KUMAR et al., 2005).

Goy et al. (2016) testaram as propriedades antibacterianas da quitosana usando bactérias gram-negativas e gram-positivas, descobriram que a adição de 1 g/l de quitosana era a dosagem mais eficaz contra bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram negativas (*Escherichia. coli*).

Embora a atividade antibacteriana da quitosana não seja totalmente compreendida, estudos realizados por RABEA et al., (2003); GOY et al., (2016); VILAR et al., (2016) geram uma hipótese a respeito da atividade antibacteriana. Essa atividade possivelmente é ocasionada por interações entre o biopolímero quitosana e a permeabilidade celular (pH menor que 6,5), quando as paredes celulares microbianas carregadas negativamente liberam proteínas e outros componentes intracelulares. Rabea et al. (2003) explicam também que a quitosana serve como agente quelante, ligando-se a traços de metais e inibindo a formação de toxinas e o crescimento microbiano.

Segundo Goy et al. (2016) a quitosana diminui a atividade antibacteriana de acordo com o aumento das suas concentrações. Este comportamento é explicado pela configuração das cadeias poliméricas espacialmente e concentrações mais baixas de quitosana que resultam em uma distribuição molecular mais homogênea no solvente, com baixo número de contatos entre as cadeias próximas, aumentando os locais carregados disponíveis. Essa interação ocorre em virtude da quitosana poder causar vazamento de componentes intracelulares. Dessa forma, isso consequentemente promove a morte celular devido a quitosana carregada positivamente se ligar à superfície carregada negativamente das bactérias, alterando assim a permeabilidade da membrana (hidrólise de peptidoglicano)(HELANDER et al., 2001).

Além disso, quando ligada à membrana, a quitosana afeta as vias de geração de energia, provavelmente devido ao comprometimento da organização funcional da cadeia de transporte de elétrons (RAAFAT et al., 2009). Outra explicação para a ação da quitosana é a presença de grupos ativos diferentes. Dentre estes ativos é possível mencionar dois deles, o grupo hidroxil, sendo primário e secundário e, o grupo amino presente nas posições C-2, C-3 e C-6. O grupo amina é de suma importância, pois possui relação com a solubilidade da quitosana, onde uma característica muito importante é o grau de desacetilação, pois atribui o rótulo de polímero quitínico ou quitosânico (TORRES et al., 2009). Assim, de acordo com esses mesmos autores, quanto maior o grau de desacetilação maior será a solubilidade em meio aquoso, conferindo carga positiva para quitosana o que melhora consequentemente as reações com cargas negativas e polímeros aniônicos.

A quitosana foi estudada como uma alternativa de fonte de nitrogênio para animais ruminantes, entretanto, Fadel El-Seed et al. (2003) relataram que a quitosana não é degradada no rúmen, indicando possível ação protetora contra a ação ruminal. Assim, possibilita a digestão no intestino delgado, conforme demonstrado por Hirano et al. (1990), em aves e coelhos. Portanto, a quitosana e seus derivados têm sido usados como aditivo alimentar devido às importantes qualidades funcionais intrínsecas, como atividades antibacterianas e antiinflamatórias (ABIDIN et al., 2020). Dessa maneira, a quitosana também apresenta ser moduladora da fermentação ruminal com finalidade de otimização da eficiência alimentar em ruminantes.

Os primeiros e principais estudos realizados para modulação da fermentação ruminal foi realizado por Goiri et al. (2009) os quais propuseram o uso da quitosana como modulador da fermentação ruminal e dos processos digestivos. Além disso Goiri et al. (2010a) mostraram que a quitosana inibe a biohidrogenação *in vitro* e aumenta a concentração de ácidos graxos insaturados no ensaio Rusitec®, enquanto em seu outro estudo Goiri et al. (2010b) verificaram que o propionato ruminal aumentou, o amônio diminuiu e nenhum efeito no consumo e na digestibilidade total do trato em ovinos.

Além disso, modificações na fermentação ruminal causada pela quitosana melhora a digestibilidade aparente total de nutrientes e da matéria seca (RENNÓ et al., 2011) e não afeta o consumo animal e a qualidade da produção, conforme estudo de Vendramini et al. (2016).

Em estudos realizados por Haryati et al. (2019), foi descoberto que a quitosana pode ter uma influência mecânica semelhante à monensina, que está associada a mudanças nos perfis de ácidos graxos voláteis (AGV), reduzindo principalmente o acetato e melhorando o propionato, além de reduzir a emissão de metano (CH₄). Além disso, Zanferari et al. (2018) explicaram que a quitosana pode inibir a permeabilidade das paredes celulares das bactérias metanogênicas e a interrupção direta do crescimento metanogênico. Após atingir a parede celular bacteriana, a quitosana age na membrana celular (TANTALA et al., 2019). A intensidade da ação antimicrobiana da quitosana depende do ponto de desacetilação (VERLEE et al., 2017). A redução de CH₄ está ligada à quantidade de desacetilação presente na quitosana, que tem o potencial de alterar a permeabilidade das paredes celulares de *archaea metanogênicas* (HARAHAP et al. 2020). De acordo com estudos realizados por Paiva et al. (2016), em vacas leiteiras, a quitosana pode ser usada para alterar a fermentação ruminal em período de lactação,

aumentando o propionato sem alterar as concentrações de acetato, NH_3 e o pH ruminal, reduzindo a necessidade de uso de antibióticos ionóforos.

Dessa maneira, a seguir (Tabela 1) são apresentados os principais resultados de estudos desenvolvidos ao longo dos últimos anos avaliando os efeitos da inclusão de quitosana em dietas para bovinos, em diferentes categorias animais.

Tabela 1 - Principais achados científicos de estudos realizados entre os anos de 2016 a 2023 que avaliaram os efeitos da inclusão de quitosana em dietas para bovinos de diferentes categorias animais

Autores	Categoria Animal	Doses avaliadas	Principais Resultados
Gordiano et al. (2023)	Novilhas mestiças Simental x Zebu	Controle: sem suplementação; OS: controle + 25,3 g/kg de óleo de soja; GS: controle + 160 g/kg de soja crua inteira; OS+QT: óleo de soja + 14 g/kg de QT; GS + QT: soja crua inteira + 14 g/kg de QT.	O fornecimento de QT com dietas com OS e GS alterou a fermentação ruminal, produção de metano, balanço de nitrogênio, comportamento alimentar e dinâmica ruminal.
Kirwan et al. (2021)	Novilhas de corte Belga Blue x Holandês	0% e 10g kg/MS de QT.	A inclusão de quitosana não teve efeito sobre o CMS, contudo a digestibilidade total aparente da MS, MO e PB foram reduzidos.
Jimenez-Ocampo et al. (2021)	Novilhas mestiças <i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i>	Controle: sem aditivo; quitosana (1,5 g/kg e 3,0 g/kg MS); Naringina (1,5 g/kg 3,0 g/kg MS) Mistura de QUIT e NA (1,5 + 1,5 g/kg MS).	Os aditivos não afetaram a fermentação ruminal, consumo de MS e digestibilidade e emissões de metano entérico.
Dias et al. (2020)	Bufalos Murrah	Soja crua com e sem quitosana 150 mg/kg PC).	A quitosana modificou a: ingestão e digestibilidade aparente de extrato etéreo; ingestão de carboidratos não fibrosos (CNF) e digestibilidade ruminal aparente da matéria seca.
Mushawwir et al. (2020)	bovinos machos Pasundan	C0 = Grupo controle, sem quitosana irradiada (QI); C1 = 350 ppm de quitosana irradiada (QI); C2 = 400 ppm QI;	O QI reduz a atividade da glicogenólise e da glicólise, mas é acompanhado por melhorias nas condições bioquímicas das células hepáticas. Esta é uma condição favorável para o metabolismo dos

		C3 = 450 ppm QI; C4 = 500 ppm QI.	touros Pasundan, a fim de melhorar o seu crescimento e reprodução.
Seankamsorn et al. (2020)	Vacas Holandesas em lactação	Controle: 0%; Extrato QT: 2%; QT comercial: 2%.	<p>Não houve diferenças na ingestão de MS e de EE.</p> <p>A digestibilidade dos nutrientes não foi influenciada por suplementos de quitosana à base de extração ou comerciais.</p> <p>Não houve diferenças significativas na produção de leite, composição do leite ou nitrogênio ureico do leite.</p>
Magalhães et al. (2019)	Cordeiro Santa inês	Caroço de algodão (inteiro ou moído) Dois níveis de quitosana (0 e 136 mg/kg PC).	<p>A digestibilidade aparente de matéria seca e matéria orgânica do extrato etéreo foi maior nos animais alimentados com a dieta contendo quitosana.</p> <p>Houve efeito de interação na digestibilidade aparente de matéria seca e matéria orgânica da fibra detergente neutro, que aumentou com a inclusão de quitosana associada ao caroço de algodão inteiro.</p>
Zanferari et al. (2018)	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; QT: 4 mg/kg; GS: 14% na MS QT + GS: 4 mg/kg + 14% GS na MS.	<p>Aumentou o consumo de EE e reduziu a digestibilidade da PB com inclusão de GS; além da redução da digestibilidade de nutrientes com associação de GS e QT.</p>

Del Valle et al. (2017)	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; QT: 4 g/kg; OS: 33 g/kg; QT+OS: 4 g/kg + 33 g/kg.	Redução do consumo de MS e aumento da digestibilidade da MS e PB com inclusão de QT.
Mingoti et al. (2016)	Vacas Holandesas em lactação	Inclusão de quitosana: 0 mg/kg; 50 mg/kg; 100 mg/kg; 150 mg/kg.	Sem efeitos inclusão de QT no consumo de MS e aumento da digestibilidade a MS, MO e PB com inclusão de QT.
Gandra et al. (2016)	Novilhas Jersey	CON: 0 g/kg; QT: 2 g/kg; GS: 163 g/kg; QT+GS: 2 g/kg + 163 g/kg.	Redução no consumo de MS e FDN, da digestibilidade da MS com inclusão de QT e redução do consumo de CNF com inclusão de GS.
Paiva et al. (2016)	Vacas Holandesas em lactação	Inclusão de quitosana: 0 mg/kg de PC; 75 mg/kg de PC; 150 mg/kg de PC; 225 mg/kg de PC.	Sem efeitos da inclusão de QT no consumo de MS e aumento da digestibilidade da PB com inclusão de QT.
Vendramini et al. (2016)	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0mg/kg; OE: 1 g/dia; QT: 150 mg/kg PC; MON: 24 mg/kg MS.	Sem efeito dos aditivos no consumo de MS e nutrientes e aumento da digestibilidade da MS com inclusão de QT em relação a OE e da digestibilidade da PB com inclusão de QT e MON.

CMS: consumo de matéria seca; CNF: carboidratos não fibrosos; CON: Controle; CA: Caroço de algodão; EE: Extrato Etéreo; FDN: Fibra em Detergente Neutro; GS: Grão de Soja;; MON: Monensina; MS: matéria Seca; MO: matéria orgânica; NA: Naringina; OS: Óleo de Soja; OE: Óleo Essencial; PB: Proteína Bruta; PC: Peso Corporal QT: Quitosana; QI: Quitosana Irradiada

4.3 Ácidos graxos insaturados na alimentação de ruminantes

As dietas dos ruminantes normalmente são constituídas por forragens e concentrados, os quais contêm cerca de 2-4% de lipídios na matéria seca, sendo a maior parte dos ácidos graxos insaturados de C18 (FERLAY et al., 2017). Segundo Bauman et al. (2003) as forragens apresentam uma concentração maior de ácido linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15), enquanto que, os grãos de cereais são ricos em ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12).

Reddy et al. (1994) e Doreau e Chilliard (1997) demonstram que os lipídios costumam ser usados em dietas de ruminantes primeiramente como fontes de energia. A suplementação lipídica é justificada pelo fato de os lipídios apresentarem alta eficiência metabólica por serem extremamente ricos em energia, cerca de 2,25 vezes mais conteúdo energético que os carboidratos. Além disso, os lipídios têm a capacidade de aumentar a absorção de vitaminas lipossolúveis e fornecer ácidos graxos essenciais importantes na composição de membranas de tecidos. Além disso, principalmente, atuam como precursores para a regulação do metabolismo (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

De acordo com Jenkins (1993) existem algumas propriedades dos lipídios que determinam seus efeitos antimicrobianos no ambiente ruminal. Dentre elas, é possível citar o grau de insaturação, formação de sais de carboxilato, bem como a associação física do lipídio com a superfície da partícula do alimento e microrganismos. O fornecimento de lipídios para ruminantes também pode reduzir a produção de metano e, conseqüentemente, a perda de energia pelo animal. Para os lipídios na forma de ácidos graxos insaturados sofrerem biohidrogenação no rúmen, é preciso haver a incorporação de H⁺ no meio, e com isso, há menos H⁺ disponível para a metanogênese (ZINN e PLASCENCIA, 1996).

Os microrganismos do rúmen transformam os lipídios através de dois processos distintos: a lipólise e a biohidrogenação. Sendo que os responsáveis por ambos são as bactérias, protozoários e fungos. Estes microrganismos permitem a libertação de nutrientes ao atacarem e degradarem rapidamente as partículas ingeridas (HUWS et al., 2013). As bactérias, têm enzimas que convertem os carboidratos fermentáveis em AG voláteis (ácidos acético, propiônico e butírico) funcionando como substrato energético nos ruminantes (DOREAU et al., 2016). Segundo estudo realizado por Lourenço et al. (2010), a manipulação de uma determinada atividade microbiana, como a diminuição da biohidrogenação de AG insaturados, sempre resultará em conseqüências sobre outras atividades ruminais, particularmente sobre a atividade

celulolítica, cujos microrganismos são bastante vulneráveis às mudanças. Por exemplo, a espécie bacteriana gram-positiva *B. fibrisolvens*, pertencente ao grupo das *Butyrivibrio* que predomina sobre as atividades de biohidrogenação ruminal, tem um importante papel na digestão das fibras e, adicionalmente, muitas cepas são altamente proteolíticas (MAIA et al., 2010). Ainda segundo destacado por Maia et al. (2010), a bactéria *B. fibrosolvens* possui alta susceptibilidade aos efeitos bacteriostáticos de AG insaturados.

O processo de biohidrogenação ocorre em várias etapas (Figura 3), as quais são realizadas por enzimas, como a redutases e isomerases, além das bactérias que modificam as estruturas dos ácidos graxos, dando origem a outros compostos. O produto final do processo de biohidrogenação é o ácido esteárico (C18:0), e os ácidos intermediários formados ao longo do processo são principalmente, os ácidos linoleicos conjugado (CLA). Kramer et al. (1998) explicam que 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], 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*.

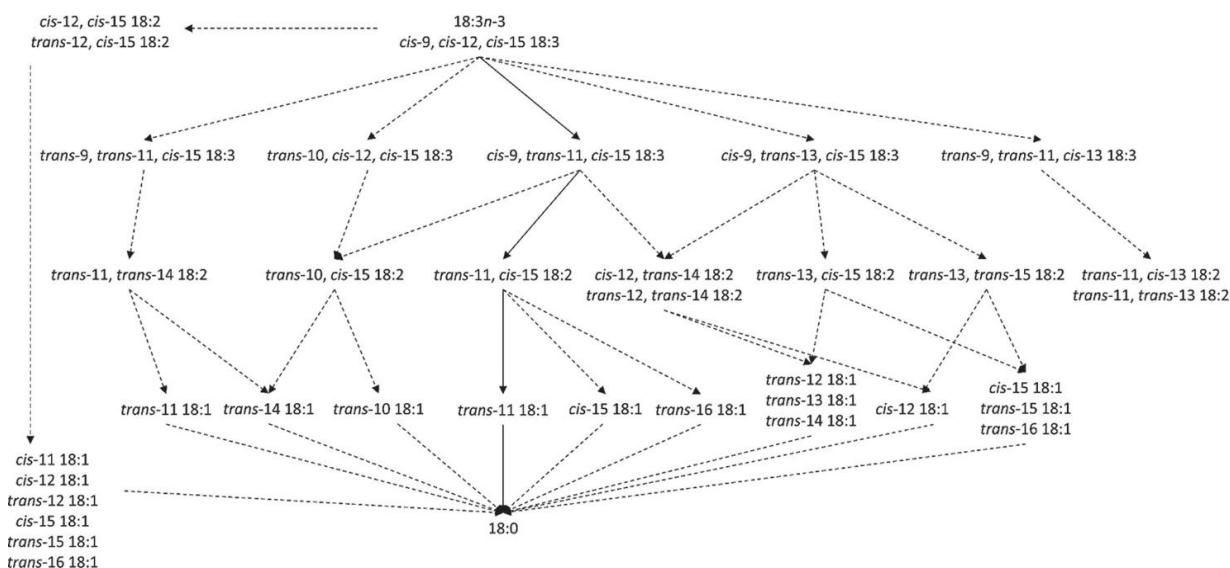


Figura 3. Vias do metabolismo ruminal de 18:3n-3 (baseado em Ferlay et al., 2017). As setas com linhas sólidas destacam a principal via de biohidrogenação, e as setas com linhas tracejadas descrevem a formação de intermediários menores, sob condições fisiologicamente normais no rúmen.

O pH mais baixo é um fator que pode alterar as rotas da biohidrogenação, uma vez que ele altera a população microbiana resultando na formação de isômeros do ácido linoleico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11, e C18:2 *trans*-10 *cis*-12, por exemplo) e intermediários (C18:1 *trans*-11 e C18:1 *trans*-10), os quais são ácidos que não sofrem biohidrogenação completa (BAUMAN e GRIINARI, 2003; SHINGFIELD et al., 2010). Além disso, Chilliard et al. (2007) explicam que, o pH baixo limita tanto a lipólise de triglicerídeos, quanto a isomerização e redução do C18:2, o que favorece o aumento na concentração de ácido vacênico.

Uma forma de minimizar a ação das bactérias sobre os lipídios é a utilização de fontes protegidas de ácidos graxos, como sementes de oleaginosas. Uma vez que, os lipídios estão armazenados no gérmen ou ligados à matriz proteica, assim 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., 2016).

Dessa maneira, o desempenho produtivo de vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura pode variar em função da dieta basal (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético, composição e nível de inclusão da fonte de gordura utilizada (NRC, 2001). Vale ressaltar que o metabolismo lipídico no rúmen influencia fortemente a composição em AG da carne e do leite de ruminantes (JENKINS et al., 2008). Assim, os produtos provenientes contêm ácidos linoleicos conjugados (CLA), os quais são promotores em potencial da saúde, principalmente o *cis*-9, *trans*-11-CLA (JENKINS e BRIDGES, 2007). Tem sido demonstrado em vários estudos com animais que o CLA dietético contribui para a prevenção do câncer, redução da aterosclerose, a melhoria da resposta imune, e alteração no metabolismo de proteína ou energético (PALMQUIST et al., 2005).

Outro efeito dos lipídios é sobre a fermentação ruminal, promovendo a redução da fermentação dos carboidratos estruturais, sendo que o grau de redução depende das fontes de fibra e de lipídios (VALADARES FILHO et al., 2006). Além da 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). Por outro lado, a suplementação com lipídio insaturado pode reduzir o consumo por meio da produção de AG, que atuam como um sinal fisiológico para reduzir o volume da refeição ou aumentar o intervalo entre refeições (HARVATINE e ALLEN, 2006).

O uso de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras pode também promover redução no teor de proteína do leite. Contudo, Lock e Garnsworthy (2002) explicam que essa redução

pode ocorrer pelo efeito de diluição devido ao aumento da produção de leite quando são fornecidas rações com adição de lipídio, ou segundo Wu e Huber (1994) por variações nas concentrações das frações proteicas no leite, como a concentração de caseína, ou nas variações nas concentrações de alguns hormônios que podem promover mudanças fisiológicas que afetam a síntese de proteína do leite, além da diminuição dos carboidratos fermentáveis.

A maioria dos ácidos graxos insaturados na dieta dos ruminantes, são convertidos em produtos mais hidrogenados no processo de biohidrogenação ruminal, o que leva à perda das suas propriedades benéficas antes que possam ser absorvidos no intestino delgado (GADEYNE et al., 2017). Como forma de impedir que esta degradação aconteça, diversas formas vêm sendo estudadas para a proteção dos AGPI, fazendo com que possibilitem a sua absorção e incorporação nos produtos dos ruminantes. São essas formas, a utilização de grãos inteiros, de sais de cálcio ou aditivos que auxiliem no processo de biohidrogenação, como a quitosana. Jenkins e Bridges (2007) explicam que quando se fala em proteção dos AG no rúmen, fala-se fundamentalmente em proteger o ácido linoleico e o ácido linolênico.

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 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 (STERN e ILLG, 1991), sendo, portanto, considerado boa fonte de energia e proteína. O grão de soja pode ser considerado uma fonte de gordura naturalmente protegida, visto que os lipídios se encontram protegidos pela matriz proteica, dessa maneira, para que as bactérias possam acessar ácidos graxos e liberar lipases sobre o conteúdo celular, é necessária a degradação da parede celular (SILVA, 2005). As sementes de oleaginosas se caracterizam por apresentar alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados, com destaque para o ácido linoleico (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). Esse comportamento pode ser justificado pela liberação lenta dos ácidos graxos durante a fermentação ruminal. Contudo, levanta-se o questionamento se 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 para sua utilização na alimentação de vacas leiteira.

De acordo com Santana et al. (2017), quando comparados com fontes desprotegidas como o OS, as fontes de lipídios parcialmente protegidas têm liberação lenta de ácidos graxos, podendo não exceder a capacidade de biohidrogenação das bactérias, resultando em maior teor de ácido saturados. Vale ressaltar que 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.

Por ser uma fonte de lipídio rapidamente disponível para ação dos microrganismos, o OS possui maior taxa de biohidrogenação e consequentemente menor fluxo de ácidos insaturados para o duodeno, quando comparado às fontes de gordura protegidas, como GS e SCAG. 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). Esses mesmos autores afirmam também que com o fornecimento do OS há o aumento da concentração de propionato, que indica maior aproveitamento da dieta, devido a inibição dos microrganismos fibrolíticos, os quais favorecem a produção de metano. Além disso, Bettero et al. (2017) observaram ainda uma redução da taxa de digestão e renovação ruminal causada pelo OS.

De acordo com Palmquist e Matos (2006), os óleos vegetais quando utilizados em dietas para ruminantes podem apresentar efeitos desejáveis, como inibição da produção de metano, redução da concentração de N-NH₃ ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento de ácido linoleico conjugado (CLA). Todavia, segundo Vargas et al. (2002), a utilização de óleos vegetais como fonte de lipídios para ruminantes, mais especificamente vacas leiteiras, pode causar efeitos indesejáveis, como a redução na digestibilidade da matéria seca, redução na relação acetato:propionato e consequentemente, diminuição dos teores da gordura do leite.

Assim como a inclusão da quitosana, estudos têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos anos, com diferentes categorias de bovinos, com o intuito de avaliar os efeitos de diferentes fontes de gordura provenientes da soja (Tabela 2).

Tabela 2- Principais achados científicos de estudos realizados entre os anos de 2015 a 2021 que avaliaram os efeitos da inclusão de diferentes formas de ácidos graxos poli-insaturados em dietas para bovinos de diferentes categorias animais.

Autores	Fonte de gordura	Categoria Animal	Doses avaliadas	Principais resultados
Oliveira et al. (2021)	OS OL	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0% OS: 2,5% OL: 2,5%	Óleo de soja quanto o de linhaça diminuíram a concentração de ácidos graxos saturados e aumentaram insaturados no leite. A suplementação com óleo de linhaça aumentou a concentração de ácidos graxos ômega-3 no leite.
Gouvêa et al. (2020)	OS CA	Bovinos de corte Nelores Machos	OS: 4,7% CA0: 0% CA8: 8% CA16: 16% CA24: 24% CA32: 32%	O CMS do tratamento com OS foi menor que os demais tratamentos com caroço de algodão.
Silva et al. (2020)	OS OP	Bovinos de Corte Nelores Machos	PES: 5kg PES + OP: 5kg PES+ OS: 5kg PES +OP +OS: 5kg	O suplemento de óleo de palma protegido no rúmen, promoveu menor ganho médio diário, comparado ao suplemento de OS protegido no rúmen
Freitas Jr. et al. (2019)	OS GS SCAG	Vacas Holandesas secas	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 32g/kg.	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	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; OS: 2.68% MS; GS: 14.3% MS; SCAG: 2.68%MS.	Redução da digestibilidade da MS com inclusão de GS em relação à inclusão de SCAG.

Bettero et al. (2017)	OS GS SCAG	Vacas Holandesas	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 32 g/kg	Sem efeito das fontes de ácidos graxos no consumo de MS; Redução da digestibilidade da MS e FDN com inclusão de fontes de ácidos graxos.
Rodrigues et al. (2017)	OS	Vacas Holandesas em lactação	0% MS; 1,57% MS; 4,43% MS; 7,34% MS.	Redução do consumo de MS com inclusão de 4,43% e 7,34% de OS.
Barletta et al. (2016a)	GS	Vacas Holandesas em lactação	0 g/kg de GS; 80 g/kg de GS; 160 g/kg de GS; 240 g/kg de GS.	240g/kg GS reduziram o consumo de MS e digestibilidade da PB em relação ao CON.
Barletta et al. (2016b)	OS GS SCAG	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; OS: 30 g/kg; GS: 160 g/kg; SCAG: 30 g/kg.	Aumento do consumo de EE, redução da digestibilidade da FDN e Kp da MS com inclusão de fontes de ácidos graxos.
Gandra et al. (2016b)	LIN GS SCAG	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.	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.

Venturelli et al. (2015)	GS	Vacas Holandesas em lactação	0 % MS; 9 % MS; 18 % MS; 27% MS.	Sem efeito do GS no consumo de MO, PB e FDN; Redução do consumo de MS e CNF com inclusão de GS; Aumento do consumo de EE e da digestibilidade do EE e FDN com inclusão de GS.
-----------------------------	----	---------------------------------	---	---

OL: Óleo de Linhaça; CA: Semente de algodão inteiro; PES: Suplemento Proteico-energético; OP: Óleo de palma protegido; OS: Óleo de Soja; GS: Grão de Soja; SCAG: Sais de Cálcio de Ácidos Graxos; CON: Controle; LIN: Linhaça; 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; GMD: ganho médio diário; CMS: consumo de matéria seca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGGRAENI, A. S., SOFYAN, A., JAYANEGARA, A., LACONI, E. B., KUMALASARI, N. R., HERDIAN, H., & DARMA, I. N. G. Impact of distinct levels swimming crab shell powder (*Portunus pelagicus*) supplementation on in vitro rumen fermentation properties processed with phosphoric acid as a chitosan source. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, p. 01212, 2022.

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., RENNO, F.P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology**, v.206, p.114-118, 2015.

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.; 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.

BAUMAN, Dale E.; GRIINARI, J. Mikko. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual review of nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203-227, 2003.

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.; RENNO, 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.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -MAPA. **Instrução Normativa nº 44, de 15 de Dezembro de 2015.Alteração da Instrução Normativa nº 13, de 2004 e Instruções Normativas nº 15 e 30 de 2009 e nº 29 de 2010**. Diário Oficial da União. 17 Dez 2015. Sec.1, p.7.

BUCCIONI, A., DECANDIA, M., MINIERI, S., MOLLE, G., & CABIDDU, A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, n.1-2, p.1-25, 2012.

CHENG, S., YU, Y., GUO, J., CHEN, G., GUO, MEFFECT of 1-methylcyclopropene and chitosan treatment on the storage quality of jujube fruit and its related enzyme activities. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109281, 2020.

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., MARCOTULLIO, M. C., YU, Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v.215, p.25-36, 2016.

Comunidade Européia. **Regulamento nº 1831 do parlamento Europeu e do Conselho, de 22 de Setembro de 2003. Relativo aos aditivos destinados à alimentação animal**. Diario Oficial de la Unión Europea [Internet]. Acessado em 18 Out 2021. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831&from=en>

COSTA, T. B. COSTA, T. B. da. Uso de aditivos em suplementos para bovinos recriados em pastagem. 31f. Monografia - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.

DANIELI, B.; SCHOGOR, A. L. B. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-13, 2020.

DEL VALLE, T.A., PAIVA, P.G., JESUS, E.F., ALMEIDA, G.F., ZANFERARI, F., COSTA, A.G., BUENO, I.C.S., RENNO, 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.

DHIMAN, TILAK R.; NAM, SEUNG-HEE; URE, AMY 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.

DIAS, L. S., SILVA, D. D. S., CARVALHO, G. G. P. D., ARAÚJO, M. L. G. D., SILVA, F. F. D., PEREIRA, M. L. A., FREITAS JÚNIOR, J. E. D. Chitosan associated with whole raw soybean in diets for Murrah buffaloes on ruminal fermentation, apparent digestibility and nutrients metabolism. **Animal Science Journal**, v.91, n.1, p.e13435, 2020.

DOREAU, M., MEYNADIER, A., FIEVEZ, V., FERLAY, A. Ruminal 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, p. 521-542, 2016.

FADEL EL-SEED, A. N. M. A., KAMEL, H. E. M., SEKINE, J., HISHINUMA, M., HAMANA, K. Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v.83, n.1, p.161-163, 2003.

FERLAY, A., BERNARD, L., MEYNADIER, A., MALPUECH-BRUGÈRE, C. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. **Biochimie**, v.141, p.107-120, 2017.

FOUNOU, LURIA LESLIE; FOUNOU, RASPAIL CARREL; ESSACK, SABIHA YUSUF. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1881, 2016.

FREITAS JÚNIOR, J. E. D., RENNO, F. P., GANDRA, J. R., RENNO, L. N., REGO, A. C., SANTOS, M. V. D., TAKIYA, C. S. Addition of unsaturated fatty acids improves digestion of mid lactating dairy cows. **Archivos de Zootecnia**, v.63, n.244, p.563-573, 2014.

FREITAS JÚNIOR, J. E. D., RENNO, F. P., SILVA, L. F. P., GANDRA, J. R., MATURANA FILHO, M., FODITSCH, C., & VENTURELLI, B. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v.40, p.950-956, 2010.

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.

GADEYNE, F., DE NEVE, N., VLAEMINCK, B., FIEVEZ, V. State of the art in rumen lipid protection technologies and emerging interfacial protein cross-linking methods. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 5, p. 1600345, 2017.

GANDRA, J. R., FREITAS JUNIOR, J. E. D., MATURNA FILHO, M., BARLETTA, R. V., VERDURICO, L. C., RENNÓ, F. P. Soybean oil and calcium salts of fatty acids as fat sources for Holstein dairy cows in transition period. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, p.83-93, 2014.

GANDRA, J.R., OLIVEIRA, E.R., TAKIYA, C.S., GOES, R.H.T.B., PAIVA, P.G., OLIVEIRA, K.M.P., HARAKI, H.M.C. Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.214, p.44-52, 2016b.

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, p.130-137, 2016a.

GARDINAL, R., CALOMENI, G.D., ZANFERARI, F., VENDRAMINI, T.H.A., TAKIYA, C.S., DEL VALLE, T.A., RENNÓ, F.P. Different durations of whole raw soybean supplementation during the prepartum period: Milk fatty acid profile and oocyte and embryo quality of early-lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.675-689, 2018a.

GARDINAL, R., CALOMENI, G.D., ZANFERARI, F., VENDRAMINI, T.H.A., TAKIYA, C.S., BERTAGNON, H.G., RENNÓ, F.P. Different durations of whole raw soybean supplementation during the prepartum period: Measures of cellular immune function in transition cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.661-674, 2018b.

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, p.35-40, 2010a.

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

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

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

GONÇALVES NETO, J.; PEDREIRA, M. dos S. Uso da própolis na nutrição de ruminantes. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 7, n.2, p. 1180-1188, 2010.

GORDIANO, L. A., FERREIRA, F. G., RIBEIRO, C. V. D. M., DE CARVALHO, G. G. P., SILVA, F. F., DE ARAÚJO, M. L. G. M. L., FREITAS JR, J. E. Association between chitosan and unsaturated fatty acids supplementation on ruminal fermentation, digestive metabolism, and ruminal kinetics in beef heifers. **Livestock Science**, v.271, p.105216, 2023.

GOUVÊA, V. N., BIEHL, M. V., JUNIOR, M. V. D. C. F., MOREIRA, E. M., NETO, J. A. F., WESTPHALEN, M. F., PIRES, A. V. Effects of soybean oil or various levels of whole cottonseed on intake, digestibility, feeding behavior, and ruminal fermentation characteristics of finishing beef cattle. **Livestock Science**, v.244, p.104390, 2021.

GOY, REJANE C.; MORAIS, SINARA TB; ASSIS, ODILIO BG. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. coli* and *S. aureus* growth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 122-127, 2016.

HARAHAP, R.P., SETIAWAN, D., NAHROWI, N., SUHARTI, S., OBITSU, T., JAYANEGARA, A. Enteric methane emissions and rumen fermentation profile treated by dietary chitosan: a meta-analysis of in vitro experiments. **Tropical Animal Science Journal**, v.43, p.233-239, 2020.

HARAHAP, R.P., SUHARTI, S., RIDLA, M., LACONI, E.B., NAHROWI, N., IRAWAN, A., JAYANEGARA, A. Meta-analysis of dietary chitosan effects on performance, nutrient utilization, and product characteristics of ruminants. **Animal Science Journal**, v.93, p.13676, 2022

HARAKI, H. M. C., GANDRA, J. R., OLIVEIRA, E. R., TAKIYA, C. S., GOES, R. H. T. B., GABRIEL, A. M. A., BATISTA, J. D. O. Effects of chitosan and whole raw soybeans on feeding behavior and heat losses of Jersey heifers. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.8, n.3, p.397-405, 2018.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 3, p. 1081-1091, 2006a.

HARVATINE, K.J., ALLEN, M.S., Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1092–1103. 2006b.

HARYATI, R.P., JAYANEGARA, A., LACONI E.B., RIDLA M., SUPTIJAH P. Evaluation of chitin and chitosan from insect as feed additives to mitigate ruminal methane emission. **In AIP Con. Proc.** 2120, 040008, 2019

HELANDER, I. M., NURMIAHO-LASSILA, E. L., AHVENAINEN, R., RHOADES, J., & ROLLER, S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.71, n.2-3, p.235-244, 2001.

HIRANO, S., ITAKURA, C., SEINO, H., AKIYAMA, Y., NONAKA, I., KANBARA, N., & KAWAKAMI, T. Chitosan as an ingredient for domestic animal feeds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1214-1217, 1990.

HUWS, S. A., SCOTT, M. B., TWEED, J. K. S., & LEE, M. R. F. Fatty acid oxidation products ('green odour') released from perennial ryegrass following biotic and abiotic stress, potentially have antimicrobial properties against the rumen microbiota resulting in decreased biohydrogenation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 5, p. 1081-1090, 2013.

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

JENKINS, T. C., WALLACE, R. J., MOATE, P. J., & MOSLEY, E. E. Board-invited 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 JR, W. C. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 8, p. 778-789, 2007.

JIMÉNEZ-OCAMPO, R., MONTTOYA-FLORES, M. D., HERRERA-TORRES, E., PÁMANES-CARRASCO, G., ARCEO-CASTILLO, J. I., VALENCIA-SALAZAR, S. S., ... & KUTTER, J. C. Effect of chitosan and naringin on enteric methane emissions in crossbred heifers fed tropical grass. **Animals**, v.11, n.6, p.1599, 2021.

KEMP, Pt; WHITE, R. W.; LANDER, D. J. The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. **Microbiology**, v. 90, n. 1, p. 100-114, 1975.

KIRWAN, S. F., PIERCE, K. M., SERRA, E., MCDONALD, M., RAJAURIA, G., & BOLAND, T. M. Effect of chitosan inclusion and dietary crude protein level on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and N excretion in beef heifers offered a grass silage based diet. **Animals**, v.11, n.3, p.771, 2021.

KONG, M., X.G. CHEN, K. XING & H.J. PARK. Anti-microbial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology** v.144, p.51-63. 2010.

KRAMER, J. K. G.; P. W. PARODI; R. G. JENSEN; M. M. MOSSOBA; M. P. YURAWECZ; R. O. ADLOF. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated acid isomer found in natural products. **Lipids**, v.33, p.835, 21 1998.

KUMAR, A., JENA, P. K., BEHERA, S., LOCKEY, R. F., & MOHAPATRA, S. Efficient DNA and peptide delivery by functionalized chitosan-coated single-wall carbon nanotubes. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 1, n. 4, p. 392-396, 2005.

LOCK, A. L.; GARNSWORTHY, P. C. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. **Animal Science**, v. 74, n. 1, p. 163-176, 2002.

LOURENÇO, M.; RAMOS-MORALES, E.; WALLACE, R. J. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1008-1023, 2010.

MAGALHAES, T. S., CARVALHO, G. G. P., SANTOS, E. M., JÚNIOR, J. F., PINA, D. S., PINTO, L. F. B. & 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.

MAIA, M. R. G. **Microrganismos e factores alimentares que afectam a biohidrogenação e a produção de isómeros conjugados do ácido linoleico no ecossistema ruminal**. 2010. 209f. 2010. Tese de Doutorado. Tese de Doutorado—Faculdade de Medicina Veterinária/Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

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.; KOPECNY, 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.

MUSHAWWIR, A., ARIFIN, J., DARWIS, D., PUSPITASARI, T., PENGERTENI, D. S., NURYANTHI, N., & PERMAN, R. Liver metabolic activities of Pasundan cattle induced by irradiated chitosan. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v.21, p.12, 2020.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, 2001. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**, seventeenth edition, (The National Academies Press, Washington, D.C. USA).

NAVES, A. B., BARLETTA, R. V., GANDRA, J. R., FREITAS JÚNIOR, J. É., VERDURICO, L. C., BENEVENTO, B. C., ... & 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.

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

OLIVEIRA X.S., M., PALMA, A. S., REIS, B. R., FRANCO, C. S., MARCONI, A. P., SHIOZAKI, F. A., ... & NETTO, A. S. Inclusion of soybean and linseed oils in the diet of lactating dairy cows makes the milk fatty acid profile nutritionally healthier for the human diet. **PLoS One**, v.16, n.2, p.246-357, 2021.

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.

PALMQUIST, D. L., LOCK, A. L., SHINGFIELD, K. J., & BAUMAN, D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advances in food and nutrition research**, v. 50, p. 179-217, 2005.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, Wilson Roberto Soares. Metabolismo de lipídeos. **Nutrição de ruminantes**, 2006.

POLAN, C. E.; MCNEILL, J. J.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 88, n. 4, p.1056-1064, 1964.

RAAFAT, Dina; SAHL, Hans-Georg. Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 186-201, 2009.

RABEA, E. I., BADAWEY, M. E. T., STEVENS, C. V., SMAGGHE, G., & STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules**, v.4, n.6, p.1457-1465, 2003.

REDDY, J. K.; MANNAERTS, Guy P. Peroxisomal lipid metabolism. **Annual review of nutrition**, v. 14, n. 1, p. 343-370, 1994.

RENNÓ, F. P., FREITAS JÚNIOR, J. E. D., GANDRA, J. R., VERDURICO, L. C., SANTOS, M. V. D., BARLETTA, R. V. & VILELA, F. G. Fatty acid profile and composition of milk protein

fraction in dairy cows fed long-chain unsaturated fatty acids during the *transition* period. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, p.813-823, 2013.

RENNÓ, F.P., ARAÚJO, A.P.C.D., VENTURELLI, B.C., SANTOS, M.C.B., FREITAS JÚNIOR, J.E., BARLETTA, R.V., BETTERO, V.P. Utilização de quitosana na alimentação de ruminantes. **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**. Pirassununga: Editora 5D, cap. 6, 117-139, 2011.

RODRIGUES, J. P. P.; PAULA, R. M.; RENNO, 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.

RUSSEL, J. B. A proposed model of monensin action in inhibiting rumen bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 1519-1525, 1987.

RUSSEL, J. B., STROBEL, H. J. Minireview. Effect of ionóforos on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 1-6, 1989.

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 NETO, J. A.; OLIVEIRA, V. S.; VALENÇA, R. L.; CAVALCANTE, L. A. D. Características da Fermentação Ruminal de Ovinos em Pastejo-Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 10, p. 1-21, 2012.

SANTANA, M. C., MESSANA, J. D., FIORENTINI, G., LAGE, J. F., DIAN, P. H., CANESIN, R. C., ... & 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.

SANTOS, M.C.B., ARAÚJO, A.P.C., VENTURELLI, B.C., FREITAS JR, J.E., BARLETTA, R.V., GANDRA, J.R., RENNO, F.P. Effects of increasing monensin doses on performance of midlactating Holstein cows. **Journal of Applied Animal Research**, v.47, p.297–302, 2019.

SEANKAMSORN, A., CHERDTHONG, A., SO, S., & WANAPAT, M. Influence of chitosan sources on intake, digestibility, rumen fermentation, and milk production in tropical lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.53, n.2, 241, 2021.

SENEL, S.; MCCLURE, S.J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1467-1480, 2004.

SHAH, A. M., QAZI, I. H., MATRA, M., & WANAPAT, M. Role of Chitin and Chitosan in Ruminant Diets and Their Impact on Digestibility, Microbiota and Performance of Ruminants. **Fermentation**, v. 8, n. 10, p. 549, 2022.

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.1140-1166, 2010.

SHINKAI, T., ENISHI, O., MITSUMORI, M., HIGUCHI, K., KOBAYASHI, Y., TAKENAKA, A., ... & MOCHIZUKI, M. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v. 95 p 5308–531, 2012.

SILVA, F.D., NUNES, P. A. A., BREDEMEIER, C., CADENAZZI, M., P. AMARAL, L. PFEIFER, F. M., ... & CARVALHO, P. C. D. F. Spatiotemporal distribution of cattle dung patches in a subtropical soybean-beef system under different grazing intensities in winter. **Agronomy**, v.10, n.9, p.1423, 2020.

SKAUGRUD, O.; SARGENT, G. Chitin and chitosan: Crustacean biopolymers with potential. In: **Int. Conf. on Fish By-Products, Anchorage, AK(USA), 25-27 Apr 1990**. 1990. p. 61-69.

STERN, M.D.; ILLG, D.J. Empleo de soya integral e la alimentación de ruminantes. **Soya Not**, v.20, n.277, p.14-20, 1991.

SWIATKIEWICZ, S., SWIATKIEWICZ, M., ARCZEWSKA-WLOSEK, A., & JOZEFIAK, D. Chitosan and its oligosaccharide derivatives (chito-oligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.99, n.1, p.1-12, 2015.

TANG, H., ZHANG, P., KIEFT, T. L., RYAN, S. J., BAKER, S. M., WIESMANN, W. P., & ROGELJ, S. (2010). Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against Gram-negative bacteria. **Acta Biomaterialia**, v.6, n. 7, p.2562-2571, 2010

TANTALA, Juthamas; THUMANU, Kanjana; RACHTANAPUN, Chitsiri. An assessment of antibacterial mode of action of chitosan on *Listeria innocua* cells using real-time HATR-FTIR spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 386-393, 2019.

TORRES-GINER, Sergio; OCIO, María José; LAGARON, José María. Novel antimicrobial ultrathin structures of zein/chitosan blends obtained by electrospinning. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 261-266, 2009.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa, MG: UFV, 2006.

VANDEHAAR, M. J., ARMENTANO, L. E., WEIGEL, K., SPURLOCK, D. M., TEMPELMAN, R. J., & VEERKAMP, R. Harnessing the genetics of the modern dairy cow to continue improvements in feed efficiency. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.6, p.4941-4954, 2016.

VARGAS, L. H., LANA, R. D. P., JHAM, G. N., SANTOS, F. L., QUEIROZ, A. C. D., & MANCIO, A. B. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 522-529, 2002.

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.; RENNO, F. P. Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 12-21, 2016.

VERLEE, Arno; MINCKE, Stein; STEVENS, Christian V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. **Carbohydrate polymers**, v. 164, p. 268-283, 2017.

VILAR JUNIOR, J. C., RIBEAUX, D. R., ALVES DA SILVA, C. A., CAMPOS-TAKAKI, D., & MARIA, G. (2016). Physicochemical and antibacterial properties of chitosan extracted from waste shrimp shells. **International Journal of Microbiology**, 2016.

WANG, Guang-Hua. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. **Journal of Food protection**, v. 55, n. 11, p. 916-919, 1992.

WU, Zu; HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 2, p. 141-155, 1994.

ZAINOL ABIDIN, N. A., KORMIN, F., ZAINOL ABIDIN, N. A., MOHAMED ANUAR, N. A. F., & ABU BAKAR, M. F. The potential of insects as alternative sources of chitin: An overview on the chemical method of extraction from various sources. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 4978, 2020.

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.

ZHENG, Y. G., ZHANG, B. Q., QI, J. Y., ZHAO, Y. L., GUO, X. Y., SHI, B. L., & YAN, S. M. Dietary supplementation of chitosan affects milk performance, markers of inflammatory response and antioxidant status in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.277, p.114952, 2021.

ZINN, R. A.; PLASCENCIA, A. Effects of forage level on the comparative feeding value of supplemental fat in growing-finishing diets for feedlot cattle. **Journal of animal science**, v. 74, n. 6, p. 1194-1201, 1996.DOREAU, Michel; CHILLIARD, Yves. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 1, p. S15-S35, 1997.

QUITOSANA EM DIETAS PARA VACAS JERSEY ALIMENTADAS COM FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da associação da quitosana às fontes de ácidos graxos insaturados sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, balanço de nitrogênio, metabólitos sanguíneos, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos no leite, balanço de energia e cinética ruminal em vacas Jersey em lactação. Cinco vacas Jersey fistuladas no rúmen [média de dias de lactação = 150 ± 45 dias; e produção de leite = $22,2 \pm 4,5$ kg/dia, e peso corporal = 350 ± 25 kg] foram distribuídas e um quadrado latino 5×5 , com períodos de avaliação de 21 dias. As vacas foram alimentadas com cinco dietas: 1) CON (CON), composto por ração basal à base de farelo de soja e milho moído, com inclusão de 3% de óleo de dendê; 2) (OS) dieta com inclusão de 3% de óleo de soja com base na MS total; 3) dieta (GS) com a inclusão de 16% do grão de soja cru e integral com base na MS total; 4) dieta (OSQ) com inclusão de 3% de óleo de soja e 0,02% de quitosana (Q) com base na MS total e; 5) (GSQ), dieta com inclusão de 16% de grão de soja cru e integral e 0,2% de Q na MS total. Resultados foram considerados significativos quando $P < 0.05$. Maiores consumos de PB, FDNpd, CNF, foram observados nas dietas contendo fontes de ácidos graxos em comparação à dieta CON. Maiores consumos de MS, MO, PB e EE foram observados nas dietas OSQ e GSQ em comparação às dietas OS e GS. Maiores concentrações AGCC total, acetato em Mmol, acetato em %, propionato e metano foram observados nas dietas contendo fontes de ácidos graxos em comparação à dieta CON. Maiores consumos de N foram observados nas dietas contendo fontes de ácidos graxos comparada a dieta CON. Houve maiores consumos de N na dieta OSQ em relação à dieta GSQ. Houve maiores excreções N fecal na dieta OSQ em relação à dieta GSQ. Houve menores eficiências de SPM e purinas totais nas dietas contendo fontes de ácidos graxos em comparação à dieta CON. Houve maiores concentrações de GGT nas dietas contendo fontes de ácidos graxos comparada a dieta CON. Houve menores concentrações de ureia e GGT na dieta GS em comparação à dieta OS. Houve menores concentrações de ureia e GGT na dieta GSQ em comparação à dieta OSQ. As dietas GSQ e OSQ aumentaram os consumos de energia líquida em relação às dietas GS e OS. Menores nas concentrações de C16:0 e C18:1 cis-9 e maiores concentrações de C4, C6, C8, C10, C12, C14, C18:1 trans-11, C18:1 cis-11, C18:2 n6-cis, C18:3 n3, CLA c-9, t-11, C20:4, <C16, >C16, foram observados nas dietas contendo fontes de ácidos graxos comparada a dieta CON. Maiores consumos de energia líquida foram observados nas dietas GSQ e OSQ. Maiores valores de MS e MO no pool ruminal foram observados na dieta GS em relação à dieta OS. Maiores valores de FDN no pool foram verificados na dieta GSQ em relação à dieta OSQ. Menores de taxa de renovação ruminal (TRR) %/h de MO foram verificados nas dietas GS e OS em comparação às dietas OSQ e GSQ. Maiores valores de TRR %/h de MS foram observados na dieta OS em relação à dieta GS. Menores de taxa de digestão %/h de FDN e FDNpd, e menor taxa de renovação ruminal %/h de MO, FDN e FDNpd foram verificados na dieta GSQ em relação à dieta OSQ. A associação entre quitosana e fontes de ácidos graxos de cadeia longa altera o consumo, utilização de nitrogênio e síntese de proteína microbiana, fermentação ruminal, perfil de ácidos graxos do leite, metabólitos sanguíneos e a cinética ruminal em vacas Jersey em lactação. Sendo assim, os resultados reforçam que a quitosana possuem interação positivas com as diferentes formas e fontes de ácidos graxos.

Palavras-chave: aditivo, biohidrogenação ruminal, lipídio, propiônico

CHITOSAN IN DIETS FOR JERSEY COWS FED WITH SOURCES OF UNSATURATED FATTY ACIDS

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of the association of chitosan with unsaturated fatty acids sources on the intake and digestibility of nutrients, ruminal fermentation, microbial protein synthesis, nitrogen balance, blood metabolites, milk production and composition and energy balance in lactating Jersey cows. Five Jersey cows fistulated in the rumen [mean days in lactation = 150 ± 45 days; milk production $22,2 \pm 4,5$ kg; body weight = 350 ± 25 kg] were distributed in a 5×5 Latin square, with periods of 21 days. The cows were fed five diets: 1) CON (CON), consisting of a basal diet based on soybean meal and ground corn, with the inclusion of 3% palm kernel oil; 2) (OS) diet including 3% soybean oil based on total DM; 3) diet (GS) with the inclusion of 16% of raw and whole soybeans based on total DM; 4) diet (SOCHI) with inclusion of 3% soybean oil and 0.02% chitosan (CHI) based on total DM and; 5) (WRSCHI), diet including 16% raw and whole soybeans and 0.2% Q in total DM. Results were considered significant when $P < 0.05$. Higher intakes of CP, pdNDF and CNF were observed in diets containing sources of fatty acids compared to the CON diet. Higher intakes of DM, OM, CP and EE were observed in the SOCHI and WRSCHI diets compared to the SO and WRS diets. Higher concentrations of total SCFA, acetate in Mmol, acetate in %, propionate and methane were observed in diets containing sources of fatty acids compared to the CON diet. Higher N intakes were observed in diets containing sources of fatty acids compared to the CON diet. There were higher N intakes in the OSQ diet compared to the GSQ diet. There were greater fecal N excretions in the OSQ diet compared to the GSQ diet. There were lower SPM and total purine efficiencies in diets containing fatty acid sources compared to the CON diet. There were higher concentrations of GGT in diets containing sources of fatty acids compared to the CON diet. There were lower concentrations of urea and GGT in the GS diet compared to the OS diet. There were lower concentrations of urea and GGT in the GSQ diet compared to the OSQ diet. The GSQ and OSQ diets increased net energy intake compared to the GS and OS diets. Lower concentrations of C16:0 and C18:1 cis-9 and higher concentrations of C4, C6, C8, C10, C12, C14, C18:1 trans-11, C18:1 cis-11, C18:2 n6-cis, C18:3 n3, CLA c-9, t-11, C20:4, <C16, >C16, were observed in diets containing sources of fatty acids compared to the CON diet. Higher net energy intakes were observed in the GSQ and OSQ diets. Higher DM and MO values in the rumen pool were observed in the GS diet compared to the OS diet. Higher NDF values in the pool were found in the GSQ diet in relation to the OSQ diet. Lower rumen renewal rate (TRR) %/h of OM were found in the GS and OS diets compared to the OSQ and GSQ diets. Higher TRR %/h DM values were observed in the OS diet compared to the GS diet. Lower digestion rates %/h of NDF and NDFpd, and lower rumen renewal rates %/h of OM, NDF and NDFpd were observed in the GSQ diet in relation to the OSQ diet. The association between chitosan and sources of long-chain fatty acids alters intake, nitrogen utilization and microbial protein synthesis, ruminal fermentation, milk fatty acid profile, blood metabolites and ruminal kinetics in lactating Jersey cows. Therefore, the results reinforce that chitosan has positive interactions with different forms and sources of fatty acids.

Keywords: additive, consumption, cattle, fat sources, metabolism

1. INTRODUÇÃO

Os efeitos que a suplementação dietética de ácidos graxos pode 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 energia 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-NH_3), melhorando o aproveitamento de energia e proteína. A associação dos ácidos graxos com outros componentes, como a quitosana, pode alterar mais a modulação da fermentação ruminal e consequentemente alteração dos produtos finais.

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 das membranas das bactérias. 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 se tem 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).

Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar a ação da quitosana em dietas com diferentes fontes de lipídios, sobre o consumo e a digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, balanço de nitrogênio, metabólitos sanguíneos, produção e composição do leite, balanço de energia, dinâmica e fluxo ruminal em vacas Jersey em lactação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Comitê de ética e localização

O experimento foi desenvolvido no setor de Nutrição e Metabolismo de Grandes Ruminantes, situado na Fazenda Experimental de Entre Rios, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- EMEVZ da Universidade Federal da Bahia-UFBA, localizada na zona rural do Município de Entre Rios - BA, Brasil. A região apresenta as seguintes características: temperatura média mínima de 22°C, temperatura média máxima de 29°C, precipitação média anual de 1.000–1.251 mm e clima quente e semiúmido.

Nesta pesquisa, todos os protocolos para a utilização de animais 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: 63/2019).

2.2 Animais, delineamento experimental e dietas

Foram utilizadas cinco vacas da raça Jersey em lactação, multíparas, providas de cânulas ruminais (Kehl® 4” silicone; Kehl®, São Carlos, Brasil), com média de dias de lactação = 150 ± 45 dias; e produção de leite = $22,2 \pm 4,5$ kg/dia, e peso corporal = 350 ± 25 kg. Para o presente estudo, as vacas foram distribuídas em um quadrado latino 5 x 5 com períodos de 21 dias cada, sendo os 14 primeiros dias destinados à adaptação dos animais ao manejo e às dietas, e os demais dias para a coleta de dados.

As vacas foram alojadas em baias individuais (19m²), com área de circulação de 9,5m², com camas de areia, e área de alimentação com 9,5m², cochos para alimentação e bebedouros, livre acesso a ração e água. Para realizar o acompanhamento do desenvolvimento corporal dos animais, e ajustar as doses de quitosana fornecidas, as vacas foram pesadas no início e no último dia de cada período experimental, antes da alimentação da manhã e após a ordenha, em balança eletrônica para animais de grande porte. Além disso, os escores de condição corporal foram determinados nos mesmos períodos que o peso corporal, usando um sistema de 5 pontos (1 = muito magra; 5 = obeso) de acordo com metodologia proposta por Wildman et al. (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber as dietas experimentais, as quais foram formuladas para atender as exigências nutricionais de vacas da raça Jersey no terço médio de lactação e produção média de leite de 20 kg/dia, conforme as recomendações do National Research Council (NRC, 2001).

As vacas foram alimentadas com cinco dietas durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas, 16% de PB, conforme mencionado abaixo:

- 1) Controle (CON), composta por ração basal a base de farelo de soja, milho e trigo, com a inclusão de 3% de azeite de dendê, com base na MS total;
- 2)(OS) dieta com a inclusão de 3% de óleo de soja (OS), com base na MS total;
- 3)(GS) dieta com a inclusão de 16 % de grão de soja integral (GS) *in natura*, com base na MS total;
- 4)(OSQ) dieta com a inclusão de 3% de óleo de soja e 0,2 % de quitosana, com base na MS total e;
- 5)(GSQ), dieta com a inclusão de 16 % de grão de soja integral *in natura* e 0,2 % de quitosana, com base na MS total.

A água foi fornecida *ad libitum*. O volumoso utilizado durante o experimento foi a silagem de milho, A composição dos alimentos, concentrados e dietas experimentais são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

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

Item (%)	Silagem de milho	Milho moído	Farelo de soja	Grão de soja	Farelo de trigo	Óleo de soja	Azeite de dendê	Quitosana
Matéria seca	26,50	88,10	88,90	91,70	88,05	99,90	99,90	97,59
Matéria orgânica	93,20	98,60	93,40	95,00	92,81	99,90	99,90	35,46
Matéria mineral	6,80	1,40	6,60	5,00	5,73	-	0,03	64,54
Extrato etéreo	2,30	6,20	3,95	18,30	6,39	99,90	99,90	0,30
Proteína bruta	7,40	8,49	45,90	42,20	17,12	-	0,30	11,41
PIDIN ¹ (%MS)	18,60	8,20	4,80	9,50	18,60	-	-	-
PIDA ² (%MS)	9,00	2,70	2,50	6,90	3,99	-	-	-
FDN ³	54,00	15,00	14,80	19,50	43,96	-	-	-
FDNi ⁴	21,10	1,80	2,20	1,50	9,32	-	-	-
FDA ⁵	29,50	2,40	8,50	8,50	13,03	-	-	-
Lignina	4,50	1,20	1,50	2,50	4,02	-	-	-
CT ⁷	83,50	83,91	43,55	34,50	70,76	-	-	-
CNF ⁸	29,50	68,91	28,75	15,00	26,80	-	-	-
NDT ⁹	64,01	90,88	81,38	93,13	75,50	183,92	183,92	-
EL ¹⁰ (Mcal/kg)	1,34	2,20	2,60	3,10	2,20	6,20	6,20	-

¹Proteína insolúvel em detergente neutro; ²Proteína Insolúvel em Detergente Ácido; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁵Fibra em Detergente Ácido; ⁷Carboidratos Totais estimados com base na equação de Sniffen et al. (1992); ⁸Carboidratos não-fibrosos estimados com base na equação de Hall (2000); ⁹Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC (2001); ¹⁰Energia Líquida total estimada pelas equações do NRC (2001).

Tabela 2 – 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	35,96	48,10	44,28	47,70	43,84
Farelo de soja	32,28	37,94	15,56	37,92	15,56
Grão de Soja	-	-	33,04	-	33,04
Farelo de trigo	18,00	-	-	-	-
Azeite de dendê	6,04	-	-	-	-
Óleo de soja	-	6,02	-	6,02	-
Quitosana	-	-	-	0,42	0,42
Ureia	1,38	1,38	0,42	1,38	0,42
Sulfato de amônio	0,48	0,54	0,54	0,54	0,54
Calcário	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
Bicarbonato de sódio	1,40	1,52	1,52	1,52	1,52
Bovigold	3,02	3,02	3,02	3,02	3,02
Sal comum	0,24	0,28	0,28	0,28	0,28
Composição química (% da MS)					
Matéria seca	89,98	90,06	90,12	90,10	90,14
Matéria orgânica	88,61	88,88	89,34	89,03	89,30
Matéria Mineral	11,39	11,12	10,28	11,39	10,54
Extrato etéreo	10,69	10,49	9,41	10,50	9,38
Proteína bruta	24,85	25,38	26,03	25,43	26,04
FDN ³	18,08	12,83	15,39	12,83	15,32
FDNi ⁴	3,04	1,70	1,63	1,70	1,63
Lignina	1,64	1,15	1,59	1,15	1,59
CT ⁵	56,97	56,88	55,33	56,88	54,96
CNF ⁶	38,88	44,05	39,94	44,05	39,64
NDT ⁷	83,65	85,66	83,67	85,66	83,27
EL ⁸ (Mcal/kg)	2,40	2,40	2,40	2,40	2,39

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: 190g de cálcio, 60g de fósforo, 70g de sódio, 20g de enxofre, 20g magnésio, 15mg de cobalto, 700mg de cobre, 10mg de cromo, 40mg de iodo, 1600mg de manganês, 19mg de selênio, 2500mg de zinco, 700mg de ferro e 600mg de flúor; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível ⁵Carboidratos totais estimados com base na equação de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos não-fibrosos estimados com base na equação de Hall (2000); ⁷Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2001); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC (2001).

Tabela 3 – Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais ¹				
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ
Silagem de milho	50,00	50,00	50,07	50,00	50,08
Milho moído	17,98	24,05	22,14	23,85	21,92
Farelo de soja	16,14	18,97	7,78	18,96	7,78
Grão de Soja	-	-	16,52	-	16,52
Farelo de trigo	9,00	-	-	-	-
Azeite de dendê	3,02	-	-	-	-
Óleo de soja	-	3,01	-	3,01	-
Quitosana	-	-	-	0,21	0,21
Ureia	0,69	0,69	0,21	0,69	0,21
Sulfato de amônio	0,24	0,27	0,27	0,27	0,27
Calcário	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Bicarbonato de sódio	0,70	0,76	0,76	0,76	0,76
Bovigold	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51
Sal comum	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14
Composição química					
Matéria seca	58,24	58,28	58,33	58,30	58,34
Matéria organica	90,91	91,04	91,46	91,11	91,32
Matéria Mineral	9,09	8,96	8,54	9,10	8,68
Extrato etéreo	6,49	6,40	5,85	6,40	5,84
Proteína bruta	16,13	16,39	16,72	16,41	16,72
FDN ³	36,04	33,42	34,73	33,42	34,70
FDNi ⁴	12,07	11,40	11,38	11,40	11,38
Lignina	3,07	2,82	3,05	2,82	3,05
CT ⁵	70,23	70,19	69,47	70,19	69,30
CNF ⁶	34,19	36,78	34,74	36,78	34,59
NDT ⁷	73,83	74,84	73,89	74,84	73,89
EL (Mcal/kg) ⁸	1,87	1,82	1,87	1,82	1,87
AG g/100 g de AG					
Total	4,72	4,65	4,35	4,75	4,45
C14:0	0,12	0,44	0,43	0,44	0,43
C16:0	26,53	14,81	14,75	14,81	14,75
C18:0	1,58	3,27	3,27	3,27	3,27
C18:1 <i>cis</i>	10,30	17,26	17,17	17,26	17,17
C18:2	23,66	49,43	49,29	49,43	49,29
C18:3	2,74	2,61	2,69	2,61	2,69
Outros	12,25	12,22	12,44	12,22	12,44

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: 190g de cálcio, 60g de fósforo, 70g de sódio, 20g de enxofre, 20g magnésio, 15mg de cobalto, 700mg de cobre, 10mg de cromo, 40mg de iodo, 1600mg de manganês, 19mg de selênio, 2500mg de zinco, 700mg de ferro e 600mg de flúor; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível ⁵Carboidratos Totais estimados com base nas equação de Sniffen et al. (1992); ⁶Carboidratos não-fibrosos estimados com base nas equação de Hall (2000); ⁷Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC(2001); ⁸Energia Líquida estimada pelas equações do NRC(2001); ⁹Ácidos Graxos.

A quitosana foi fornecida de forma “*topdress*” antes do fornecimento da ração, no período matutino às 08:00h. Dessa forma, para reduzir a seleção pelos animais, foi misturada manualmente 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 acetilação de 86,30% g/mL de densidade aparente; pH de 6,35 e viscosidade <200 cPs a 20°C (Polymar Indústria, Comércio Importação e Exportação Ltda., Fortaleza, CE). A dosagem foi selecionada para fornecer aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal, com base em estudo anterior com bovinos de corte (ARAÚJO et al., 2015) e ainda apoiado por experimentos desenvolvidos com vacas em lactação por Mingoti et al. (2016) e, por Zanferari et al. (2018).

2.3 Coletas de amostras e análises laboratoriais

A forragem, os ingredientes e as amostras de sobras foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72h), moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1-mm e avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS; ID: 920.15), cinzas (MM; ID 942.05), proteína bruta (PB = N × 6,25; ID: 984.13), extrato etéreo (EE; ID: 920.39) e fibra em detergente ácido e lignina (FDA e LIG; ID: 973.18) de acordo com os métodos propostos pela AOAC (2000). As amostras foram ainda analisadas quanto aos teores de fibra em detergente neutro (FDN), com o auxílio de uma autoclave usando termoestável alfa-amilase e nenhuma adição de sulfito de sódio no detergente. Os teores de nitrogênio insolúveis em detergente neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foram determinados de acordo com Licitra et al. (1996).

Além disso, as amostras de ingredientes, sobras e fezes foram moídas em partículas de 2-mm e posteriormente armazenadas em potes plásticos para posteriores avaliações dos teores de fibra em detergente neutro indigestível. As amostras foram acondicionadas em sacos de tecido- não tecido (TNT)(5×5 cm, tamanho de poro 50 µm, 100 g/m²) seguindo a recomendação de no máximo 100g de MS/m² (CASALI et al., 2008).

As amostras processadas foram então incubadas por 288h no rúmen de duas vacas canuladas recebendo a mesma dieta usada no ensaio de digestão (DETMANN et al., 2012). Após o período de incubação, os sacos foram lavados em água corrente, secos em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 h) e analisados quanto à concentração de FDN (MERTENS, 2002). A concentração de FDN_i foi calculada usando a seguinte equação, de acordo com Detmann et al. (2012):

$$iFDN (\%MS) = \frac{iFDN (g)}{MS (\%)} \times 100$$

O conteúdo de carboidratos não-fibrosos na dieta foi calculado usando a equação proposta por Hall (2000): $CNF = 100 - ((\%PB_{dieta} - \%PB_{ureia} + \%Ureia_{dieta}) + \%EE + FDN_{cp} + \%MM)$. Os carboidratos totais foram estimados com base na equação de Sniffen et al. (1992).

Os conteúdos de nutrientes digestíveis totais (NDT) dos ingredientes e dietas e a energia líquida da lactação (NEL) foram calculados de acordo com o NRC (2001).

2.4 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total

As vacas foram alimentadas duas vezes ao dia, às 08:00 e 15:00 h, em quantidades iguais, visando sobras entre 5 e 10% com base na alimentação do dia anterior. As quantidades de forragem e concentrado fornecidas e as sobras de cada vaca foram pesadas diariamente para calcular o consumo de ração. Amostras de forragem e ingredientes foram coletadas semanalmente e congeladas a -20°C . As amostras de sobras de cada vaca foram coletadas diariamente durante o período de coleta para gerar uma amostra composta e armazenadas a -20°C para posteriores análises laboratoriais.

Nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental, amostras fecais foram coletadas diretamente do reto três vezes ao dia (intervalos de 9 horas) (HAVARTINE e ALLEN, 2006), e congeladas a -20°C . Ao final de cada período experimental, amostras de cada vaca/período foram homogeneizadas para gerar uma amostra composta por período por vaca. Durante este período, amostras de volumoso e ingredientes foram coletadas ($\sim 300\text{g}$) e armazenadas a -20°C .

As amostras de fezes e ingredientes foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72h), moídas em moinho tipo Willey para passar por uma peneira de 1-mm e analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), e teores de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com os métodos da AOAC (2000) descritos posteriormente.

A excreção fecal total de cada animal foi determinada com base na concentração de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) usada como marcador interno, conforme metodologia anteriormente descrita. Posteriormente, os coeficientes de digestibilidade foram calculados usando a seguinte equação:

$$CD = \{[\text{ingestão (kg/dia)} - \text{produção fecal (kg/dia)}] \div \text{ingestão (kg/dia)}\} \times 100.$$

2.5 Fermentação ruminal

No dia 20 de cada período experimental, as amostras de líquido ruminal foram obtidas pela combinação de 5 alíquotas coletadas em 5 pontos diferentes no rúmen em sete tempos conforme descrito a seguir: 0 horas (antes da alimentação) e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a alimentação. O líquido ruminal foi utilizado para determinação dos valores de pH, concentração de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis.

As amostras de líquido ruminal foram retiradas para leitura imediata do pH, utilizando-se potenciômetro. Após a leitura, as amostras foram colocadas em tubos de centrifuga e então centrifugadas (2500-3000 r.p.m., 15 minutos). Posteriormente, 2 mL dessa amostra foram adicionadas a 1 mL de solução de H₂SO₄ 1N e acondicionadas em freezer à -20°C, até a realização das análises.

As amostras para análise de AGV foram descongeladas à temperatura ambiente e centrifugado (1300 x g por 20 min). Após centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio contendo 1 mL de solução 25% ácido metafosfórico foi adicionado para evitar qualquer atividade microbiana. Em seguida, os tubos foram identificados e congelados a -20°C para posteriores análises de AGV (acetato, propionato e butirato) por cromatografia líquida de acordo com a metodologia proposta por Mathew et al. (1997). Então, 1 µL de sobrenadante foi transferido para frascos cromatográficos e as leituras foram realizadas para cálculos de concentrações de AGV.

As concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foram avaliadas usando 0,5 mL de solução de tungstato de sódio a 10% (p / v) misturada com amostras de alíquota de 1,5 mL de fluido ruminal. As misturas foram centrifugadas imediatamente (1800 × g por 15 minutos em temperatura ambiente. (BRODERICK e KANG, 1980). Posteriormente, 50 µL do sobrenadante foram pipetados e combinados com os reagentes do kit comercial, seguindo a metodologia descrita (K047©, Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil). Os tubos foram tampados, submetidos a agitação e, colocados em banho-maria a 37°C por 5 minutos, após isso foi pipetado a solução oxidante para que fosse verificado a alteração da coloração. A leitura das amostras foi feita após terem atingido a temperatura ambiente, com auxílio de espectrofotômetro (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®) com absorbância com comprimento de onda de 600 nm.

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

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

2.6 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

A urina foi coletada nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental, na forma *spot*, a cada 9 horas, totalizando 8 amostras por vaca em um intervalo de 72 horas. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis, foram filtradas e alíquotas de 10 mL foram adicionadas à 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N (VALADARES et al., 1999), para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas, precipitação do ácido úrico e volatilização do nitrogênio, após isso as amostras foram armazenadas a -20°C para posteriores análises de creatinina, derivados de purina e nitrogênio total. Este último foi determinado pelo método de Kjeldahl utilizando-se 2 mL de urina.

A creatinina (ID: K067), o ácido úrico (ID: K139) e proteínas totais (ID: K031) foram determinados através de kits comerciais da Bioclin (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras foram realizadas com auxílio do espectrofotômetro semi-automático (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®). 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 concentração de alantoína na urina e no leite foram analisadas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). As amostras de leite (10 mL) foram misturadas com 5 mL de solução de ácido tricloroacético (25%), descansadas por 5 minutos e filtradas através de filtro de papel (14 µm de tamanho) para obter amostras de leite desproteinizadas que foram transferidas para os tubos Eppendorf de 2,5 mL e armazenados a -20°C para o ensaio de alantoína adicional.

A excreção total de derivados de purina (DP, mmol / dia) foi calculada como a soma da alantoína e da quantidade de ácido úrico excretada na urina e no leite (ORELLANA BOERO et al., 2001). Os derivados de purina absorvidos (PDabs, mmol / dia) foram calculados da seguinte forma:

$DPabs = (DP - 0,385 \times PC^{0,75}) / 0,84$, em que PC = peso corporal, 0,84 representa a recuperação de DPabs DP e $0,385 \times PC^{0,75}$ a excreção endógena da DP (CHEN E GOMES, 1992).

A síntese ruminal de nitrogênio (Nmicrams N / dia) foi calculada com base nos derivados de purina absorvidos, usando a equação de Chen e Gomes (1992):

$$Nmic = (70 \times PDabs) / (0,83 \times 0,134 \times 1000),$$

considerando 70 como N conteúdo de derivados de purina (mg N / mol), 0,134 a relação de derivados de Npurina / N microbiana (VALADARES et al., 1999), e 0,83 a digestibilidade intestinal

de purinas microbianas. A síntese proteica microbiana foi estimada a partir destas concentrações considerando a excreção molar de alantoína e ácido úrico em amostras de urina, segundo Chen e Gomes (1992).

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido (N-total) e o total de nitrogênio excretado nas fezes (N-fezes), urina (N-urina), no leite e nos alimentos. A determinação do nitrogênio total nas fezes e na urina foi feita segundo metodologia da AOAC (2000)($N \times 6.25$; método 984.13).

2.7 Metabólitos sanguíneos

Amostras de sangue (10mL) foram coletadas das vacas no dia 21 de cada período experimental por punção da artéria ou veia coccígea, uma única vez, sempre às 08:00 h. Dessa forma, as coletas foram realizadas anteriormente ao fornecimento das dietas da manhã, para dosagem de metabólitos e após a ordenha da manhã, com auxílio de tubos (Vacutainer®) contendo solução anticoagulante (EDTA).

Imediatamente após coleta, os tubos foram refrigerados até serem submetidos à centrifugação com auxílio de centrífuga (Daiki, 4000 r.p.m.), à 3000 r.p.m. durante 15 minutos e a 5°C, para a separação do soro. O soro obtido foi transferido para Eppendorfs®, identificados e armazenados a -20°C, para posteriores avaliações.

Foram feitas análises de glicose (ID: K082), proteínas totais (ID: K031), albumina (ID: K040), colesterol total (ID: K083), colesterol HDL (ID: K015), ureia (ID: K047) e as enzimas hepáticas aspartato-aminotransferase (AST)(ID: K048) e gama-glutamilttransferase (GGT)(ID: K080) com auxílio de kits comerciais da marca Bioclin (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras foram realizadas com auxílio do espectrofotômetro semi-automático (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®) e conforme metodologias descritas pelo fabricante.

O nitrogênio ureico no sangue foi feito pela conversão dos valores de ureia, foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667. As absorbâncias de cada metabólito sanguíneo foram mensuradas com auxílio de espectrofotômetro.

2.8 Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia às 06:00 e 14:00h. A produção de leite foi registrada em medidor automático (MM6®) para realizar o acompanhamento da produção dos animais ao longo do experimento.

A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC para gordura) de acordo com a equação proposta por Sklan et al. (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,165 \times \text{teor de gordura do leite}) \times \text{produção de leite (kg/dia)}$. O leite com correção para energia (LCE) foi calculado usando a equação descrita pelo Dairy Records Management System (2014) onde $LCE = 0,327 \times \text{produção de leite (kg/dia)} + 12,86 \times \text{produção de gordura (kg/dia)} + 7,65 \times \text{produção de proteína (kg/dia)}$.

Nos dias 15, 16 e 17 de cada período experimental, amostras de leite foram coletadas diretamente do medidor e transferidas para frascos plásticos e analisadas pelo LACTOSCAN (Entelbras®, São Paulo, Brasil) quanto à composição do leite através dos teores de gordura, proteína, lactose segundo Campanile et al. (2003). O cálculo extrato seco total (EST) foi obtido a partir do Disco de Ackermann, e o extrato seco desengordurado (ESD) pela subtração do valor do EST e o teor de gordura (BRASIL, 2006). Além disso, as amostras foram coletadas e, em seguida, liofilizadas a -43°C por 96 h para posteriores análises do perfil de ácidos graxos do leite.

Os lipídios extraídos de amostras de leite foram metilados usando hexano como solvente de extração. Metóxido de sódio e cloreto de acetila foram usados como catalisadores básicos e ácidos, respectivamente (KRAMER et al., 1997). Um cromatógrafo a gás (Focus GC-Thermo Scientific, Milão, Itália) equipado com um detector de ionização de chama (CG-DIG) e uma coluna capilar SP-2560 (Supelco, 100 m \times 0,25 mm \times 0,2 μm) foram usados para quantificar os ésteres metílicos de ácidos graxos. O cromatógrafo foi configurado da seguinte forma: temperaturas do injetor e do detector ajustadas para 250°C e 280°C , respectivamente, e uma razão de divisão de 30:1. A temperatura inicial do forno era de 140°C , elevada a $1^{\circ}\text{C} / \text{min}$ até atingir 220°C e mantida por 25 minutos. O gás hidrogênio foi usado como gás de arraste (taxa de fluxo de 1,5 mL / min). As injeções (1 μL) foram realizadas em duplicata para cada extração. A identificação putativa de ésteres metílicos de ácidos graxos foi feita com base nos tempos de retenção dos padrões de AG (GLC-674, Nu-Chek Prep, Inc.). O resultado foi obtido através da normalização das áreas e expresso em mg / 100 mg de ácidos graxos.

2.9 Balanço de energia

O consumo de energia digestível (CED) foi obtido por meio do coeficiente de digestibilidade das rações experimentais e do consumo de energia bruta, de acordo com os valores de energia obtidos para os ingredientes e a silagem de milho (HARVATINE e ALLEN, 2006a).

O consumo de energia líquida (CEL), os valores de energia líquida de produção (ELP), energia líquida de ganho (ELg), e mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foram calculados de acordo com as equações do NRC (2001), a seguir:

$$\text{CEL (Mcal/dia)} = 0,703 \times \text{EM (consumo)} - 0,19 + \{[(0,097 \times \text{EM (consumo)} + 0,19)/97] \times [\text{EE} - 3]\};$$

$$\text{EM (consumo)} = 1,01 \times (\text{ED (consumo)} - 0,45) + 0,0046 \times (\text{EE} - 3)$$

onde: EM = energia metabolizável; EE = extrato etéreo; ED = energia digestível.

Os valores de energia líquida de produção (ELp) foram calculados utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{ELp (Mcal/dia)} = \text{produção de leite (kg)} \times (0,0929 \times \text{G\%} + 0,0563 \times \text{pv\%} + 0,0395 \times \text{lactose\%})$$

onde: G% = teor de gordura no leite; pv = teor de proteína verdadeira do leite.

A eficiência de utilização de energia foi calculada de acordo com Harvatine e Allen (2006a) da seguinte forma:

$$\text{Eficiência produção de leite} = \text{EL manutenção} = \text{EL (consumo)} - \text{EL(ganho PV)} - \text{EL(leite)};$$

$$\text{Eficiência lactação} = \text{EL produção de leite} + \text{EL ganho de PV} / \text{Consumo de EM}.$$

2.10 Fluxo omasal de nutrientes

Nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental, foram coletadas amostras das digestas omasal e de fezes a cada 9 horas, totalizando 8 amostras por vaca em um intervalo de 72 horas, com o objetivo de representar o fluxo real da digesta. Dessa forma, foi obtido um total de oito amostras representativas, representando um período de 24 horas em 3 dias, por animal, por período experimental, de acordo com Krizsan et al. (2010).

A amostragem de digesta omasal foi realizada por meio de sucção, com auxílio de bomba de vácuo, uma mangueira acoplada à bomba de vácuo, foi inserida no omaso pela cânula ruminal e então foram succionados 750 mL de digesta por cada horário de coleta, utilizando a técnica de amostragem desenvolvida por Huhtanen et al. (1997) e modificada por Ahvenjärvi et al. (2000). As amostras foram

acondicionadas em garrafas plásticas e congeladas a -20°C para posteriores análises. As fezes foram coletadas direto da ampola retal, acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises laboratoriais.

Após o período experimental, todas as amostras da digesta omasal e das fezes foram descongeladas e as oito amostras de cada material coletado foram homogeneizadas formando uma amostra composta por animal e por período. Posteriormente, foram pesadas (kg) e em seguida, 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 (55°C por 72 horas). Então, foram moídas em moinhos tipo Willey providos de peneiras de crivo de 1 e 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:

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

2.11 Dinâmica Ruminal

Para determinação da cinética ruminal, todo o conteúdo do rúmen foi retirado manualmente através de cânula ruminal 4 horas e meia após a alimentação no 8º dia, de cada período experimental (HARVATINE e ALLEN, 2006b). 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 com auxílio de malha (1,0 mm de porosidade) com o objetivo de separar o conteúdo sólido do líquido, para determinação do tamanho médio de partícula. Ambas as frações (sólida e líquida) foram pré-secas (55°C por 72h) 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 as equações propostas por Oba e Allen (2003):

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

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

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

As digestibilidades aparentes da MS e MO no rúmen foram calculadas pela seguinte equação:

$$\text{Digestibilidade ruminal (\%)} = \frac{\text{consumo } \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}}\right) - \text{fluxo omasal } \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}}\right)}{\text{consumo } \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}}\right)}$$

2.12 Indicadores para reconstituição da digesta verdadeira

A determinação do fluxo de matéria seca e nutrientes da digesta foi baseada na concentração do indicador na digesta e na dieta fornecida. Foi utilizado o uso da técnica de reconstituição da digesta pelo uso do sistema de duplo indicador de acordo com France e Siddons (1986) onde foi considerado: as concentrações de cobalto EDTA (CoEDTA), e FDN indigestível (FDNi) para as fases líquida e sólida respectivamente. Esta técnica é baseada na hipótese de que o fluxo da digesta é similar para qualquer um dos indicadores fornecidos, desde que a amostra coletada seja verdadeiramente representativa do fluxo da digesta que passa pelo local da amostragem.

As concentrações de CoEDTA, e FDN indigestível (FDNi) nas fases líquida e sólida respectivamente foram misturadas e re combinadas com base na matéria seca e corrigidas nas proporções da digesta omasal baseada no tipo de marcador (FRANCE e SIDDONS, 1986).

O Cobalto-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Úden et al. (1980), o qual foi diluído em água para infusão, totalizando uma solução de 120 mL com 16 g de Co-EDTA (4 mg/kg/PV de Co)(KRIZSAN et al., 2010). A administração, via fistula ruminal, foi realizada cinco dias antes do início da coleta da digesta omasal até o seu término, em quatro doses iguais de 30 mL as 0:00h; 6:00h; 12:00h e 18:00h, conforme Krizsan et al. (2010), nos dias experimentais 12 a 18.

2.13 Análises estatísticas

Os resultados de consumo, digestibilidade aparente de nutrientes do trato total, fermentação ruminal, balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, metabólitos sanguíneos, produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite, balanço de energia, caracterização ruminal e fluxo

omasal de nutrientes e cinética ruminal foram analisados sem medidas repetidas ao longo do tempo usando o Procedimento PROC MIXED de Estatística Software de sistema de análise (versão 9.4, SAS Inst. Inc., Cary, NC) de acordo com um delineamento em quadrado latino 5×5 ($n = 5$ vacas em lactação) com base no seguinte modelo:

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

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 presumido $NID \sim (0, \sigma^2)$.

O pH ruminal, assim como as demais variáveis de fermentação ruminal foram analisadas de acordo com o delineamento Quadrado Latino 5×5 , com os tempos de amostragem dentro de um dia considerados como medições repetidas no tempo, usando o PROC MIXED do SAS, e o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_m + (T \times D)_{mk} + W_{ijklm}$$

Onde Y_{ijklm} = valor 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), T_m = efeito fixo do tempo de amostragem ($m = 1$ a 8), $T_m \times D_k$ = efeito fixo da interação entre dieta e tempo e, ϵ_{ijk} foram descritos anteriormente e W_{ijklm} = erro aleatório associado ao efeito de tempo pressuposto $NID \sim (0, \sigma^2)$;

Para avaliação das diferenças entre as dietas foram analisados os seguintes contrastes ortogonais: $C1 = (CON \text{ vs. } OS + GS + OSQ + GSQ)$; $C2 = (OS + GS \text{ vs. } OSQ + GSQ)$; $C3 = (OS \text{ vs. } GS)$; $C4 = (OSQ \text{ vs. } GSQ)$. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância adotando-se o nível de significância de 5% e, as médias avaliadas por meio do procedimento do LSMEANS do SAS.

3. RESULTADOS

3.1 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total

Maiores consumos de PB ($P = 0,007$), FDN_{pd} ($P = 0,036$), CNF ($P = 0,007$), foram observados em vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa em comparação aos animais alimentados com a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 4).

Tabela 4 - Consumo de matéria seca e nutrientes em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Kg/dia										
MS ⁴	14,32	14,40	13,67	15,42	14,71	0,34	0,614	0,023	0,216	0,230
MO ⁵	13,12	13,23	12,63	14,16	13,53	0,32	0,539	0,030	0,280	0,255
PB ⁶	2,31	2,38	2,42	2,74	2,54	0,07	0,007	0,002	0,666	0,030
EE ⁷	0,94	0,93	0,83	0,98	0,88	0,02	0,117	0,009	0,002	0,002
FDN ⁸	5,36	4,97	4,48	5,31	5,06	0,16	0,138	0,068	0,163	0,443
FDNi ⁹	1,59	1,50	1,23	1,60	1,47	0,06	0,107	0,028	0,017	0,213
FDNpd ¹⁰	20,44	19,97	22,58	22,39	22,09	0,87	0,036	0,077	0,003	0,687
CT ¹¹	9,89	9,93	9,36	10,43	10,11	0,26	0,844	0,064	0,211	0,467
CNF ¹²	5,36	5,84	5,69	6,06	5,95	0,19	0,007	0,116	0,472	0,609
NDT ¹³	10,66	10,89	10,18	11,64	10,90	0,26	0,476	0,029	0,120	0,101
%PC ¹⁴										
MS	4,08	4,15	3,90	4,44	4,26	0,10	0,516	0,032	0,210	0,357
FDN	1,54	1,42	1,28	1,53	1,45	0,04	0,144	0,069	0,175	0,473

¹CON = 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; ³Significância declarada em 0,05, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ). ⁴Matéria seca; ⁵ Matéria orgânica; ⁶Proteína bruta; ⁷Extrato etéreo; ⁸Fibra em detergente neutro; ⁹Fibra em detergente neutro indigestível; ¹⁰Fibra em detergente neutro potencialmente digestível; ¹¹Carboidratos totais; ¹²Carboidratos não-fibrosos; ¹³Nutrientes digestíveis totais; ¹⁴Porcentagem do peso corporal.

Em contrapartida, os animais alimentados com as dietas com suplementação lipídica com quitosana (OSQ e GSQ) consumiram maiores quantidades de MS ($P = 0,023$), MO ($P = 0,030$), PB ($P = 0,002$), EE ($P = 0,009$), FDNi ($P = 0,028$), NDT ($P = 0,029$), expressos em Kg/dia e, de MS (expresso em %PC) quando comparado aos animais alimentados com as dietas com suplementação lipídica sem quitosana (OS e GS)(Contraste 2). As vacas alimentadas com a dieta OS consumiram maiores quantidades de EE ($P = 0,002$) e FDNi ($P = 0,017$) em comparação às vacas alimentadas com a dieta GS (Contraste 3), com exceção do FDNpd ($P = 0,003$), que o consumo foi maior para as vacas alimentadas com a dieta GS (Tabela 4). Apesar disso, não houve efeito das dietas nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e demais frações nutricionais avaliadas ($P > 0,05$)(Tabela 5).

Tabela 5 - Digestibilidade aparente total do trato da matéria seca e nutrientes em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item (%)	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
MS ⁴	69,80	70,46	72,85	68,91	71,46	0,69	0,512	0,338	0,272	0,246
MO ⁵	70,95	71,15	73,69	69,63	70,91	0,75	0,844	0,244	0,325	0,617
PB ⁶	79,98	74,07	79,98	80,61	78,80	1,50	0,660	0,418	0,215	0,696
EE ⁷	92,23	91,30	88,11	90,60	87,78	1,63	0,439	0,872	0,482	0,534
FDN ⁸	49,13	47,83	51,97	46,42	51,85	1,69	0,907	0,794	0,325	0,204
CNF ⁹	81,04	79,83	80,70	78,06	77,87	0,78	0,312	0,185	0,711	0,935
CT ¹⁰	66,86	68,47	70,81	64,84	68,57	0,94	0,622	0,229	0,489	0,277
NDT ¹¹	73,70	71,74	74,06	71,40	72,43	0,70	0,448	0,516	0,288	0,629

¹CON = 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; ³Significância declarada em 0,05, de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); ⁴Matéria seca; ⁵Matéria orgânica; ⁶Proteína bruta; ⁷Extrato etéreo; ⁸Fibra em detergente neutro; ⁹Carboidratos não-fibrosos; ¹⁰Carboidratos totais; ¹¹Nutrientes digestíveis totais.

3.2 Fermentação ruminal

Houve efeito de tempo ($P < 0,05$) (horas após alimentação) em boa parte dos parâmetros avaliados, com exceção das concentrações de propionato e relação acetato propionato, que não foram influenciadas (Tabela 6). Maiores concentrações de AGV total ($P = 0,021$), acetato em Mmol ($P = 0,002$), acetato em % ($P = 0,021$), propionato ($P = 0,032$) e metano ($P = 0,001$) foram observados nas vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados comparada a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 6).

Maiores concentrações de N-NH₃ ($P = 0,003$) e acetato ($P = 0,013$) foram observados para as vacas alimentadas com as dietas com suplementação lipídica contendo quitosana (OSQ e GSQ) em comparação aos animais alimentados com as dietas com suplementação lipídica, sem inclusão de quitosana (OS e GS)(Contraste 2)(Tabela 6). As vacas alimentadas com a dieta GS apresentaram maiores concentrações de pH ($P = 0,028$) N-NH₃ ($P = 0,008$), acetato (Mmol) ($P = < 0,001$), propionato (Mmol) ($P = < 0,001$), C2:C3 ($P = < 0,001$) e CH₄ ($P = 0,005$) em relação as vacas alimentadas com a dieta OS (Tabela 6).

Os animais alimentados com a dieta GSQ apresentaram maiores concentrações de N-NH₃ ($P = 0,002$), propionato (%) ($P = 0,008$), propionato (Mmol) ($P = 0,004$), e relação C2:C3 ($P = 0,002$), aos animais alimentados com a dieta OSQ com exceção das concentrações de acetato (Mmol) ($P = 0,008$), que foram aumentadas para a dieta GSQ.

Tabela 6 - Parâmetros de fermentação ruminal e produção de metano em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³					
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		Tempo*	Inter**	C1	C2	C3	C4
pH	6,28	6,21	6,35	6,27	6,25	0,03	<0,001	0,869	0,916	0,642	0,028	0,692
N-NH ₃ (mg/dL) ⁴	13,83	15,02	12,23	17,45	14,20	0,42	<0,001	0,399	0,277	0,003	0,008	0,002
Mmol												
AGV Total ⁵	40,03	42,28	40,70	43,29	42,38	0,52	<0,001	0,581	0,021	0,103	0,176	0,436
Acetato	27,88	29,07	29,87	30,32	30,45	0,36	<0,001	0,714	0,002	0,013	0,328	0,875
Propionato	8,22	9,30	6,81	8,77	7,73	0,16	<0,001	0,870	0,830	0,484	<0,001	0,008
Butirato	3,93	3,90	4,02	4,20	4,21	0,09	<0,001	0,939	0,431	0,170	0,626	0,979
AGV (mmol/100 mmol)												
Acetato	69,87	68,87	73,57	70,17	72,06	0,27	0,012	0,986	0,021	0,832	<0,001	0,008
Propionato	20,43	21,94	16,71	20,21	18,26	0,26	0,916	0,997	0,032	0,850	<0,001	0,004
Butirato	9,69	9,19	9,72	9,61	9,68	0,15	0,004	0,999	0,714	0,572	0,274	0,896
C2:C3 ⁶	3,59	3,24	4,51	3,51	4,00	0,06	0,877	0,999	0,071	0,288	<0,001	0,002
CH ₄ (g/ 100 g de AGV total) ⁷	11,86	12,08	13,18	12,91	13,26	0,17	<0,001	0,696	0,001	0,096	0,005	0,369

¹CON = 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. ³Significância declarada em 0,05, contrastes das dietas: C1 = controle vs. suplementação com óleo (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana vs. suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = óleo de soja vs. grão de soja (OS vs. GS); C4 = óleo de soja vs. grão de soja, ambos com quitosana (OSQ vs. 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 butirico × 0.40).

Observa-se que a inclusão de fontes de lipídios e quitosana no tempo influenciaram os valores de pH ruminal (Figura 1) e a concentração de nitrogênio amoniacal em vacas Jersey no terço médio da lactação, promovendo redução na produção deste componente (Figura 2).

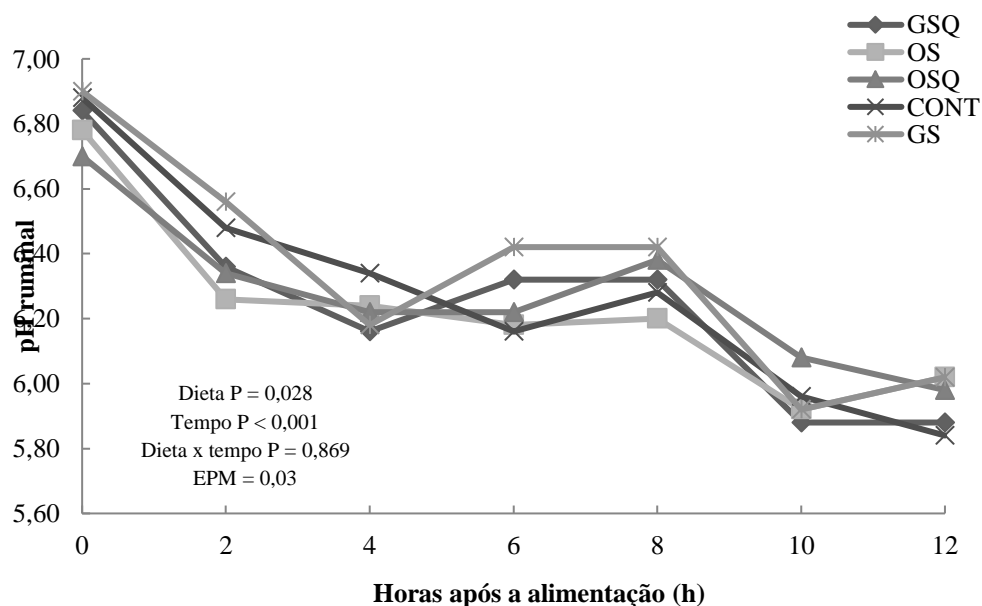


Figura 1. Valores de pH ruminal observados na digesta em vacas Jersey em lactação alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana. CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana.

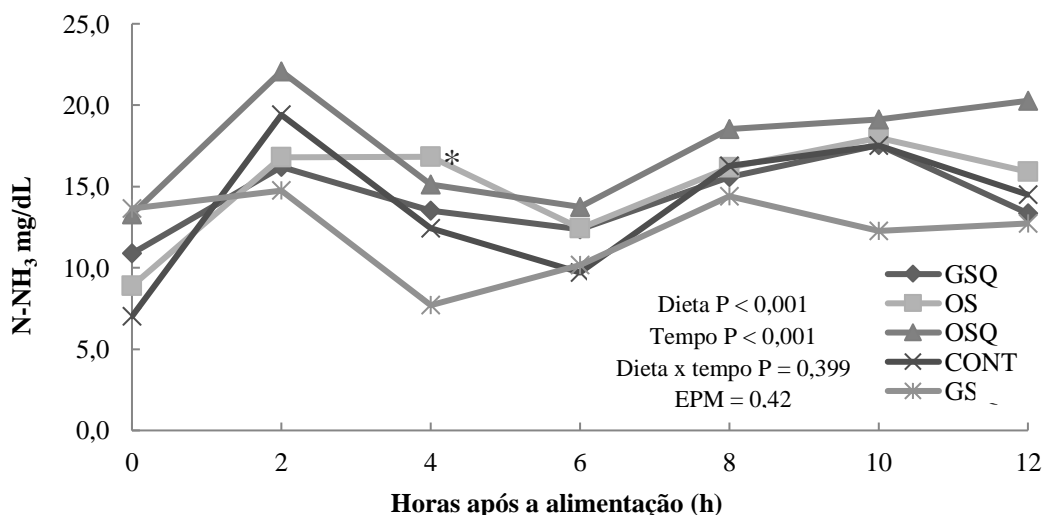


Figura 2. Concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃ mg/dL) na digesta ruminal de Jersey em lactação alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados e quitosana. CON = Controle; OS = óleo de soja; GS = grão de soja; OSQ = óleo de soja mais quitosana; GSQ = grão de soja mais quitosana. *valor de diferença entre as dietas no tempo 4 horas após a alimentação.

3.3 Balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

Maiores consumos de N ($P = 0,006$) foram observados nas vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados comparada a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 7). Os animais alimentados com as dietas GSQ e OSQ apresentaram maiores consumos de N ($P = 0,001$) em relação aos animais alimentados com as dietas GS e OS. As vacas alimentadas com a dieta OSQ apresentaram maiores consumos de N ($P = 0,038$) em relação aos animais alimentados com a dieta GSQ. As vacas alimentadas com a dieta OSQ apresentaram maiores excreções N urinários de N ($P = 0,010$) em relação aos animais alimentados com a dieta GSQ.

Tabela 7 – Balanço de nitrogênio (N) em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
N - ingerido										
g / dia	368,9	380,3	386,5	438,0	407,5	10,6	0,006	0,001	0,640	0,038
N - urinário										
g / dia	144,9	167,7	139,6	176,0	120,3	7,83	0,717	0,696	0,190	0,010
g / 100 g	50,4	45,4	43,9	41,5	29,6	3,38	0,140	0,143	0,861	0,175
N - fecal										
g / dia	73,8	95,4	71,6	83,0	87,3	10,6	0,468	0,896	0,206	0,812
g / 100 g	20,0	25,9	17,9	19,0	21,2	1,58	0,804	0,610	0,138	0,667
N - leite										
g / dia	108,4	111,7	105,1	114,4	107,4	3,96	0,809	0,601	0,333	0,305
g / 100 g	29,4	29,4	27,0	26,2	26,3	0,80	0,174	0,178	0,216	0,975
Balanço - N										
g / dia	26,4	20,2	69,5	67,8	92,4	10,0	0,128	0,065	0,064	0,283
g / 100 g	8,31	6,39	17,51	14,28	22,82	2,13	0,198	0,122	0,071	0,127
Eficiência – N ⁴	0,26	0,28	0,26	0,26	0,25	0,01	0,980	0,114	0,161	0,365

¹CON = 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; ³Significância declarada em 0,05, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); ⁴Consumo de N / excreção de N no leite.

Menores eficiências de SPM (PB/kg NDT) ($P = 0,032$) e purinas totais ($P = 0,018$) foram observados nas vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados comparada a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 8).

Tabela 8 - Concentrações de derivados de purina e síntese de proteína microbiana em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item (%)	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Alantoína										
Leite (Mmol/dia)	2,43	1,89	2,91	3,59	2,85	0,57	0,679	0,317	0,377	0,520
Leite (Mmol/litro)	1,12	1,26	1,58	1,34	1,28	0,08	0,112	0,384	0,093	0,751
Urina (Mmol/dia)	230,0	152,5	182,8	205,6	180,7	13,3	0,060	0,257	0,337	0,426
Urina (Mmol/litro)	12,4	9,99	12,2	10,3	10,5	0,71	0,277	0,638	0,266	0,938
%PT ⁴	92,5	89,2	89,1	89,6	90,8	0,69	0,018	0,289	0,931	0,381
Ácido úrico										
Dia	21,4	19,4	22,9	25,6	21,2	1,21	0,766	0,375	0,319	0,228
Litro	1,12	1,26	1,58	1,34	1,28	0,08	0,112	0,384	0,093	0,751
MmoLlitro										
PT	251,4	172,1	206,3	231,4	202,1	13,8	0,080	0,248	0,307	0,378
Pabs ⁵	282,8	188,6	229,3	259,3	224,2	16,5	0,081	0,248	0,307	0,376
Eficiência										
Nit. microb. (g/dia) ⁶	177,9	118,7	144,3	163,2	141,1	10,4	0,081	0,248	0,307	0,376
PB. microb. (g/dia) ⁷	1112,4	742,1	902,1	1020,1	882,1	64,9	0,081	0,248	0,307	0,376
PB (kg de NDT)	119,1	69,3	90,8	89,8	90,0	6,80	0,032	0,428	0,233	0,991

¹CON = 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. ³Significância declarada em 0,05, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); ⁴purinas totais; ⁵purinas absorvidas; ⁶nitrogênio microbiano; ⁷proteína bruta microbiana.

3.4 Metabólitos sanguíneos

Maiores concentrações de GGT ($P = 0,032$) foram observados nas vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa comparada a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 9). Os animais alimentados com a dieta GS apresentaram menores concentrações de ureia ($P = 0,016$) e GGT ($P = 0,012$) comparados aos animais alimentados com a dieta OS. As vacas alimentadas com a dieta GSQ apresentaram menores concentrações de ureia ($P = 0,22$) e GGT ($P = 0,035$) comparados aos animais alimentados com a dieta OSQ (Tabela 9).

Tabela 9 - Concentrações de metabólitos sanguíneos em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
mg/dL										
Ureia	49,2	52,6	38,0	58,2	44,7	2,54	0,835	0,108	0,016	0,022
Glicose	56,3	54	49,9	56,9	57,2	1,65	0,719	0,255	0,509	0,959
Colesterol	175,6	153,6	163,0	161,4	169,7	7,73	0,234	0,469	0,503	0,556
TGL ⁴	46,7	41,5	44,2	44,3	41,5	2,60	0,242	0,980	0,502	0,476
HDL ⁵	149,5	113	133,5	133,6	115,8	10,1	0,343	0,950	0,541	0,593
PT ⁶ , U/L	7,4	7,6	7,5	7,3	7,6	0,10	0,545	0,630	0,888	0,301
GGT ⁷ , U/L	32,1	30,9	23,5	30,5	24,7	1,76	0,032	0,834	0,012	0,035

¹CON = 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; ³Significância declarada a 0,05, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); TGL⁴ = Triglicerídeos; ⁵Density Lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade); ⁶Proteínas totais; ⁷Gama-glutamilttransferase.

3.5 Produção, composição e ácidos graxos do leite

Não foram observados efeitos das dietas na produção e composição do leite em vacas Jersey em lactação ($P>0,05$) (Tabela 10). Similarmente, também não foi verificado efeito das dietas em nenhuma das variáveis de desempenho ($P>0,05$).

Tabela 10 – Produção e composição do leite em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Produção (kg/dia)										
Produção de Leite	18,22	18,06	17,60	18,78	17,12	0,59	0,663	0,859	0,631	0,100
PLC (3,5%) ⁴	21,68	21,85	20,75	20,44	19,51	0,95	0,506	0,345	0,575	0,683
Gordura	0,848	0,862	0,816	0,770	0,736	0,05	0,511	0,234	0,644	0,732
Proteína	0,692	0,716	0,680	0,720	0,688	0,03	0,720	0,843	0,407	0,459
Lactose	0,990	1,034	0,964	1,026	1,234	0,07	0,589	0,297	0,688	0,244
EST ⁵	2,69	2,77	2,58	2,67	2,57	0,11	0,815	0,709	0,389	0,632
ESD ⁶	1,84	1,90	1,79	1,90	1,83	0,07	0,822	0,806	0,355	0,576
Composição (%)										
Gordura	4,74	4,82	4,64	4,13	4,26	0,20	0,501	0,155	0,725	0,808
Proteína	3,83	3,98	3,82	3,86	4,01	0,06	0,280	0,685	0,123	0,141
Lactose	5,52	5,71	5,48	5,54	5,96	0,27	0,544	0,284	0,782	0,110
EST	14,97	15,42	14,80	14,40	14,94	0,33	0,882	0,388	0,384	0,446
ESD	10,21	10,59	10,16	10,26	10,69	0,16	0,349	0,612	0,136	0,142
Desempenho										
Eficiência ⁹	1,27	1,27	1,28	1,22	1,16	0,04	0,631	0,211	0,845	0,559
LCE ¹⁰	22,15	22,46	21,26	21,33	20,42	0,93	0,591	0,451	0,518	0,620

¹CON = 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 significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); Significância declarada a 0.05; ⁵Extrato seco total; ⁶Extrato seco desengordurado; ⁷Escore de condição corporal; ⁸Peso corporal; ⁹Produção de leite / consumo de matéria seca; ¹⁰Leite com energia corrigida: LCE = $0,327 \times$ produção de leite (kg/dia) + $12,86 \times$ produção de gordura (kg/dia) + $7,65 \times$ produção de proteína (kg/dia) foi calculada de acordo com o leite Dairy Records Management System (2014)

Menores concentrações de C16:0 ($P = <0,001$) e C18:1 *cis*-9 ($P = 0,011$) e, maiores concentrações de C4 ($P = 0,022$), C6 ($P = 0,001$), C8 ($P = <0,001$), C10 ($P = 0,002$), C12 ($P = 0,014$), C14 ($P = 0,015$), C18:1 *trans*-11 ($P = 0,001$), C18:1 *cis*-11 ($P = 0,029$), C18:2 *n6-cis* ($P = <0,001$), C18:3 *n3* ($P = <0,001$), CLA *c*-9, *t*-11 ($P = 0,001$), C20:4 ($P = 0,007$), <C16 ($P = 0,001$), >C16 ($P = 0,034$), foram observados no leite das vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa em comparação aos animais alimentados com a dieta controle (Contraste 1)(Tabela 11). As vacas alimentadas com a dieta GS apresentaram menores concentrações no leite do ácido graxo C18:1 *trans*-9 ($P = 0,001$), C18:1 *trans*-11 ($P = <0,001$), C18:1 *cis*-11 ($P = 0,007$), CLA *c*-9, *t*-11 ($P = <0,001$), saturados C18 ($P = 0,003$), total insaturados ($P = 0,004$) e relação I/S ($P = 0,006$) e maiores concentrações nos C18:2 *n6-cis* ($P = 0,003$), C18:3 *n*-3 ($P = 0,007$), <C16 ($P = 0,046$), total de saturados ($P = 0,006$), em relação às vacas alimentadas com a dieta OS (Contraste

3)(Tabela 11). Os animais alimentados com as dietas OSQ apresentaram maiores concentrações no leite de C18:1 *trans*-10 ($P = 0,002$), C18:1 *trans*-11 ($P = <0,001$), C18:2 *n6-cis* ($P = 0,003$), C18:3 *n3* ($P = 0,005$), CLA *c*-9, *t*-11 ($P = <0,001$), Saturados C18 ($P = 0,004$), total de saturados ($P = 0,008$), insaturados ($P = 0,004$) e relação I/S ($P = 0,005$) em relação aos animais alimentados com as dietas GSQ (Contraste 4)(Tabela 11).

Tabela 11 - Concentrações de ácidos graxos do leite em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item (g/100 AG)	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
C4:0	1,27	1,65	2,10	1,82	1,94	0,10	0,022	0,973	0,146	0,696
C6:0	1,32	1,70	1,97	1,80	1,88	0,07	0,001	0,941	0,061	0,584
C8:0	0,86	1,08	1,21	1,12	1,14	0,04	<0,001	0,836	0,836	0,715
C10:0	1,97	2,33	2,64	2,45	2,46	0,10	0,002	0,800	0,071	0,921
C12:0	2,26	2,55	2,87	2,65	2,68	0,12	0,014	0,737	0,108	0,885
C14:0	8,97	9,80	10,22	9,75	10,01	0,26	0,015	0,681	0,351	0,551
C14:1	0,38	0,33	0,35	0,38	0,35	0,02	0,484	0,496	0,595	0,416
C16:0	33,70	26,29	27,38	26,47	27,70	0,75	<0,001	0,674	0,204	0,204
C18:0	18,86	20,80	21,79	19,03	21,01	0,56	0,106	0,191	0,458	0,153
C18:1 <i>trans</i> -9	0,04	0,20	0,01	0,10	0,13	0,02	0,069	0,581	0,001	0,459
C18:1 <i>trans</i> -10	0,57	0,95	0,51	0,99	0,53	0,06	0,077	0,755	0,755	0,002
C18:1 <i>trans</i> -11	1,46	4,01	1,39	4,68	1,58	0,32	0,001	0,148	<0,001	<0,001
C18:1 <i>cis</i> -9	19,08	16,63	16,28	17,19	17,00	0,58	0,011	0,373	0,725	0,849
C18:1 <i>cis</i> -11	0,49	0,80	0,54	0,67	0,58	0,03	0,029	0,446	0,007	0,277
C18:2 <i>n6-cis</i>	1,70	2,35	3,04	2,29	2,99	0,13	<0,001	0,692	0,003	0,003
C18:3 <i>n6</i>	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25	0,01	0,645	1,000	0,469	0,884
C18:3 <i>n3</i>	0,22	0,29	0,36	0,27	0,35	0,02	<0,001	0,381	0,007	0,005
CLA <i>c</i> -9, <i>t</i> -11	0,35	0,78	0,31	0,85	0,36	0,05	0,001	0,273	<0,001	<0,001
CLA <i>t</i> -10, <i>s</i> -12	0,02	0,03	0,01	0,03	0,01	0,01	0,738	0,881	0,109	0,156
C20:4	0,09	0,11	0,12	0,10	0,11	0,01	0,007	0,405	0,153	0,153
Outros										
<C16	17,03	19,43	21,36	19,97	20,46	0,58	0,001	0,778	0,046	0,588
>C16	43,15	47,19	44,62	46,41	44,92	0,92	0,034	0,813	0,091	0,305
C16 total	33,70	26,29	27,38	26,47	27,70	0,75	<0,001	0,674	0,204	0,154
C18										
Insaturados C18	18,86	20,80	21,79	19,03	21,01	0,56	0,106	0,191	0,458	0,153
Saturados C18	24,19	26,28	22,71	27,28	23,79	0,71	0,307	0,160	0,003	0,004
Total										
Saturados	69,22	66,18	70,18	65,09	68,83	0,80	0,104	0,170	0,006	0,008
Insaturados	24,66	26,72	23,18	27,76	24,25	0,71	0,316	0,159	0,004	0,004
I/S ⁴	0,36	0,41	0,33	0,43	0,36	0,02	0,287	0,137	0,006	0,005

¹CON = 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; ³Significância declarada a 0,05; ⁴ Insaturados:Saturados; contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS+GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ).

3.6 Balanço de energia

Os animais alimentados com as dietas GSQ e OSQ apresentaram maiores consumos de energia líquida ($P = 0,010$) em relação aos animais alimentados com as dietas GS e OS (Contraste 2)(Tabela 12).

Tabela 12 – Utilização de energia em vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
CEL (Mcal /dia) ⁴	25,67	26,26	25,15	28,33	26,43	0,59	0,177	0,010	0,175	0,292
CED (Mcal /dia) ⁵	42,88	43,40	44,00	45,93	44,86	0,92	0,261	0,205	0,743	0,560
EL para ganho ⁶	4,17	4,61	4,31	7,16	5,20	0,63	0,416	0,189	0,867	0,275
EL de lactação	14,98	15,24	14,37	14,70	14,76	0,73	0,860	0,948	0,577	0,970
BE ⁷	6,52	6,42	6,47	6,46	6,45	0,09	0,075	0,695	0,334	0,733
Eficiência ⁸	0,35	0,35	0,32	0,32	0,32	0,01	0,474	0,592	0,451	1,000

¹CON = 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; ³Significância declarada a 0,05; contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ); ⁴Consumo energia líquida; ⁵Consumo energia digestível; ⁶Energia líquida; ⁷Energia de lactação disponível para manutenção = EL (ingestão) - EL (Ganho de PV) - EL (leite); ⁸(produção de leite EL + ganho de peso corporal EL) / ingestão de energia digestível. ⁷BE = balanço de energia.

3.7 Caracterização ruminal e fluxo omasal

As vacas alimentadas com a dieta GSQ apresentaram maiores valores de FDN ($P = 0,035$) no *pool* ruminal em relação às vacas alimentadas com a dieta OSQ (Tabela 13).

Tabela 13 - Caracterização ruminal e fluxo omasal de vacas alimentadas com as dietas contendo ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CO	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Peso (MN kg)	57,42	54,00	57,36	53,90	59,0	6,60	0,550	0,684	0,244	0,083
Volume (L)	66,00	63,00	68,00	61,00	64,00	9,71	0,538	0,308	0,234	0,466
Pool (kg)										
MS ⁴	7,30	7,21	7,22	6,03	6,42	1,03	0,210	0,613	0,055	0,174
MO ⁵	6,33	5,10	6,28	5,43	6,32	0,98	0,225	0,633	0,050	0,129
FDN ⁶	3,81	2,80	3,50	3,21	4,08	0,78	0,185	0,082	0,083	0,035
FDNi ⁷	1,80	1,51	1,78	1,63	1,88	0,34	0,528	0,421	0,189	0,228
Pool (% MS)										
MS ⁴	12,75	11,20	12,67	11,96	12,22	1,44	0,246	0,777	0,081	0,737
MO ⁵	86,38	84,58	87,14	84,63	87,39	3,03	0,730	0,895	0,133	0,109
FDN ⁶	51,64	46,32	48,66	49,87	56,85	6,96	0,709	0,060	0,571	0,107
FDNi ⁷	24,70	25,31	24,82	25,70	25,98	3,78	0,535	0,472	0,746	0,851
FDNpd ⁸	26,94	21,02	23,84	24,17	30,87	6,34	0,487	0,059	0,430	0,077
Digestibilidade										
MS %	50,00	47,56	45,38	48,39	49,01	7,38	0,573	0,561	0,686	0,909
MO %	69,17	69,26	62,98	66,81	66,78	8,31	0,542	0,864	0,273	0,996
FDN %	34,81	24,00	23,64	25,75	24,46	11,84	0,126	0,829	0,967	0,871
Fluxo omasal										
MS ⁴ (kg/dia)	7,10	7,54	7,36	8,02	7,49	1,15	0,373	0,544	0,795	0,446
FDNi ⁷ (kg/dia)	0,88	0,66	0,76	0,85	0,82	0,18	0,309	0,199	0,430	0,814

¹CON = 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. ³Significância declarada a 0,05; contrastes das dietas C1 = controle vs. suplementação com óleo (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = Suplementação de óleo e grão de soja sem quitosana vs. suplementação de óleo e grão de soja com quitosana (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = óleo de soja vs. grão de soja (OS vs. GS); C4 = óleo vs. grão de soja, ambos com quitosana (OSQ vs. GSQ); ⁴Matéria seca; ⁵Matéria orgânica; ⁶Fibra em detergente neutro; ⁷Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸Fibra em detergente neutro potencialmente disponível.

3.8 Dinâmica ruminal

Os animais alimentados com as dietas GS e OS apresentaram menores taxas de renovação ruminal %/h de MO (P= 0,031) em relação aos animais alimentados com as dietas OSQ e GSQ (Tabela 14). De forma semelhante às vacas alimentadas com a dieta OS apresentaram maiores valores de taxa de renovação ruminal %/h de MS (P= 0,005) em relação às vacas alimentadas com a dieta GS. As vacas alimentadas com a dieta GSQ apresentaram menores de taxa de digestão %/h de FDN (P= 0,034) e FDNpd (P= 0,039), e menor taxa de renovação ruminal %/h de MO (P= 0,038), FDN (P= 0,034) e FDNpd (P= 0,030) em relação às vacas alimentadas com a dieta OSQ.

Tabela 14 – Dinâmica ruminal de vacas alimentadas com dietas contendo fontes de ácidos graxos insaturados com ou sem associação a quitosana

Item	Dietas experimentais ¹					EPM ²	Valor-P ³			
	CON	OS	GS	OSQ	GSQ		C1	C2	C3	C4
Taxa digestão (% / h)										
MS ⁵	2,42	2,55	2,07	2,67	2,46	0,61	0,926	0,223	0,107	0,466
FDN ⁶	0,44	0,45	0,39	0,46	0,38	0,08	0,486	0,875	0,114	0,034
FDNpd ⁷	0,73	0,83	0,70	0,81	0,64	0,16	0,839	0,524	0,102	0,039
Renovação (% / h)										
MS	4,76	5,38	4,51	5,50	5,02	0,78	0,115	0,115	0,005	0,080
MO ⁸	0,63	0,65	0,61	0,70	0,64	0,08	0,393	0,031	0,079	0,038
FDN	0,44	0,45	0,39	0,46	0,38	0,08	0,486	0,875	0,114	0,034
FDNpd	0,60	0,70	0,57	0,67	0,52	0,14	0,705	0,402	0,050	0,030
Taxa de passagem (% / h)										
MS	2,34	2,82	2,43	2,83	2,55	0,46	0,201	0,789	0,215	0,368

¹CON = 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 significativa ao nível de 5%, contrastes das dietas: C1 = (CON vs. OS + GS + OSQ + GSQ); C2 = (OS + GS vs. OSQ + GSQ); C3 = (OS vs. GS); C4 = (OSQ vs. GSQ);

⁴Matéria seca; ⁶Fibra em detergente neutro; ⁷Fibra em detergente neutro potencialmente disponível; ⁸Matéria orgânica.

4. DISCUSSÃO

Observa-se que a inclusão da quitosana independentemente do tipo de fonte de ácidos graxos fez com que o consumo de MS fosse maior, contudo, não foi observado diferenças na digestibilidade da MS usando a quitosana e resultado semelhante foi observado por Paiva et al. (2016) utilizando doses de quitosana de 150 e 225 mg / kg de PC em vacas leiteiras.

Os maiores consumos de PB no Contraste 2 (OS + GS vs. OSQ + GSQ), observados nos animais suplementados com quitosana, podem ser explicados pelo policação da quitosana, o qual é carregado positivamente, o que permite que ele se ligue a moléculas carregadas negativamente, como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e metais pesados. Este fato pode aumentar a entrega de aminoácidos ao duodeno, aumentando assim a eficiência do uso de N. A quitosana afetar a fermentação ruminal, o que observamos na presente pesquisa (Tabela 6), bem como as bactérias ruminais responsáveis pela proteólise e desaminação porque a quitosana demonstra em pesquisas anteriores aumentar o nitrogênio amoniacal ruminal

(ARAÚJO et al., 2015), resultando em aumento do consumo de PB, o que observamos nessa pesquisa (Tabela 4).

Independente da inclusão ou não da quitosana, as vacas alimentadas com OS consumiram maiores quantidade de EE em relação as vacas alimentadas com GS, devido a proteção natural que o GS tem sobre os ácidos graxos. Assim, o OS tem liberação mais rápida, fazendo com que haja regulação quimiostática. Há redução da taxa de passagem contribuindo para a distensão do rúmen e, estimulação dos seus receptores físicos, que também promovem o término da ingestão de alimentos (ALLEN, 2000). De acordo com Barletta et al. (2016) as fontes lipídicas tendem a reduzir da taxa de passagem da MS em bovinos devido à maior permanência do alimento no rúmen, sem que o peso e volume do conteúdo ruminal seja alterado, decorrente da menor digestibilidade do alimento. Logo, esses animais apresentaram uma menor taxa de passagem da digesta, assim como ocorrido neste estudo com o uso de fontes de ácidos graxos insaturados com e sem quitosana.

Dietas com inclusão de lipídios acima de 7% na MS podem ter a digestibilidade da MO e FDN prejudicadas. Além disso, 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 lipídios não ultrapassar o recomendado, nesse estudo não foram observadas diferenças no coeficiente de digestibilidade de nutriente, mas foi observado maior concentração de AGV. Além disso, a quitosana também promoveu redução da formação de AGV, em comparação com as dietas contendo ácidos graxos com associação e sem associação a este aditivo, provavelmente devido à sua ação nas bactérias ruminais que resulta 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 às dietas contendo ácidos graxos fornecidas a vacas em lactação na concentração de AGV. 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 AGV, a produção de metano por vacas alimentadas com dietas contendo ácidos graxos foi menor.

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 AGV, ocorre redução do pH ruminal, voltando a se elevar à medida que os ácidos são absorvidos pela parede ruminal. Kong et al. (2010) relataram que quando o pH é menor do que o pKa (6,3– 6,5) das moléculas, a quitosana torna-se policatiónica, o que causa interação eletrostática entre a quitosana e os componentes aniônicos da superfície do microrganismo, embora, ao contrário, os efeitos hidrofóbicos e quelantes sejam responsáveis para a ação antibacteriana da quitosana quando o ambiente está acima do pKa.

A partir dos resultados do presente estudo, é possível afirmar que a inclusão de fontes de lipídios e quitosana influenciaram a concentração ruminal de N-NH₃ em vacas leiteiras, promovendo o aumento na produção deste componente (Figura 2). A inclusão do GS 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, consequentemente, isso promove redução nas concentrações de CNF, o que altera a disponibilidade de carbono para a síntese de proteína microbiana. Sendo assim, maior teor de N-amoniacal.

A quitosana pode alterar o perfil dos ácidos graxos voláteis (AGV) por aumentar a concentração de propionato (C3) e, assim, reduzir a produção de CH₄, diminuindo o NH₃ ruminal concentração e produção de gás. Além disso, a redução de CH₄ está ligada à quantidade de desacetilação presente na quitosana, que tem o potencial de alterar a permeabilidade das paredes celulares de *Archaea* metanogênicas (HARAHAP et al., 2020)

De acordo com Paiva et al (2016), a quitosana, quando utilizada na dose de 225 mg/kg de peso corporal (0,02% PC), atua como um modulador alternativo natural da fermentação ruminal, aumentando a concentração ruminal de propionato, a eficiência de utilização do nitrogênio e a produção de leite em vacas leiteiras. Além disso, a adição de quitosana para à modulação da fermentação pode alterar a rota de fermentação, favorecendo propionato e bactérias amilolíticas (JIMENEZ-OCAMPO et al., 2021).

O uso de fontes de lipídios, como o GS, para modulação da fermentação ruminal influencia a atividade microbiana, principalmente dos microrganismos degradadores de fibra, mas também de bactérias produtoras de amônia como *Prevotella ruminantium* e *P. 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 microrganismos, pode-se inferir que possivelmente o fornecimento de GS reduziu a população deste grupo de microrganismos e com isso, houve influência na produção de N-NH_3 (DOREAU e FERLAY, 1995).

Além disso, a adição de quitosana a uma dieta aumentou as concentrações de amônia aproximadamente 2 h após a alimentação, o que podemos observar na Figura 2. A quebra de amina (R-NH_2) em amônia (NH_3) é responsável pelo aumento das concentrações de amônia encontradas em dietas com quitosana (BELANCHE et al., 2016).

As concentrações de metano produzido no rúmen foram aumentadas com a adição de GS em relação a dieta OS. 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). Os protozoários, assim como as bactérias celulolíticas, formadoras de acetato, são produtores de H^+ , sendo assim, com a diminuição desses microrganismos, 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 ruminiais de acetato, levando à redução de metano.

Embora o mecanismo exato da quitosana no trato gastrointestinal das vacas não seja totalmente compreendido, as alterações na fermentação ruminal e na utilização de nutrientes (ARAÚJO et al., 2015) são muito semelhantes às observadas na alimentação com ionóforos (IPHARRAGUERRE, 2003). A amplitude do efeito sobre a fermentação ruminal vai depender, primordialmente, da taxa de liberação de ácidos graxos insaturados dos alimentos, onde a lenta liberação destes diminui sua exposição aos microrganismos (NRC, 2001). Dessa forma, os ácidos graxos fornecidos na forma de grãos inteiros de oleaginosas exercem menores efeitos sobre a fermentação ruminal quando comparados aos grãos moídos (WELD e ARMENTANO, 2017) ou, aos óleos vegetais (CHILLIARD et al., 2009).

As diferentes respostas observadas para a inclusão de quitosana na dieta de ruminantes podem estar relacionadas às condições do ambiente intestinal e ao tipo de fornecimento da quitosana. De acordo com González et al. (2000), o pâncreas dos bovinos, diferentemente do pâncreas dos monogástricos, tem capacidade limitada de secretar bicarbonato, tornando o pH

duodenal ácido (entre 3 e 5). Assim, essas diferenças fisiológicas explicam parcialmente a variabilidade interespecífica das respostas em digestibilidade aparente com a inclusão de quitosana na dieta. O aumento da secreção de bile para a digestão dos lipídios, associado à redução da taxa de passagem, em consequência da redução consumo, nas dietas suplementadas com óleo de soja também pode ser um dos pontos chaves para explicar a redução da eficiência da utilização de quitosana nestas dietas.

Além disso Raafat e Sahl (2009) explicam que a atividade antimicrobiana da quitosana pode ser afetada por uma variedade de fatores internos e externos, como o a fabricação da quitosana (tipo, peso molecular, DD, viscosidade, solvente e concentração) e os elementos ambientais (cepa de teste, estado fisiológico, e meio de cultura bacteriana, pH, temperatura, força iônica, íons metálicos, EDTA e matéria orgânica). O que corrobora com a afirmação de Kumar (2000), o qual afirma que o grau de desacetilação, é uma das características mais importantes da quitosana e pode variar entre 40 a 95% dependendo da metodologia utilizada. Sendo um parâmetro fundamental a ser observado, uma vez que determina a quantidade de grupos amino presentes no biopolímero.

Os menores consumos de nitrogênio em vacas alimentadas com as dietas GS e OS em comparação aos animais alimentados com as dietas GSQ e OSQ, que apresentaram fonte suplementar de ácidos graxos pode ser justificada devido à menor ingestão de MS e, consequentemente de PB pelos animais. Segundo estudos realizados por Paiva et al (2016), devido ao poder da quitosana de inibir a desaminação dos aminoácidos ruminais, fazendo com que aumente a entrega de aminoácidos ao duodeno, aumentando assim a eficiência do uso de nitrogênio. Contudo, o N não foi excretado no leite, e modificou a excreção urinária.

Por outro lado, Vendramini et al. (2016) não observaram aumento da eficiência na utilização de nitrogênio em vacas lactantes alimentadas com dietas contendo GS, com ou sem inclusão 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. Apesar disso, não houve 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 de N urinário à medida que houve aumento da inclusão de fonte lipídica. Similarmente, Gandra et al. (2016b) também verificaram efeitos das dietas encontraram maior retenção de N em dietas contendo GS, associado e não associado à quitosana, em relação às 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. Consequentemente, houve redução no balanço energético das vacas contendo dieta com quitosana.

Menores eficiências de SPM (gPB/kg NDT) e purinas totais foram observados nas vacas alimentadas com as dietas contendo fontes de ácidos graxos de cadeia longa insaturados comparada a dieta controle, sem inclusão de fontes de AGI (Contraste 1). Como descrito por Jenkins (1993) e Lourenço, Ramos-Morales e Wallace (2010), os ionóforos, a quitosana, e, os ácidos graxos, especialmente insaturados, afetam o metabolismo ruminal, pois também podem selecionar populações.

Assim, os ácidos graxos insaturados da soja, em associação a quitosana, a qual também tem efeito conhecido sobre a população microbiana do rúmen, podem ter efeitos sinérgicos influenciados pela síntese de nitrogênio microbiano, além da atividade antibacteriana da quitosana, a qual é um processo bastante completo que diferencia bactérias Gram-positivas de Gram-negativas e, que pode ser alterado pelo pH ruminal (KONG et al., 2010; ARAÚJO et al., 2015).

Maiores concentrações de GGT podem estar relacionados diretamente com a inclusão de óleo de soja, o qual é mais prontamente utilizado pelos microrganismos ruminais. Dessa forma, estes resultados podem estar associados com o possível efeitos deletérios da dieta contendo OS no status nutricional ou fisiológico dos animais. Conforme ressaltado por Ford (1974) e Bulk (1980), em animais vivos, descobriu-se que aumentos na concentração sérica de diversas enzimas, como a gama-glutamyltransferase (GGT), estão positivamente correlacionados com a colestase e são indicadores de danos no ducto biliar, o que possivelmente deve ter ocorrido com os animais neste estudo.

Os dados apresentados nesse estudo mostram que a inclusão de quitosana na ausência do óleo de soja aumentou significativamente os teores de ureia plasmática, da mesma forma que Duffield et al. (2008) observaram para a inclusão de monensina na dieta de vacas em lactação. Além disso, a quitosana não teve a capacidade de alterar o perfil lipídico plasmático de vacas em lactação, uma vez que não alterou o colesterol total, o que pode ser comparado com a monensina no estudo realizado pelos autores anteriormente mencionados.

Maiores concentrações de glicose foram verificadas em vacas com dieta OSQ e GSQ em comparação aos animais alimentados com dieta OS e GS, uma vez que os níveis de glicose são influenciados pela produção de propionato (GARCIA-RODRIGUEZ et al., 2015). Esses

resultados são consistentes com o aumento observado na proporção molar de propionato e na relação propionato-acetato no rúmen de ovinos (GOIRI et al., 2010) e novilhos Nelore alimentados com quitosana (ARAÚJO et al., 2015). Sauer et al. (1989) explicam que alguns promotores de crescimento, como os ionóforos, aumentam a produção ruminal de propionato e, assim, aumentam o fornecimento desse substrato glicogênico aos tecidos hepáticos, estimulando a produção de glicose via gliconeogênese.

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

Quando as concentrações de N-NH₃ produzidos no rúmen aumentam, os níveis de ureia no sangue também aumentam. De acordo com Kozloski (2012), este comportamento é esperado porque o N-NH₃ é utilizado pelos microrganismos, em especial as bactérias fibrolíticas. Ainda, é também absorvido pela parede ruminal, seguindo para o fígado, onde é formada ureia que fica circulante no sangue até ser recuperada ou excretada pela urina, como verificado no presente estudo.

A pesar do aumento de consumo de MS, a produção e composição do leite não foi influenciada pelas dietas experimentais, o que pode ser explicado pela falta de resultados de digestibilidade de nutrientes, assim não sendo observado interação entre as fontes de ácidos graxos e da quitosana. Apesar de o NRC (2001) sugerir que, com a suplementação de lipídios, tem-se redução do teor de proteína no leite, no presente estudo, os teores de proteína no leite foi em média de 3,9% e não foram influenciados pelos tratamentos.

Ao observar os dados desse estudo, percebe-se que houve aumento da concentração de CLA, principalmente quando usou a suplementação de OS e OSQ. Isso corrobora com o estudo realizado por Santos et al. (2001), os quais verificaram que houve efeito de fontes de lipídios (óleo de soja e soja integral moída) sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, principalmente sobre a concentração de CLA. Além disso, os autores observaram que a suplementação com óleo de soja aumentou o percentual de CLA, em comparação a dieta com suplementação com grão de soja.

Isso demonstra que a adição de óleo não-protetido na dieta aumenta o teor de CLA conforme observado por McGuire et al. (1996) e Griinari et al. (1996). Enquanto a adição do óleo, presente no grão das sementes oleaginosas, mesmo estando na forma de grão moído e não

tostado, não aumenta o teor de CLA, já que possuem os lipídios presos na matriz proteica da semente, conforme observado por Jiang et al. (1996) e Stanton et al. (1997).

Além de servir como fonte de energia para ruminantes, fontes lipídicas insaturadas, como o óleo de soja, são conhecidas por modularem a biohidrogenação de ácidos graxos no rúmen e aumentarem a saída de compostos bioativos, ácidos graxos, que são posteriormente transferidos para carne ou leite (SHINGFIELD et al., 2008; FERLAY et al., 2017). Assim como esperado, ocorreu nesse estudo, uma vez que segundo esses mesmos autores, devido ao seu maior grau de insaturação, os outros suplementos lipídicos afetaram amplamente as concentrações de isômeros C18 com efeitos bioativos.

Segundo Goiri et al. (2010) a quitosana aumenta a economia de energia principalmente pelo efeito da fermentação da hexose, isso se reflete nas mudanças observadas nas proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico, assim o ruminante terá mais energia disponível para o metabolismo a partir da ração consumida desde a energia na ração está sendo usada, contudo, nesse presente estudo não houve resultados significativos.

Além disso, a adição de quitosana à dieta suplementada com gordura reduziu a conversão alimentar devido à capacidade da quitosana em quelar vários íons metálicos, que, quando combinados com alterações no mecanismo de absorção de dietas suplementadas com óleo de soja, como sais de cálcio de síntese de ácidos graxos, pode decidir mudanças no metabolismo intermediário e diminuir a eficiência de utilização de nutrientes (DEL VALLE et al., 2017).

Outra explicação para a falta de resultados significativos é que além da semelhança da produção de leite em todos os tratamentos, uma vez que segundo Von Soosten et al. (2012), a síntese de gordura do leite representa grande proporção da exigência de energia de uma vaca leiteira especializada, representando até 50% das exigências energéticas de uma vaca de alta produção e promovendo uma depressão desta síntese, a partir da utilização de isômeros do ácido linoleico conjugado pode ser estratégia interessante para promover o balanço energético positivo.

Outros autores como, Araújo (2011) e Mingoti (2013) não observaram quaisquer efeitos da quitosana sobre as variáveis relacionadas ao balanço energético em bovinos de leite e corte, respectivamente.

O volume e peso da digesta ruminal não foram alterados pelas dietas neste estudo. A ausência de efeito das dietas nestas variáveis também foi observada por Freitas Jr. et al. (2018)

e Gordiano et al. (2023), ao avaliarem diferentes fontes de gordura (não protegida, protegida fisicamente e protegida quimicamente) na alimentação de vacas em lactação e vacas de corte, respectivamente. Contudo, o *pool* de nutrientes foi alterado em relação ao tipo de lipídio fornecido, provavelmente pelo fornecimento protegido do GS, uma vez que os ácidos graxos do GS são de liberação lenta, já que é protegido.

Além disso, Barletta et al. (2016b) avaliaram o fluxo de ácidos graxos em vacas lactantes encontraram resultados semelhantes aos desse estudo. Os autores relacionaram estes resultados à ausência de efeito dos ácidos graxos no volume e peso da digesta ruminal. Além disso, foi observada a redução do CMS e das taxas de passagem e renovação ruminais. Diante dessas mudanças houve consequentemente redução no fluxo de nutrientes através do rúmen e melhoria na digestibilidade de nutrientes. Sendo assim, uma menor taxa de passagem está associada com o aumento do peso e volume ruminal (FREITAS JR. et al, 2019).

O fluxo de digesta pelo trato gastrointestinal é determinado primordialmente pela taxa de passagem ruminal. Dessa forma, o aumento na taxa de passagem normalmente reduz a digestibilidade dos componentes mais resistentes à degradação, como fibra e amido de baixa degradabilidade ruminal (RUSSEL e WILSON, 1996).

Os parâmetros da dinâmica ruminal são influenciados dentre outros fatores pelas características físicas dos alimentos e, estes efeitos são mais proeminentes na fração efetivamente degradável. Segundo descrito por Allen (1996), a mastigação e fermentação do alimento no rúmen são primordialmente responsáveis pelo tamanho e a densidade de partículas da digesta e estas por sua vez, influenciam consequentemente na taxa de passagem no rúmen. Dessa forma, quanto menor o tamanho de partícula, maior será seu escape no rúmen. A digestão e a passagem dos alimentos atuam de forma simultânea e competitiva para a remoção da digesta no rúmen, assim seus efeitos combinados podem maximizar o consumo de nutrientes (KOVÁCS et al., 1998).

Em estudo avaliando o uso de fontes de gorduras protegidas para reduzir a biohidrogenação de ácidos graxos e aumentar o fluxo abomasal em vacas leiteiras, Bettero et al. (2017) relataram que os animais alimentados com a dieta contendo OS apresentaram menores taxas de digestão ruminal para MS, FDN e FDNpd quando foram comparados aqueles alimentados com as dietas contendo GS e SCAG. De acordo com os autores, este comportamento é justificado provavelmente pelos maiores efeitos nesses parâmetros quando o ácido graxo é fornecido de forma livre, sem nenhum tipo de proteção. Nesse estudo vacas

alimentadas com a dieta OSQ apresentaram maiores taxas de digestão em comparação às aquelas alimentadas com a dieta GSQ. Este resultado corrobora com o de Bettero et al. (2017), uma vez que o óleo de soja possui ácidos graxos de forma livre.

Freitas Jr. et al. (2012) ao avaliarem fontes de gordura em dietas para vacas em lactação, não observaram alterações nas taxas de digestão da MS e da FDN. No entanto, os mesmos autores relataram que os animais alimentados com a dieta contendo GS apresentaram menor taxa de digestão e, maior taxa de renovação ruminal da FDNpd. Assim, o resultado deste estudo assemelha-se ao que foi constatado no trabalho desenvolvido pelos autores anteriormente mencionados.

A ausência de efeito nas taxas de passagem e renovação podem ser atribuídas à similaridade nos consumos de FDN pelas vacas, entre as dietas avaliadas. Bettero et al. (2017) observaram ainda redução da taxa de digestão e renovação ruminal causada pelo OS. Conforme ressaltado por Allen e Mertens (1988), as taxas de digestão e passagem se opõem, de forma que uma menor taxa de passagem está correlacionada com maior digestão. Portanto, era esperado que a inclusão de ácidos graxos de cadeia longa reduzisse a taxa de digestão, ao mesmo tempo em que a taxa de passagem fosse aumentada. Todavia nesse estudo esse fator aconteceu quando comparada a inclusão de quitosana em associação à diferentes fontes de ácidos graxos.

5 CONCLUSÃO

Com esse estudo, pode-se afirmar que a quitosana juntamente com diferentes fontes de ácidos graxos altera o consumo de matéria seca, proteína e extrato etéreo, não altera a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos, contudo, melhora o aproveitamento de nitrogênio pelos animais. Além disso, modula as concentrações ruminais de ácidos graxos voláteis, favorecendo a utilização de energia e modificando também o perfil de ácidos graxos do leite.

O fornecimento ou não de quitosana a diferentes fontes de ácidos graxos insaturados em dietas para vacas Jersey em lactação altera o metabolismo digestivo, parâmetros da fermentação e cinética ruminal.

Além disso as concentrações de metabolitos sanguíneos, e o perfil de ácidos graxos no leite são modificados pelas dietas avaliadas, independente da inclusão ou não da quitosana. As doses testadas tanto de quitosana quanto as fontes de ácidos graxos, não foram suficientes para

promover alterações na digestibilidade dos nutrientes e, na produção e composição do leite das vacas Jersey.

A inclusão de quitosana exerce efeito sob o *pool* ruminal de nutrientes e na taxa de digestão e renovação quando fornecida com dietas contendo óleo de soja e grão de soja, para vacas Jersey em lactação. As fontes lipídicas juntamente com a quitosana não foram suficientes para promover mudanças nas digestibilidades dos nutrientes, assim como no fluxo omasal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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.

BALDIN, M., ZANTON, G. I., & HARVATINE, K. J. Effect of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoate (HMTBa) on risk of biohydrogenation-induced milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v.101 n.1, p.376-385, 2018).

BARLETTA, R. V., GANDRA, J. R., BETTERO, V. P., ARAÚJO, C. E., DEL VALLE, T. A., DE ALMEIDA, G. F. & RENNÓ, F. P. 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, 2016a.

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, 2016b.

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

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 an emphasis on the role of endogenous plant factors. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, n.1-2, p.1-25, 2012.

BULK F.P, MAVIER P, ZAFRANI E.S, Mechanism of gammaglutamyl transpeptidase release in serum during intrahepatic and extrahepatic cholestasis in the rat. A histochemical, biochemical and molecular approach. **Hepatology** 11:545-550, 1980

CASALI, A. O., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. D. C., PEREIRA, J. C., CUNHA, M. D., DETMANN, K. D. S. C., & PAULINO, M. F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 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., MARCOTULLIO, M. C., & YU, Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v.215, p.25-36, 2016.

COSTA, T. B. da. **Uso de aditivos em suplementos para bovinos recriados em pastagem**. 31f. Monografia - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.

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.

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

EDMONSON, A. J., LEAN, I. J., WEAVER, L. D., FARVER, T., & WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-7, 1989.

FORBES, J. M. **Physical limitation of feed intake in ruminants and its interactions with other factors affecting intake**. p. 217-232, 1995.

FORD, E. J. H. Activity of gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. **Journal of comparative pathology**, v. 84, 2, 231-243, 1974.

FREITAS JÚNIOR, J. E. D., RENNO, F. P., GANDRA, J. R., RENNO, L. N., REGO, A. C., SANTOS, M. V. D., & TAKIYA, C. S. Addition of unsaturated fatty acids improves digestion of mid lactating dairy cows. **Archivos de Zootecnia**, v.63, n.244, p.563-573, 2014.

FREITAS JÚNIOR, J. E. D., RENNO, F. P., SILVA, L. F. P., GANDRA, J. R., MATURANA FILHO, M., FODITSCH, C., & VENTURELLI, B. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v.40, p.950-956, 2010.

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.; RENNO, 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.

GANDRA, J. R., NUNES GIL, P. C., GANDRA, E. R. S., DEL VALE, T. A., BARLETTA, R. V., ZANFERARI, F., ... & GOBESSO, A. A. D. O. Productive performance of simmental dairy cows supplemented with ricinoleic acid from castor oil. **Archivos de Zootecnia**, v.63, n.244, p.575-585, 2014.

GANDRA, J. R., OLIVEIRA, E. R., TAKIYA, C. S., GOES, R. H. T. B., PAIVA, P. G., OLIVEIRA, K. M. P., HARAKI, H. M. C. Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage. **Animal Feed Science and Technology**, v.214, p.44-52, 2016b.

GANDRA, J. R.; TAKIYA, C. S.; OLIVEIRA, E. R. D.; PAIVA, P. G. D.; GANDRA, É. R. D. S.; HARAKI, 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.

GARDINAL, R., CALOMENI, G. D., ZANFERARI, F., VENDRAMINI, T. H. A., TAKIYA, C. S., DEL VALLE, T. A., & RENNO, F. P. Different durations of whole raw soybean supplementation during the prepartum period: Milk fatty acid profile and oocyte and embryo quality of early-lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.1, p.675-689, 2018.

GARDINAL, R., CALOMENI, G. D., ZANFERARI, F., VENDRAMINI, T. H. A., TAKIYA, C. S., BERTAGNON, H. G., ... & RENNO, F. P. Different durations of whole raw soybean supplementation during the prepartum period: Measures of cellular immune function in transition cows. **Journal of dairy science**, v.101, n.1, p.661-674, 2018.

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**, 159, 35–40, 2010a.

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

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

GOUVÊA, V. N., BIEHL, M. V., JUNIOR, M. V. D. C. F., MOREIRA, E. M., NETO, J. A. F., WESTPHALEN, M. F., ... & PIRES, A. V. Effects of soybean oil or various levels of whole cottonseed on intake, digestibility, feeding behavior, and ruminal fermentation characteristics of finishing beef cattle. **Livestock Science**, v.244, 104390, 2021.

GORDIANO, L. A., FERREIRA, F. G., RIBEIRO, C. V. D. M., DE CARVALHO, G. G. P., SILVA, F. F., DE ARAÚJO, M. L. G. M. L., FREITAS JR, J. E. Association between chitosan and unsaturated fatty acids supplementation on ruminal fermentation, digestive metabolism, and ruminal kinetics in beef heifers. **Livestock Science**, v.271, p.105216, 2023.

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.

HARAHAP, R. P., SETIAWAN, D., NAHROWI, N., SUHARTI, S., OBITSU, T., & JAYANEGARA, A. Enteric methane emissions and rumen fermentation profile treated by dietary chitosan: a meta-analysis of *in vitro* experiments. **Tropical Animal Science Journal**, v.43, n.3, p.233-239, 2020.

HARAHAP, Rakhmad P. et al. Meta-analysis of dietary chitosan effects on performance, nutrient utilization, and product characteristics of ruminants. **Animal science journal**, v. 93, n. 1, p. e13676, 2022.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 3, p. 1081-1091, 2006a.

HARVATINE, K.J., ALLEN, M.S., Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1092–1103. 2006b.

HARYATI, R. P., JAYANEGARA, A., LACONI, E. B., RIDLA, M., & SUPTIJAH, P. Evaluation of chitin and chitosan from insect as feed additives to mitigate ruminal methane emission. In **AIP Conference Proceedings** (Vol. 2120, No. 1, p. 040008), 2019.

HELANDER, I. M., NURMIAHO-LASSILA, E. L., AHVENAINEN, R., RHOADES, J., & ROLLER, S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.71, n.2-3, p.235-244, 2001.

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, 1380-1392, 1997.

JACAÚNA, A. G. Avaliação *in vitro* da quitosana como aditivo em dietas para ruminantes. 2016. 41 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2016.

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

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.

KIRWAN, S. F., PIERCE, K. M., SERRA, E., MCDONALD, M., RAJAURIA, G., & BOLAND, T. M. Effect of chitosan inclusion and dietary crude protein level on nutrient intake

and digestibility, ruminal fermentation, and N excretion in beef heifers offered a grass silage based diet. **Animals**, v.11, n.3, 771, 2021.

KONG, M., CHEN, X.G., XING, K., PARK, H.J. Anti-microbial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v.144, p.51-63. 2010.

KRAMER, J. K. G.; P. W. PARODI; R. G. JENSEN; M. M. MOSSOBA; M. P. YURAWECZ; ADLOF, R.O. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated acid isomer found in natural products. **Lipids**, v.33, p.835, 21 1998.

KRIZSAN, S. J.; AHVENJÄRVI, Seppo; HUHTANEN, Pekka. A meta-analysis of passage rate estimated by rumen evacuation with cattle and evaluation of passage rate prediction models. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 12, p. 5890-5901, 2010.

LI, Z.; LEI, X.; CHEN, X.; YIN, Q.; SHEN, J.; YAO, J. Long-term and combined effects of N-[2-(nitrooxy) ethyl]-3-pyridinecarboxamide and fumaric acid on methane production, rumen fermentation, and lactation performance in dairy goats. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.12, p.1–12. 2021

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.

LOPES, F. C. F., RIBEIRO, C. G. S., RODRIGUEZ, N. M., GAMA, M. A. S. D., & MORENZ, M. J. F. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com dietas à base de capim-elefante picado, dois tipos de óleo de girassol e dois modos de fornecimento do concentrado. **Semina Ciências Agrárias**, v.41, n.6, p.2759-2778, 2020.

MACHADO, M. G., DETMANN, E., MANTOVANI, H. C., VALADARES FILHO, S. C., BENTO, C. B., MARCONDES, M. I., & ASSUNÇÃO, A. S. Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.222, p.132-148, 2016.

MAGALHAES, T. S., CARVALHO, G. G. P., SANTOS, E. M., JÚNIOR, J. F., PINA, D. S., PINTO, L. F. B. & 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.

MAIA, M. R. G. **Microrganismos e factores alimentares que afectam a bioidrogenação e a produção de isómeros conjugados do ácido linoleico no ecossistema ruminal**. 2010. 209f. Tese de Doutorado. Tese de Doutorado—Faculdade de Medicina Veterinária/Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

MERTENS, D. R., E COLLABORATORS: ALLEN M CARMANY J CLEGG J DAVIDOWICZ A DROUCHES M FRANK K GAMBIN D GARKIE M GILDEMEISTER B JEFFRESS D JEON CS JONES D KAPLAN D KIM GN KOBATA S MAIN D MOUA X PAUL B ROBERTSON J TAYSOM D THIEX N WILLIAMS J WOLF M. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC international**, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002.

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.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, seventeenth edition, (The National Academies Press, Washington, D.C. USA).

OLIVEIRA X.S., M., PALMA, A. S., REIS, B. R., FRANCO, C. S., MARCONI, A. P., SHIOZAKI, F. A., ... & NETTO, A. S. Inclusion of soybean and linseed oils in the diet of lactating dairy cows makes the milk fatty acid profile nutritionally healthier for the human diet. **PLoS One**, v.16, n.2, p.246-357, 2021.

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.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, Wilson Roberto Soares. Metabolismo de lipídeos. **Nutrição de ruminantes**, 2006.

PARODI, Peter W. Milk fat in human nutrition. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 1, p. 3, 2004.

PEREIRA DC, GOES RH DE TEB DE, MARTINEZ AC, GANDRA JR, PRESENDO E, SANTOS MVD, OLIVEIRA RT, SILVA NGD, RIBEIRO MG, ALVEZ JLR. 2019. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut-shell liquid as additives for ruminants. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.20, p.01-12, 2019.

REDDY, J. K.; MANNAERTS, G. P. Peroxisomal lipid metabolism. **Annual review of nutrition**, v. 14, n. 1, p. 343-370, 1994.

RENNÓ, F. P., FREITAS JÚNIOR, J. E. D., GANDRA, J. R., VERDURICO, L. C., SANTOS, M. V. D., BARLETTA, R. V. & VILELA, F. G. Fatty acid profile and composition of milk protein fraction in dairy cows fed long-chain unsaturated fatty acids during the *transition* period. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, p.813-823, 2013.

RENNÓ, F. P.; ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B., FREITAS JÚNIOR, J. E. D., BARLETTA, R. V., BETTERO, V. P. Utilização de quitosana na alimentação de ruminantes. **Novos desafios da pesquisa Pirassununga**: Editora 5D,. cap. 6, p. 117-139, 2011.

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.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.1, p.1- 6, 1989.

RUSSELL, J.B. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. **Journal of Animal Science**, v.64, n.5, p.1519- 1525, 1987.

SANTOS, M. C. B. et al. Effects of increasing monensin doses on performance of midlactating Holstein cows. **Journal of Applied Animal Research**, v. 47, n. 1, p. 297–302, 2019.

SEANKAMSORN, A., CHERDTHONG, A., SO, S., & WANAPAT, M. Influence of chitosan sources on intake, digestibility, rumen fermentation, and milk production in tropical lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.53, n.2, 241, 2021.

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, 1140-1166, 2010.

SILVA, F.D., NUNES, P. A. A., BREDEMEIER, C., CADENAZZI, M., P. AMARAL, L. PFEIFER, F. M., ... & CARVALHO, P. C. D. F. Spatiotemporal distribution of cattle dung patches in a subtropical soybean-beef system under different grazing intensities in winter. **Agronomy**, v.10, n.9, 1423, 2020.

SILVA, SNS et al. Efeitos da suplementação com extrato vegetal ou monensina na ingestão de nutrientes, digestibilidade, fermentação ruminal e metabolismo em vacas leiteiras. **Ciência e Tecnologia da Alimentação Animal**, v. 275, p. 114886, 2021.

SINGLA, A. K.; CHAWLA, M. Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects-an update. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 53, n. 8, p. 1047-1067, 2001.

SKAUGRUD, O.; SARGENT, G. Chitin and chitosan: Crustacean biopolymers with potential. In: **Int. Conf. on Fish By-Products, Anchorage, AK(USA), 25-27 Apr 1990**. 1990. p. 61-69.

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.

TANG, H., ZHANG, P., KIEFT, T. L., RYAN, S. J., BAKER, S. M., WIESMANN, W. P., e ROGELJ, S. Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against Gram-negative bacteria. **Acta Biomaterialia**, v.6, n. 7, p.2562-2571, 2010.

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.

VON SOOSTEN, D.; MEYER, U., PIECHOTTA, M., FLACHOWSKY, G., & DÄNICKE, S. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat

mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1222-1239, 2012.

WELCH, J. G.; SMITH, A. M. Particle sizes passed from rumen. **Journal of Animal Science**, v. 46, n. 1, p. 309-312, 1978.

WILDMAN, E. E., JONES, G. M., WAGNER, P. E., BOMAN, R. L., TROUTT JR, H. F., & LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65. n.3, p.495-501, 1982.

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.

ZHENG, Y. G., ZHANG, B. Q., QI, J. Y., ZHAO, Y. L., GUO, X. Y., SHI, B. L., & YAN, S. M. Dietary supplementation of chitosan affects milk performance, markers of inflammatory response and antioxidant status in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.277, p.114952, 2021.