

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU
ASSOCIADO A FONTES DE NITROGÊNIO NÃO
PROTEICO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS

Autora: Milene Puntel Osmari
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro - 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU
ASSOCIADO A FONTES DE NITROGÊNIO NÃO
PROTEICO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS

Autora: Milene Puntel Osmari
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro - 2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

0831	<p>Osmari, Milene Puntel</p> <p>Líquido da casca da castanha de caju associado a fontes de nitrogênio não proteico na alimentação de bovinos/. -- Maringá, 2013.</p> <p>56 f. il. : figs., tabs., color.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal, 2013.</p> <p>1. Nutrição de ruminantes. 2. Cajú-Líquido da casca - Nutrição de ruminantes. 3. Aditivo natural. 4. dietas de alto grão. 5. Nitrogênio não proteico. 6. Novilhos. I. Branco, Antonio Ferriani, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Área de Concentração Produção Animal. III. Título.</p> <p>CDD 22. ED.636.2085</p>
------	--



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU
ASSOCIADO A FONTES DE NITROGÊNIO NÃO
PROTÉICO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS**

Autora: Milene Puntel Osmari

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 29 de novembro de 2013.

Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

Profª Drª Lúcia Maria Zeoula

Prof. Dr. Ulysses Cecato

Profª Drª Kátia Cylene Guimarães

Profª Drª Odimári Pricila
Pires do Prado

“O degrau de uma escada não serve simplesmente para que alguém permaneça em cima dele, destina-se a sustentar o pé de um homem pelo tempo suficiente para que ele coloque o outro um pouco mais alto.”

Thomas Huxley

Aos meus pais e à minha irmã...

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter permitido vencer meus desafios e chegar até onde cheguei.

Agradeço ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos a mim oferecida.

Agradeço incondicionalmente ao meu pai, Anézio Vizzoto Osmari, à minha mãe, Leoni Carmen Puntel Osmari e à minha irmã, Viviane Puntel Osmari, por todo apoio, carinho, atenção e por terem entendido e aceitado meus momentos de ausência no convívio familiar. Vocês são responsáveis por mais essa conquista. Obrigada e amo vocês.

Agradeço ao professor e amigo Antonio Ferriani Branco, que desde o começo não mediu esforços para tornar possível minha vinda à Maringá. Agradeço pela orientação, pelos conselhos e por ter permitido fazer de sua família, minha família maringaense.

Agradeço ao meu namorado, Marcelo Santos, por ter me apoiado na reta final dessa conquista, tornando mais leve os momentos difíceis e por estar sempre ao meu lado.

Agradeço a todos os colegas e amigos que fiz durante esta jornada e que auxiliaram não só nos experimentos, mas também nos momentos difíceis que enfrentei: Silvana Teixeira, Julio Barreto, Altair Sofiati, Bruna Marsiglio Sarout, Roman

Castañeda, Laiz Fiorilli, Beryk Salab, Ana Lucia Teodoro, Tatiana G. Diaz e demais colegas do grupo de pesquisas em Nutrição de Ruminantes.

Agradeço aos funcionários da FEI, por todo o apoio e ajuda prestada, em especial ao Wilson Marssola, que se tornou mais que um ajudante, se tornou um grande amigo. A você e sua família, obrigada.

Aos responsáveis pelo bom funcionamento do LANA, Cleusa Volpato, Creuza Azevedo e Hermógenes Augusto de Camargo Neto, meu carinho e agradecimento especial por toda a ajuda.

Agradeço a minha fisioterapeuta, Débora Rachel, por todo o esforço, dedicação e amizade, desprendida ao longo desses anos, em especial durante à realização dos experimentos, época em que mais precisava de um melhor condicionamento físico .

Obrigada por todos aqueles que eu posso não ter mencionado, mas que foram tão importantes quanto os demais.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA

MILENE PUNTEL OSMARI, filha de Anézio Vizzoto Osmari e Leoni Carmen Puntel Osmari, nasceu no município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, no dia 13 de maio de 1986.

Em fevereiro de 2008, concluiu o curso de graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria – RS.

Em março de 2008, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria, em nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, realizando estudos na área de Produção de Bovinos de Corte.

Em fevereiro de 2010, defendeu sua Dissertação, obtendo o título de Mestre em Zootecnia, pela Universidade Federal de Santa Maria.

Em março de 2010, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

Em agosto de 2012, iniciou no Programa de Doutorado Sanduíche na University of Kentucky, Lexington – Estados Unidos, com duração de seis meses, sendo subsidiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela University of Kentucky. Desenvolveu um experimento com enfoque em Bioenergética Animal – Nutrição de Ruminantes.

Em outubro de 2013 submeteu-se ao exame geral de qualificação e em novembro à banca de defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
I – INTRODUÇÃO	1
1.1 Introdução geral	1
1.2 Importância do caju	2
1.2.1 Extração, caracterização e utilização do líquido da casca da castanha de caju na alimentação animal	4
1.3 Nitrogênio não proteico na alimentação de ruminantes	10
1.4 Hipótese	13
Referências	14
II – OBJETIVOS GERAIS	18
III – NÍVEIS DE LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS	19
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos	22
Resultados e Discussão	26
Conclusões	33
Referências	34
IV – LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU E DUAS FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	37
Resumo	37
Abstract	38

Introdução	39
Material e Métodos	40
Resultados e Discussão	44
Conclusões	52
Referências	53

LISTA DE TABELAS

		Página
I – INTRODUÇÃO		
Tabela 1	Composição do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) natural e técnico	6
III – NÍVEIS DE LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS		
Tabela 1	Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais utilizadas (g kg^{-1})	22
Tabela 2	Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO e PB de bovinos confinados consumindo diferentes níveis de LCCC na dieta	26
Tabela 3	Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da FDN _{cp} , EE, amido e CNF de bovinos confinados consumindo diferentes níveis de LCCC na dieta	28
Tabela 4	pH e nitrogênio amoniacal (N-NH_3) do líquido ruminal, nitrogênio ureico plasmático (NUP) e eficiência de síntese microbiana (ES) em bovinos confinados consumindo dietas com LCCC	30
VI – LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU E DUAS FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES		
Tabela 1	Composição química e percentual dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (g kg^{-1})	40

Tabela 2	Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO e PB de bovinos alimentados com e sem LCCC e duas fontes de NNP na dieta	44
Tabela 3	Ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da FDNcp, EE, amido e CNF de bovinos alimentados com e sem LCCC associado a duas fontes de NNP na dieta	47
Tabela 4	pH e nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) do líquido ruminal, nitrogênio ureico plasmático (NUP) e eficiência de síntese microbiana (ES) de bovinos alimentados com e sem LCCC associado a duas fontes de NNP na dieta	49

LISTA DE FIGURAS

		Página
I – INTRODUÇÃO		
Figura 1	Produtos derivados do caju	3
Figura 2	Poder repelente do LCCC	4
Figura 3	Principais constituintes do LCCC	5
Figura 4	Processo de descarboxilação do ácido anacárdico	6
III – NÍVEIS DE LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS		
Figura 1	Valores médios para pH ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia	31
Figura 2	Valores médios para nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) do líquido ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia	31
IV – LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU E DUAS FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES		
Figura 1	Valores médios para pH ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia	50
Figura 2	Valores médios para nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) do líquido ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia	50

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar os efeitos dos níveis de líquido da casca da castanha de caju (LCCC) e do fornecimento do LCCC associado a fontes de nitrogênio não proteico (ureia e ureia de liberação lenta) no concentrado de bovinos alimentados com dietas alto grão, sobre a ingestão de matéria seca (IMS), o coeficiente de digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, pH e nitrogênio amoniacal do líquido ruminal e síntese microbiana no rúmen. O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o quadrado latino, com períodos experimentais de dez dias para o primeiro experimento e 14 dias para o segundo. No primeiro experimento, foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa (425 kg). Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de LCCC no concentrado assim distribuídos: controle = sem LCCC; 0,03% = 300 mg de LCCC/kg de concentrado; 0,06% = 600 mg de LCCC/kg de concentrado e 0,12% = 1200 mg de LCCC/kg de concentrado. A ingestão de matéria seca (IMS), e os coeficientes de digestibilidade ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total CDT da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), amido e carboidratos não fibrosos (CNF) não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas experimentais. Embora, os níveis 0 e 300 mg de LCCC/kg de concentrado proporcionaram menor coeficiente de digestibilidade aparente ruminal do extrato etéreo (EE) e o pH do líquido ruminal para os animais que consumiram o LCCC mostrou-se superior ($P<0,05$) em relação aos animais que não consumiram LCCC. Os valores de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal, nitrogênio ureico no plasma e eficiência de síntese microbiana também não foram influenciados pelas dietas experimentais ($P>0,05$). Como conclusão deste primeiro experimento, o LCCC pode ser uma alternativa de aditivo alimentar capaz de controlar o pH ruminal em dietas alto grão, diminuindo os riscos de acidose ruminal. No segundo experimento, foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa (316 kg). Os tratamentos

consistiram no uso ou não de LCCC e duas fontes de nitrogênio não proteico (NNP). A IMS e os CDR, CDI e CDT, da MS, MO, PB, FDN_{cp}, EE, amido e CNF não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas fornecidas. Os parâmetros de fermentação ruminal e a eficiência de síntese microbiana também não foram influenciados ($P>0,05$) pelas dietas.

Palavras-chave: aditivo natural, dietas alto grão, nitrogênio não proteico, novilhos

ABSTRACT

This research was carried out to evaluate the effects of cashew nut shell liquid (CNSL) levels and two sources of non-protein nitrogen (urea and urea slow release) in concentrate of cattle fed high grain diets on dry matter intake (DMI), nutrients digestibility, ruminal fermentation and kinetics. The experimental design used in the experiments was the Latin square with experimental periods of 10 days for the first experiment and 14 days for the second. In the first experiment, four Holstein steers (425 kg) were used. The treatments consisted of increasing levels of CNSL in concentrated distributed as: Control= no CNSL, 0.03% CNSL = 300 mg.kg⁻¹ of concentrate, 0.06% CNSL = 600 mg.kg⁻¹ of concentrate and 0.12% CNSL = 1200 mg.kg⁻¹ of concentrate. DMI, ruminal apparent digestibility (RAD), intestinal apparent digestibility (IAD) and total apparent digestibility (TDC) of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP) , neutral detergent fiber (NDF), starch and non-fiber carbohydrates (NFC) were not influenced ($P>0.05$) by experimental diets. The levels 0 and 300 mg of CNSL/kg of concentrate, provided lower ruminal apparent digestibility of ether extract (EE). Ruminal pH for animals that consumed the LCCC was higher ($P<0.05$) than animals that did not consume CNSL. The amounts of ammonia, plasma urea nitrogen and microbial efficiency were not affected by experimental diets ($P>0.05$). As a conclusion of this first experiment, the CNSL can be an alternative food additive able to control ruminal pH in high-grain diets, decreasing the risk of rumen acidosis. In the second experiment, four Holstein steers (316 kg) were used. The treatments consisted of associate or not of CNSL with two sources of non-protein nitrogen (NPN). DMI, RAD, IAD and TAD of DM, OM, CP, NDF, EE, starch and NFC were not influenced ($P>0.05$) by experimental diets. The association or not of the LCCC to protein sources did not affect ($P>0.05$) ruminal kinetics.

Key Words: natural additive, high-grain diets, non-protein nitrogen, steers

I - INTRODUÇÃO

1.1 Introdução geral

O crescente consumo de alimentos de origem animal tem estimulado os produtores a buscarem alternativas de intensificação dos sistemas de produção. Se por um lado, as áreas destinadas à agricultura aumentam a cada dia, a produção de grãos para a alimentação humana e animal segue a mesma tendência.

Desta forma, os produtores brasileiros têm utilizado práticas de manejo e nutrição que visam intensificar o sistema de produção como a terminação de animais em confinamento e o uso de dietas alto grão, e conseguem produzir animais ao abate em tempos mais curtos, aumentando o capital de giro e a rotatividade da propriedade.

A utilização da dieta alto grão pode proporcionar distúrbios metabólicos aos animais, pelo excesso de carboidratos não estruturais, o que induz a queda do pH do rúmen, influenciando negativamente a digestibilidade e o aproveitamento dos nutrientes da dieta, além de aumentar a incidência de problemas como abscessos hepáticos, ruminite e laminite. Como alternativa para a redução de distúrbios metabólicos, pode-se fazer o uso de aditivos alimentares.

Segundo o Decreto 76.986 de 06 de janeiro de 1976, aditivos são substâncias intencionalmente adicionadas ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo, como os antibióticos, corantes, conservadores, antioxidantes e outros.

No Brasil, os aditivos mais comumente utilizados são os ionóforos como, por exemplo, a monensina sódica e a lasalocida sódica. A principal razão de fornecer ionóforos aos bovinos é prevenir doenças e melhorar a fermentação ruminal com o objetivo de maximizar a eficiência de produção. No entanto, como a utilização de

antibióticos na alimentação animal, como promotores de eficiência alimentar, foi banida pela União Europeia a partir de 2006 (Regulamento (CE) 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho), o foco das pesquisas têm sido buscar substitutos para o seu uso (Spanghero et al., 2008).

Dentre as alternativas de desenvolvimento para modular a fermentação ruminal, inclui-se a utilização de leveduras, de ácidos orgânicos, extratos de plantas, probióticos, anticorpos e os metabólitos secundários de plantas. Metabólitos secundários de plantas são compostos químicos naturais que estão envolvidos principalmente na defesa da planta contra patógenos e garantem a sobrevivência das estruturas e elementos reprodutivos dos vegetais (Purevjav, 2011).

Existe uma literatura estabelecida sobre a utilização de metabólitos secundários, tais como os óleos funcionais, como aditivos naturais para melhorar a eficiência da fermentação no rúmen, diminuir a produção de metano, reduzir o estresse nutricional e melhorar a saúde animal e produtividade (Wallace, 2004; Benchaar et al., 2007; Calsamiglia et al., 2007a; Shinkai et al., 2012). São relativamente escassos os estudos sobre os lipídios fenólicos ou óleos funcionais da família *Anacardiaceae* (Purevjav, 2011), que por sua vez são representados pelo líquido da casca da castanha de caju.

Em busca do aumento da eficiência de produção e de dietas menos onerosas, têm-se utilizado fontes de nitrogênio não proteico, visto que diminuem o custo da proteína da ração (Oliveira et al., 2001), já que este é o constituinte mais caro embutido no preço do alimento aos animais. Em contrapartida, por serem produtos derivados do petróleo, têm seus preços dependentes da variação cambial deste recurso natural.

No entanto, tanto a associação do líquido da castanha de caju a diferentes fontes de nitrogênio não proteico, como os níveis adequados do consumo do produto natural na alimentação animal são inexistentes e por isso suas respostas precisam ser elucidadas.

1.2 Importância do caju

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é considerado uma das frutas mais importantes e de ampla distribuição nos trópicos. Sua origem é bastante discutida, mas as provas indicam ser o Brasil ou todo o Norte da América do Sul e parte da América Central, os centros de procedência dessa espécie (Andrade Neto, 2006). Seu fruto

também é produzido em países tropicais como Índia, Moçambique, Tanzânia e Quênia (Watanabe et al., 2010).

No contexto mundial, o Brasil é o segundo maior produtor de castanhas de caju, ficando atrás somente da Índia. Suas áreas plantadas concentram-se na região Nordeste do Brasil, onde a extração e o processamento da castanha de caju representam atividades com grande capacidade de geração de emprego. A geração de renda e divisas também é importante, tendo em vista a demanda de mercados internacionais pelos diversos tipos de castanha (Paiva et al., 2000; Agostini-Costa et al., 2004; Guanzirolí et al., 2009).

O caju é formado pela castanha ou fruto e pelo pedúnculo, nominado de falso fruto. A castanha contém uma película envolvente que é removida durante o processamento, da qual são extraídos alcaloides e taninos. Da casca, obtém-se um líquido cáustico inflamável, o líquido da casca da castanha de caju (LCCC) (Paiva et al., 2000), e que constitui, aproximadamente, 25% do peso total da castanha (Amorati et al., 2001) (Figura 1).

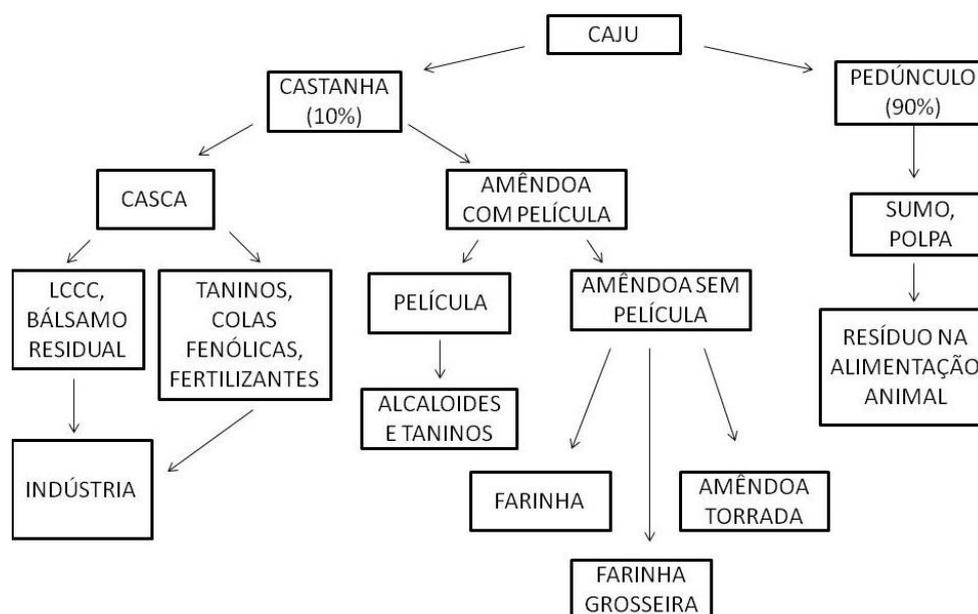


Figura 1 - Produtos derivados do caju.

Fonte: Adaptado de BNB (1973).

O pedúnculo apresenta alto teor de vitamina C e grande atividade antioxidante, mas ainda é pouco explorado (Agostini-Costa et al., 2004; Vieira et al., 2009). A partir do processamento desta porção pode ser obtida grande quantidade de produtos, destacando-se a produção de sucos, doces e desidratados, como também a sua larga

utilização na culinária na obtenção de pratos quentes e frios, farinhas, ração, entre outras (Paiva et al., 2000; Kubo et al., 2006; Guanziroli et al., 2009).

O LCCC ainda apresenta diversas aplicações industriais, como obtenção de tintas, vernizes, resinas, inseticidas, fungicidas, materiais elétricos, isolantes, adesivos, entre outros (Paiva et al., 2000).

O LCCC também apresenta capacidade repelente, como verificado na Figura 2. Os recipientes foram utilizados para a confecção de uma pré-mistura que após foi adicionada ao restante dos ingredientes para a obtenção dos concentrados usados no presente estudo. Esta mistura foi composta de minerais, milho moído e LCCC. O recipiente A não contém o LCCC, porém a presença de insetos voadores é visível, em contrapartida, no momento em que se misturou o LCCC (recipientes B), a presença dos insetos não foi verificada.



Figura 2 - Poder repelente do LCCC.

Fonte: A autora.

1.2.1 Extração, caracterização e utilização do líquido da casca da castanha de caju na alimentação animal

No processo de extração do LCCC, obtêm-se 18% de LCCC e 55% de torta residual que é utilizada como combustíveis nas caldeiras.

A casca é submetida a um aquecimento com vapor até a temperatura de 80°C. Depois do aquecimento, a casca é submetida à prensagem, obtendo-se na operação o LCCC e uma torta com teor residual de LCCC que é extraído por solventes.

O LCCC, obtido por extração mecânica ou por solvente, é submetido à operação de descarboxilação, que tem a finalidade de retirar CO₂ e umidade. Neste processo, o

LCCC é aquecido a uma temperatura de 140°C, com agitação. O LCCC descarboxilado é filtrado para a retirada de impurezas através de filtro-prensa. Após filtração, o LCCC é armazenado (Paiva et al., 2000).

Os principais componentes do LCCC são o ácido anacárdico, o cardanol e o cardol (Figura 3). Os ácidos anacárdicos são compostos fenólicos biossintetizados a partir de ácidos graxos. Eles constituem cerca de 70 a 90% do líquido que é extraído da casca da castanha de caju e possuem propriedades cáusticas e irritantes (Agostini-Costa et al., 2004; Agostini-Costa et al., 2005).



Figura 3 - Principais constituintes do LCCC.

Fonte: Adaptado de Mazzetto & Lomonaco (2009).

De acordo com Gonzaga (2008), o ácido anacárdico se apresenta como um dos lipídios mais relatados na literatura com relação à atividade biológica, já que desnaturam as proteínas de microrganismos como as bactérias e fungos. Kubo et al. (1993) demonstraram o potencial antitumor do ácido anacárdico presente no suco de caju comercial, sugerindo que o consumo contínuo do pedúnculo, assim como de seus subprodutos, durante períodos prolongados pode ser vantajoso no controle de tumores.

Os cardóis, que apresentam estrutura semelhante aos ácidos anacárdicos, possuem uma segunda hidroxila no anel aromático e compõem cerca de 10% do LCCC. Os cardóis assim como os ácidos anacárdicos desencadeiam reações de hipersensibilidade, podendo desencadear processos de dermatite perioral quando consumidas. Previamente considerado como um composto tóxico apresentou atividade antifilaríase, na inibição da acetilcolinesterase, contra o caramujo vetor da parasitose esquistossomose (Mazzetto & Lomonaco, 2009).

O tratamento térmico a que o LCCC sofre durante seu processo de extração, favorece a descarboxilação do ácido anacárdico, com formação de cardanol, obtendo assim o LCCC técnico (Agostini-Costa et al., 2005; Mazzetto & Lomonaco, 2009) (Figura 4), utilizado na presente pesquisa.

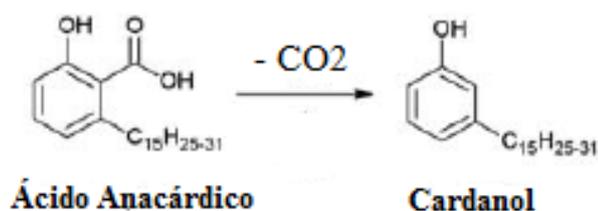


Figura 4 - Processo de descarboxilação do ácido anacárdico.

Fonte: Adaptado de Mazzetto & Lomonaco (2009).

De acordo com Mazzetto & Lomonaco (2009), o LCCC natural apresenta uma grande quantidade de ácido anacárdico, entretanto, o LCCC técnico possui elevado percentual de cardanol. Este, por sua vez, não possui cheiro agressivo, apresenta baixa volatilização e sua principal característica é a sua não toxicidade. Ainda, seus derivados apresentam características antioxidantes, resistência à chama e hidrofobicidade (Amorati et al., 2001; Mazzetto & Lomonaco, 2009).

Baseado em Mazzetto & Lomonaco (2009), na Tabela 1 são demonstradas as principais características entre o LCCC natural e o técnico, de acordo com a concentração de seus princípios ativos.

Tabela 1 – Composição do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) natural e técnico

LCCC	Ácido anacárdico	Cardol	Cardanol
Natural	71,7 – 82,0%	13,8 – 20,1%	1,6 – 9,2%
Técnico	1,1 – 1,7%	3,8 – 18,8%	67,8 – 94,6%

Fonte: Baseado em Mazzetto & Lomonaco (2009).

A capacidade dos ácidos anacárdicos em quelatar os metais é uma vantagem adicional a partir do momento que reduz o efeito de transição da catalização do metal na peroxidação lipídica. É sabido que agentes quelantes, que formam ligação com um metal, são eficazes como antioxidantes secundários, pois reduzem o potencial redox, estabilizando a forma oxidada do íon metálico (Tsujimoto et al., 2007).

O poder antioxidante de compostos químicos derivados do LCCC foram relatados por Andrade et al. (2011), atribuindo esses efeitos à elevada participação do cardol e cardanol presente no material utilizado.

O LCCC também foi associado a possível redução de cálculos renais, visto que reduz a formação de ácido úrico, através da inibição da xantina oxidase, principal enzima envolvida no metabolismo das purinas (Kubo et al., 2006).

A atividade antimicrobiana do LCCC tem sido atribuída ao número de terpenoides e de compostos fenólicos, da mesma forma que seus constituintes químicos e grupos funcionais, a proporção presente de cada um e a interação entre esses compostos. Para Burt (2004) e Bassolé & Juliani (2012), efeitos aditivos, de sinergismo e antagonismos têm sido observados entre os componentes dos óleos funcionais.

Uma importante característica dos óleos funcionais e seus componentes é seu caráter lipofílico (Benchaar et al., 2008) a qual lhes permite o rompimento dos lipídios da membrana celular bacteriana e mitocôndrias, desorganizando as estruturas e tornando-os mais permeável. Podem ocorrer o extravazamento de íons, a translocação de proteínas, a fosforilação e outras reações enzima dependentes, o que conduz à morte bacteriana (Burt, 2004), pois exige da célula um gasto de energia para tentar restabelecer as funções orgânicas normais (Calsamiglia et al., 2007b).

As bactérias Gram-positivas parecem ser mais suscetíveis aos efeitos antibacterianos dos óleos funcionais do que as bactérias Gram-negativas. Isto porque as bactérias Gram-negativas possuem dupla camada celular que age como uma barreira, limitando o acesso dos compostos hidrofóbicos (Burt, 2004). No entanto, e em contraste com a monensina e outros ionóforos, o pequeno peso molecular que a maioria dos extratos de plantas possui, permite ultrapassar a membrana externa de bactérias Gram-negativas, agindo contra elas também (Calsamiglia et al., 2007a).

Para Calsamiglia et al. (2007b), esta capacidade de ação tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas reduz a seletividade dos compostos contra populações específicas, tornando mais difícil a modulação da fermentação dos microrganismos ruminais. Da mesma forma, o limitado número de informações publicadas a respeito dos efeitos dos óleos funcionais no ambiente ruminal pode resultar em confusão e inapropriados usos dos produtos e dosagens. Assim, é urgente a necessidade de se conduzir estudos “in vivo” para determinar a dosagem ótima e os efeitos no desempenho animal (Calsamiglia et al., 2007b).

Como os compostos fenólicos presentes no LCCC agem contra as bactérias Gram-positivas, incluindo bacilos e estafilococcus (Kubo et al., 1993b; Parasa et al., 2011), é esperado que esses compostos, principalmente o ácido anacárdico, inibam as *Streptococcus bovis*. Estas por sua vez podem contribuir para alguns distúrbios metabólicos, como a acidose láctica e o timpanismo de bovinos em confinamento (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

Bactérias Gram-positivas como *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Ehrlichia ruminantum* e *Butyrivibrio fibrisolvens*, que produzem hidrogênio, fumarato e butirato, mostraram-se sensíveis ao LCCC (Watanabe et al., 2010; Shinkai et al., 2012). A redução dessas bactérias proporcionou o aumento das bactérias Gram-negativas *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantum* e *Megasphaera elsdenii*, que estão envolvidas na produção de propionato, pela tolerância ao LCCC. Todas essas modificações em relação às espécies de bactérias poderiam causar mudanças na fermentação ruminal, como redução na produção de metano e aumento na produção de propionato, como o verificado por Van Soest et al. (1971), Watanabe et al. (2010) e Shinkai et al. (2012).

Neste sentido, o LCCC pode reduzir os indícios de acidose láctica em dietas de alto grão, pois atua principalmente em bactérias Gram-positivas (Watanabe et al., 2010; Shinkai et al., 2012).

Para Kohlert et al. (2000), os princípios ativos dos óleos funcionais são absorvidos no intestino e metabolizados rapidamente no organismo humano, sendo seus produtos eliminados via urina e respiração na forma de CO₂. Ainda são limitados os dados a respeito do comportamento dos óleos funcionais no organismo de animais, principalmente ruminantes.

Pouco se sabe a respeito da quantidade ideal a ser fornecida aos animais, e os poucos dados referentes à utilização do LCCC na alimentação animal, referem-se a respostas obtidas com o fornecimento de *blend* do LCCC com mamona (Essential®).

Todavia, uma investigação mais detalhada é necessária, visto que algumas pesquisas demonstraram que níveis acima de 8 g/animal/dia do Essential® pode ser prejudicial aos microrganismos ruminais (Coneglian, 2009), por diminuir a digestibilidade da fibra.

Zawadzki (2013), ao fornecer 3 g/animal/dia de Essential® via concentrado para bovinos em terminação, não verificou efeito dos óleos funcionais no desempenho dos animais, o mesmo ocorrendo quando o produto foi associado ao glicerol.

Purevjav (2011) não verificou efeito da adição de um produto comercial à base de LCCC na dieta de bovinos em terminação em relação ao consumo de matéria seca (MS). O autor comenta que seus resultados foram dependentes da dose, pois ao alimentarem os animais com 250 mg/kg de MS ingerida do produto com LCCC, estes apresentaram sensível melhora na eficiência alimentar, em relação aos alimentados com 500 mg/kg de MS ingerida.

Diaz (2013), ao avaliar cinco níveis de concentrado (200, 400, 600, 800 e 1000 g/kg de MS), quatro níveis de inclusão do LCCC (0; 0,3; 0,6 e 1,2 kg de LCC/kg de MS) e uma dieta controle composta somente por silagem de milho, verificou diminuição da digestibilidade “in vitro” da MS quando o LCCC técnico foi administrado acima de 0,5 g/kg de MS.

Ao avaliarem o desempenho, características de carcaça e microbiologia do intestino de frangos de corte alimentados com LCCC, López et al. (2012) verificaram que o produto apesar de não ter favorecido as variáveis produtivas controlou a proliferação de *E.coli* no intestino e preveniu a presença de *Clostridium perfringens* e *Salmonella spp.* no conteúdo intestinal dos animais.

Os resultados contraditórios obtidos com o uso de extratos de plantas na nutrição animal deve-se ao tipo de óleo funcional utilizado ou a mistura de óleos funcionais, e são altamente dependentes da população microbiana ruminal, da acidez ruminal e da duração do período de adaptação das bactérias aos extratos de plantas (Spanghero et al., 2008), o que dificulta a obtenção de uma dosagem ideal de utilização, principalmente, “in vivo”, visto que a maioria dos resultados são obtidos “in vitro”.

Em termos de metabolismo de proteínas, o mecanismo de ação pode estar relacionado com a inibição da desaminação, embora a inibição da quebra de peptídeos também tem sido sugerida para alguns óleos funcionais. No entanto, um extrato universal que funciona em condições diferentes pode não existir porque os efeitos são dependentes do pH e da dieta (Calsamiglia et al., 2007a).

Segundo Coneglian (2009), a digestibilidade aparente total da proteína foi influenciada pelos níveis de LCCC fornecido a bovinos, provavelmente porque as quantidades de 2 e 4 g/dia proporcionaram maior fluxo de nitrogênio para o intestino delgado, consequência da diminuição da fermentação de peptídeos e aminácidos no rúmen, em virtude da menor deaminação. Desta forma, poderia diminuir a concentração de amônia circulante no rúmen, principalmente em dietas de alto grão, ou com fornecimento de nitrogênio não proteico via alimento.

Para Calsamiglia et al. (2007a), a limitada informação científica disponível em relação aos efeitos dos óleos funcionais e seus mecanismos de ação pode resultar em confusão e uso inadequado de produtos e doses.

1.3 Nitrogênio não proteico na alimentação de ruminantes

Fontes de nitrogênio não proteico (NNP), como a ureia, têm sido usadas por décadas como uma eficiente e menos onerosa fonte de N para os microrganismos ruminais (Taylor-Edwards et al., 2009a).

O conhecimento nutricional, da disponibilidade e do custo dos alimentos são estratégias que devem ser adotadas quanto à utilização do NNP na alimentação de ruminantes, visto que raramente seus índices zootécnicos são melhorados com o uso desses produtos (Castañeda, 2011).

A ureia proveniente da dieta é rapidamente hidrolisada com a entrada no rúmen, resultando em um pico de amônia ruminal nas primeiras 4h após o consumo. Todavia, a amônia que não é utilizada para a síntese microbiana, é absorvida através do trato gastrointestinal (Huntington, 1986). Desta forma, maiores concentrações de amônia no sangue alteram o metabolismo hepático e podem também modificar o metabolismo da glicose no fígado e tecidos periféricos (Huntington et al., 2006), além de causar queda no consumo alimentar e desempenho, e poder levar à morte animal (Huntington et al., 2006).

Uma das principais funções do fígado é remover da circulação a amônia potencialmente tóxica, utilizá-la para a síntese de compostos nitrogenados necessários ao metabolismo ou converter a ureia em um produto final não tóxico do metabolismo do nitrogênio (Huntington et al., 2006).

Uma eficiente maneira de minimizar o excesso de amônia que chega ao fígado é aumentar a utilização microbiana da amônia através da modulação do que chega ao rúmen (Taylor-Edwards et al., 2009b). O excesso de amônia é convertido em ureia, estimulando o aumento no consumo de água pelos ruminantes, pois um maior volume urinário é necessário para excretar a ureia (NRC, 2001).

Em dietas com alto grão para ruminantes, a taxa de fermentação ruminal de grãos altamente processados e a taxa de hidrólise da ureia pode não ser sincronizada, o que pode resultar em uma quantidade de ureia não utilizada pelos microrganismos ruminais (Bourg et al., 2012).

Em bovinos leiteiros, a utilização de fontes de NNP são alternativas atrativas, pois seu custo é menor quando comparado com fontes de proteína verdadeira. No entanto, o uso da ureia comum é feito com precaução, pois é relatado baixo o consumo de

alimentos, diminuição da gordura do leite e pode levar à morte, pela rápida conversão da ureia em amônia no rúmen (Golombeski et al., 2006).

O uso da ureia de liberação lenta (ULL) proporciona a oportunidade de sincronismo entre a fermentação ruminal dos cardoidratos e a liberação do nitrogênio não proteico. Poderia disponibilizar ureia em taxas mais lentas, permitindo maior eficiência de utilização da amônia e, portanto, melhor retenção e utilização do N (Wahrmund et al., 2007; Bourg et al., 2012). Além disso, poderia favorecer a aceitabilidade dos animais a alguns suplementos (Owens et al., 1980).

A utilização da ULL não é recente. Males et al. (1979) já relataram que a utilização da ULL além de diminuir os riscos de intoxicação por amônia, pela lenta liberação deste, poderia servir como um suplemento proteico para animais consumindo gramíneas temperadas em períodos de inverno, visto que a lenta e constante liberação de amônia ao longo do dia proporcionou substrato para a fermentação ruminal.

Previamente, o uso de fontes de ULL como o biureto, amireia, ureia encapsulada ou ureia fosfato mostraram-se ineficientes ou por liberar o NNP muito lentamente a ponto de ser utilizado ineficientemente pelos microrganismos ruminais, ou muito rapidamente distanciando-se dos benefícios a que se propunha (Bourg et al., 2012).

A necessidade de adaptação dos animais à ureia e à sincronização entre as taxas de degradação de nutrientes no rúmen (Golombeski et al., 2006), permitindo um nível constante de amônia ruminal, tem direcionado as pesquisas para a busca de produtos que atendam essas exigências (Castañeda, 2011).

Huntington et al. (2006), partindo do pressuposto que uma solução aquosa de ureia protegida por CaCl_2 reduziria a hidrólise da ureia no rúmen dos bovinos e diminuiria a concentração de amônia e ureia no sangue, como consequência da absorção da amônia a partir do trato digestivo, verificaram que realmente o produto cumpriu com sua função, mitigando a rápida liberação da amônia no rúmen e subsequentes efeitos no metabolismo da amônia, ureia, glicose e lactato.

Da mesma forma, ao utilizarem a ureia encapsulada com CaCl_2 , Golombeski et al. (2006) verificaram que houve maior controle na liberação de amônia no rúmen, aumento na degradabilidade da proteína, queda do consumo de matéria seca pelos animais, mas aumento na eficiência alimentar.

Galo et al. (2003) alimentaram vacas leiteiras com ureia revestida com polímeros e não observaram nenhum efeito com relação ao consumo de matéria seca. Mas, o

revestimento de polímero foi facilmente hidrolisado, e, portanto, não foi eficaz na redução da excreção de nitrogênio pelos animais.

A baixa eficiência da proteção da ureia encapsulada também foi verificada por Azevedo et al. (2010), em que o pico de produção de amônia de novilhos, consumindo feno de baixa qualidade, foi maior que a dieta controle e semelhante à ureia. Mas, o pH se manteve constante entre os tratamentos, da mesma forma que a degradabilidade da fibra.

Taylor-Edwards et al. (2009a) também não verificaram influência das fontes de NNP no pH do líquido ruminal e na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, em contrapartida, os animais que consumiram ULL apresentaram teores de amônia menores em relação aos animais que consumiram ureia comum.

O Optigen II® (Alltech) é um produto com taxa de liberação intermediária do N, sendo menor que a ureia e maior do que algumas fontes de ULL. Optigen II® proporciona alta concentração de N, 256% de proteína bruta (PB), comparado com fontes de proteína verdadeira, como o farelo de soja (53% PB em base da MS), que apresenta equivalente proteico inferior à ureia pecuária (281% de PB).

O Optigen II® surge como uma alternativa promissora e eficiente de NNP de liberação lenta. O produto visa diminuir a taxa de hidrólise da ureia e melhorar a sincronia entre disponibilidade de energia e de nitrogênio no rúmen, aumentando a incorporação de nitrogênio na microbiota ruminal.

Bourg et al. (2012), ao fornecerem ureia ou Optigen II® na dieta de novilhos canulados, não observaram influência das fontes de NNP, tampouco dos níveis fornecidos em relação ao balanço de nitrogênio, consumo e digestibilidade da MS.

Todavia, Taylor-Edwards et al. (2009b), avaliando a utilização do Optigen® II em substituição à ureia, não verificaram efeito da ULL na melhora da digestibilidade aparente ruminal da fibra em detergente neutro.

O consumo de MS e o pH do líquido ruminal não foram influenciados pelas fontes de NNP utilizados por Wahrmond et al. (2007) ao compararem a utilização de ureia e de Optigen II® na alimentação de bovinos. Ainda sugeriram que por não haver diferenças entre os tratamentos, o Optigen II® é tão efetivo quanto à ureia em manter o peso corporal dos animais. Todavia, a ULL utilizada proporcionou menores concentrações de nitrogênio ureico plasmático, o que direcionou a aumentos na eficiência de utilização no N.

Ao usarem o bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carboidrato associado ao Optigen II®, Lascano et al. (2012) verificaram que a digestibilidade da matéria seca e da matéria orgânica tendeu a ser 2,6% inferior entre as novilhas leiteiras que consumiram o Optigen II® em comparação aos que consumiram farelo de soja como fonte de proteína. Da mesma forma, a digestibilidade do N e do amido diminuiu 2% com o consumo da ULL. Em contrapartida, a digestibilidade da fibra melhorou com a fonte de NNP.

O aumento na substituição da ureia pelo Optigen® aumentou ($P=0,0243$) linearmente a digestibilidade da proteína bruta de bovinos consumindo suplementos proteico-energéticos, ULL e forragens de baixa qualidade (Gonçalves, 2006). Akay et al. (2004) verificaram que a ureia encapsulada permitiu maior síntese de proteína bacteriana e utilização mais rápida de nutrientes em relação à dieta controle, aumentando a utilização de matéria orgânica, carboidratos totais, fibra em detergente ácido e fibra em detergente neutro, nas quantidades de 8,0; 4,0; 16,6 e 6,8%, respectivamente, quando comparado ao controle.

1.4 Hipótese

Com base na revisão realizada, é expressivo o efeito que o LCCC pode apresentar com relação à modulação dos microrganismos ruminais, no entanto é necessário o conhecimento da concentração na dieta ou quantidade ideal a ser fornecida aos bovinos, principalmente quando fornecemos dietas de alto grão. A limitada informação científica disponível em relação aos seus efeitos e mecanismos de ação pode resultar em confusão e uso inadequado de produtos e doses (Calsamiglia et al., 2007a).

O LCCC é capaz de diminuir a desaminação da proteína no rúmen, diminuindo as concentrações de nitrogênio amoniacal, favorecendo que maiores concentrações de proteína cheguem ao intestino e sejam absorvidas (Coneglian, 2009).

A ULL age com o intuito de manter, ao longo do dia, uniformes os níveis de nitrogênio amoniacal, maximizando a produção de proteína microbiana pela sincronização entre a degradação da ureia e dos carboidratos provenientes do alimento.

Assim, é interessante verificarmos se esses efeitos podem ser maximizados ao associarmos o LCCC e as fontes de NNP na dieta de ruminantes. Desta forma, proporcionaria a diminuição na concentração de amônia circulante no rúmen e maximizaria a eficiência de síntese microbiana, o que favoreceria a digestibilidade dos nutrientes.

Referências

- AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S. et al. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1075-1080, 2004.
- AGOSTINI-COSTA, T.D.; JALES, K.A.; OLIVEIRA, M.E.B. et al. **Determinação espectrofotométrica de ácido anacárdico em amêndoas de castanha de caju**. Brasília: Embrapa, 2005. 10p. (Comunicado Técnico, 122).
- AKAY, V.; TIKOFSKY, J.; HOLTZ, C. et al. Optigen® 1200: controlled release of non-protein nitrogen in the rumen. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, ALLTECH'S TWENTY FIRST ANNUAL SYMPOSIUM, 20., 2004, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham University Press, 2004. p.179-185.
- AMORATI, R.; PEDULLI, G.F.; VALGIMIGLI, L. et al. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n.11, p.2142-2146, 2001.
- ANDRADE, T.J.A.S.; ARAÚJO, B.Q.; CITÓ, A.M.G.L. et al. Antioxidant properties and chemical composition of technical cashew nut shell liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.1044-1048, 2011.
- ANDRADE NETO, J.C. **Competitividade na pequena produção agroindustrial: estudo na agroindústria da castanha de caju**. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia da Produção) – Universidade do Rio Grande do Norte, Natal.
- AZEVEDO, E.B.; PATIÑO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.622-627, 2010.
- BANCO DO NORDESTE DO BRASIL – BNB. **Agroindústria do caju no Nordeste: situação atual e perspectivas**. Fortaleza: Etene/BNB, 1973.
- BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v.17, n.4, p.3989-4006, 2012.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R. et al. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.2, p.886-897, 2007.

- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.209-228, 2008.
- BOURG, B.M.; TEDESCHI, L.O.; WICKERSHAM, T.A. et al. Effects of a slow-release urea product on performance, carcass characteristics, and nitrogen balance of steers fed steam-flaked corn. **Journal of Animal Science**, v.90, n.11, p.3914-3923, 2012.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-253, 2004.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W. et al. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2580-2595, 2007a.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W. et al. The use of essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. In: PENN STATE DAIRY CATTLE NUTRITION WORKSHOP, 2007, Grantville. Anais... Grantville: [s.n.], 2007b. p.87-100.
- CASTAÑEDA, R.D. **Glicerina bruta e ureia de liberação lenta na alimentação de bovinos de corte**. 2011. 63f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- CONEGLIAN, S.M. **Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos**. 2009. 100f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- DIAZ, T.G. **Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da casca da castanha do caju em dietas para ruminantes**. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- GALO, E.; EMANUELE, S.M.; SNIFFEN, C.J. et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.6, p.2154-2162-, 2003.
- GOLOMBESKI, G.L.; KALSCHEUR, K.F.; HIPPEN, A.R. et al. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.11, p.4395-4403, 2006.
- GONÇALVES, A.P. **Uso de ureia de liberação lenta em suplementos proteico-energéticos fornecidos a bovinos recebendo forragens de baixa qualidade**. 2006. 82f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- GONZAGA, W.A. **Preparação e avaliação farmacológica de derivados dos lipídios fenólicos do líquido da castanha de caju**. 2008. 153f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- GUANZIROLI, C.E.; SOUZA, H.M.; VALENTE JUNIOR, A. et al. Entraves ao desenvolvimento da cajucultura no Nordeste: margens de comercialização ou aumentos na produtividade e de escala? **Revista Extensão Rural**, ano 16, n.18, p.96-122, 2009.
- HUNTINGTON, G. B. Uptake and transport of nonprotein nitrogen by the ruminant gut. **Federation Proceedings**, v.45, n.8, p.2272-2276, 1986.
- HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; KRISTENSEN, N.B. et al. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.130, n.3-4, p.225-241, 2006.

- KOHLERT, C.; VAN RENSEN, I.; MÄRZ, R. et al. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Medica**, v.66, n.6, p.495-505, 2000.
- KUBO, I.; OCHI, M.; VIEIRA, P.C. et al. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, n.41, v.6, p.1012-1015, 1993.
- KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.41, n.6, p.1016-1019, 1993b.
- KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T.J. et al. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v.99, n.3, p.555-562, 2006.
- LASCANO, G.J.; VELEZ, M.; TRICARICO, J.M. et al. *Short communication*: Nutrient utilization of fresh sugarcane-based diets with slow-release nonprotein nitrogen addition for control-fed dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.1, p.370-376, 2012.
- LÓPEZ, C.A.A.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C. et al. Effects of cashew nut Shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.1027-1035, 2012.
- MALES, J.R.; MUNSINGER, R.A.; JOHNSON, R.R. In vitro and in vivo ammonia release from “slow-release” urea supplements. **Journal of Animal Science**, v.48, n.4, p.887-892, 1979.
- MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, n.3, p.732-741, 2009.
- NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.17-38, 2007. Supplement.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Washington, DC: The National Academies Press, 2001.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.D. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- OWENS, F.N.; LUSBY, K.S.; MIZWICKI, K. et al. Slow ammonia release form urea: rumen and metabolism studies. **Journal of Animal Science**, v.50, n.3, p.527-531, 1980.
- PAIVA, F.F.A.; GARRUTTI, D.S.; SILVA NETO, R.M.S. **Aproveitamento industrial do caju**. Fortaleza: CNAPT/EMBRAPA/SEBRAE, 2000. p.87. (Documentos nº 38).
- PARASA, L.S.; SUNITA, T.; RAO, K. B. et al. Acetone extract of Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shelliquid against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by minimum inhibitory concentration (MIC). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.3, n.5, p.736-742, 2011.
- PUREVJAV, T. **Effects of functional oils and monensin on cattle finishing programs**. 2011. 106f. Dissertation (Doctor of Philosophy in Animal Science) – Iowa State University, Ames.
- SHINKAI, T., ENISHI, O.; MITSUMORI, M. et al. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.9, p.5309-5316, 2012.

- SPANGHERO, M.; ZANFI, C.; FABBRO, E. et al. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.364-374, 2008.
- TAYLOR-EDWARDS, C.C.; HIBBARD, G.; KITTS, S.E. et al. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.87, n.1, p.200-208, 2009a.
- TAYLOR-EDWARDS, C.C.; ELAM, N.A.; KITTS, S.E. et al. Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.87, n.1, p.209- 221, 2009b.
- TSUJIMOTO, K.; HAYASHI, A.; HA, T.J. et al. Anacardic acid and ferric ion chetation. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.62, n.9-10, p.710-716, 2007.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I.; HENDERICKX, H.K. Effect of fatty acid derivates on rumen methane and propionate in vitro. **Applied Microbiology**, v.21, n.2, p.365-366, 1971.
- VIEIRA, L.M.; SOUZA, M.S.B.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpa de caju (*Anacardium occidentale*). In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 4., 2009, Belém. **Anais...** Belém: [s.n.], 2009. 9p.
- WAHRMUND, J.; ARAUJO, D.B.; HERSOM, M. et al. Evaluation of Optigen II® as a source of rumen degradable protein for mature beef cows. **Florida Beef Report**, p.61-63, 2007.
- WALLACE, R. J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of Nutrition Society**, v.63, n.4, p.621-629, 2004.
- WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S. et al. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p.5258-5267, 2010.
- ZAWADZKI, F. **Glicerina, antioxidantes e carotenóides sobre a qualidade e traçabilidade da carne de bovinos e ovinos**. 2013. 202f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a adição de níveis de líquido da casca da castanha de caju em dietas alto grão fornecidos aos bovinos, visando melhores respostas de digestibilidade parcial e total dos nutrientes, parâmetros ruminais, nitrogênio ureico plasmático e eficiência de síntese microbiana dos animais.

Avaliar os efeitos do líquido da casca da castanha de caju associado a duas fontes de nitrogênio não proteico sobre a digestibilidade parcial e total dos nutrientes, parâmetros do meio ruminal, nitrogênio ureico plasmático e eficiência de síntese microbiana de bovinos consumindo dietas alto grão.

III – Níveis de líquido da casca da castanha de caju em dietas alto grão para bovinos

RESUMO - Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) na dieta de bovinos alimentados com dietas alto grão, sobre a ingestão de matéria seca (IMS), o coeficiente de digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, os parâmetros de fermentação ruminal, eficiência de síntese microbiana no rúmen e parâmetros sanguíneos. Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa (425 kg), providos de cânula ruminal e duodenal. As dietas (em base na MS) continham 144 g kg⁻¹ de proteína bruta (PB) e 799 g kg⁻¹ de nutrientes digestivos totais (NDT) em uma relação volumoso:concentrado de 15:85. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, com períodos experimentais de dez dias. Os níveis de LCCC utilizados foram: controle = tratamento sem LCCC; 0,03% = 300 mg de LCCC/kg de concentrado; 0,06% = 600 mg de LCCC/kg de concentrado e 0,12% = 1.200 mg de LCCC/kg de concentrado. A IMS e os coeficientes de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, matéria orgânica (MO), PB, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF) e amido não foram influenciados pela inclusão de LCCC na dieta (P>0,05)., o CDR do extrato etéreo (EE) apresentou resposta quadrática (P<0,05), em que os animais que consumiram 0 e 300 mg de LCCC d⁻¹ apresentaram menores valores para essa variável. Ainda, para os animais que consumiram o LCCC, o pH do líquido ruminal apresentou-se maior (P<0,05) em relação ao tratamento controle. O uso do LCCC não influenciou o nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no rúmen, o nitrogênio ureico plasmático (NUP) e a eficiência de síntese microbiana (P>0,05). Desta forma, independente do nível de LCCC utilizado, este se mostrou eficiente em controlar o pH ruminal de animais consumindo dietas alto grão.

Palavras-chave: aditivo natural, digestibilidade parcial, digestibilidade total, fermentação ruminal, ruminantes

Levels of cashew nut shell liquid in high grain diets for cattle

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the inclusion of cashew nut shell liquid (CNSL) levels in concentrated of cattle fed high grain diets on dry matter intake (DMI), partial and total apparent digestibility coefficients of nutrients, fermentation kinetics and microbial efficiency. Four Holstein steers (425 kg) fitted with ruminal and duodenal cannula were used. The diets had (in DM basis) 144 g kg⁻¹ of crude protein and 799 g kg⁻¹ of total digestive nutrients. The diet was composted of a forage:concentrate relation of 15:85. The experimental design was a 4 x 4 Latin square with 10 days of experimental periods. The levels of CNSL were: control = no CNSL, 0.03% = 300 mg of CNSL/kg of concentrate, 0.06% = 600 mg of CNSL/kg of concentrate and 0.12% = 1200 mg of CNSL/kg of concentrate. DMI and partial and total apparent digestibility coefficients of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), non-fiber carbohydrates (NFC) and starch were not affected by experimental diets ($P > 0.05$). However, the ruminal digestibility of ether extract (EE) showed quadratic response ($P < 0.05$), and animals that consumed 0 and 300 mg LCCC d⁻¹ had lower ruminal digestibility of EE. When animals consumed the CNSL, the ruminal pH was higher ($P < 0.05$) compared to control treatment. The ammonia nitrogen (NH₃-N), plasma urea nitrogen (PUN) and microbial efficiency of the animals remained constant between treatments ($P > 0.05$). Thus, regardless of the level of CNSL used, its proved to be efficient in controlling rumen pH of animals fed high-grain diets, which makes it a promising food additive for ruminants.

Key Words: additives, partial digestibility, ruminants, ruminal fermentation, total digestibility

Introdução

Os microrganismos presentes no trato gastrointestinal dos ruminantes são os principais agentes para a digestão dos alimentos ingeridos, via consumo de forragens (Van Soest, 1994). Mas para que esses microrganismos cumpram seu papel principal, é preciso que o ambiente ruminal apresente condições favoráveis como manutenção da temperatura, do pH, ausência de oxigênio e a presença de microrganismos (Furlan et al., 2006).

Em dietas alto grão, há grande produção de ácidos graxos voláteis e de lactato. Com isso, os mecanismos tamponantes do rúmen podem ser ineficientes e o pH ruminal pode cair para níveis críticos abaixo de 5,5, como resultado do acúmulo indesejável dos produtos da fermentação dos carboidratos não estruturais (Van Soest, 1994).

Uma das alternativas de reduzir a formação de lactato em dietas alto grão é o uso de aditivos alimentares capazes de alterar a população microbiana, selecionando as bactérias Gram-negativas, que fermentam ácido láctico e inibindo as Gram-positivas, produtoras de ácido acético, butírico e láctico e hidrogênio.

Dentre os aditivos, o líquido da casca da castanha de caju (LCCC) apresenta características antimicrobianas e seu modo de ação parece ser semelhante aos ionóforos, pois atuam principalmente sobre as bactérias Gram-positivas. Tais bactérias produzem hidrogênio, fumarato e butirato e mostraram-se sensíveis ao LCCC. Essas modificações em relação às espécies de bactérias poderiam causar mudanças na fermentação ruminal, tais como redução na produção de metano e aumento na produção de propionato (Watanabe et al., 2010; Shinkai et al., 2012).

Desta forma, é evidente a possibilidade de uso do LCCC como aditivo alimentar para alterar o ambiente ruminal. No entanto, as respostas provenientes de seu uso na alimentação de ruminantes são escassas. Com isso, a dosagem ideal a ser fornecida aos ruminantes ainda não foi estabelecida.

Assim, o objetivo do experimento foi avaliar se há resposta e qual dosagem ideal do líquido da casca da castanha de caju a ser fornecido na dieta de bovinos confinados, consumindo dietas alto grão, em relação à digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e à eficiência de síntese microbiana.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa, pesando em média 425 kg, providos de cânula ruminal e duodenal. Os animais foram alojados em uma instalação de alvenaria, coberta, com 8,75 m² de área útil, dotadas de comedouro individual e bebedouro automático.

As dietas foram constituídas por 150 g kg⁻¹ de silagem de milho e 850 g kg⁻¹ de ração concentrada, com base na matéria seca, elaborada com grão de milho moído, farelo de soja, minerais, ureia e LCCC (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais utilizadas (g kg⁻¹)

Alimentos	MS ¹	PB	EE	MM	FDNcp	FDA	Amido	Dietas*
Silagem de milho	303,0	62,0	20,2	37,1	522,8	217,5	199,2	150,0
Milho	959,3	82,0	11,4	13,7	106,4	32,1	645,3	778,6
Farelo de soja	966,4	510,1	61,6	34,8	130,6	90,6	85,5	36,6
Ureia	990	2810	-	-	-	-	-	14,1
Mistura mineral ²	990	-	-	990	-	-	-	20,7
Composição química das dietas experimentais (g kg ⁻¹)								
	MS	PB	EE	MM	FDNcp	CNF ³	Amido	NDT ³
Dietas*	960,7	143,7	34,0	37,5	103,0	681,8	594,8	799,0

*Dietas com base na MS. LCCC incluído em percentagem do concentrado, para uma concentração final nas dietas de 300, 600 e 1.200 mg kg⁻¹. ¹MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; MM = matéria mineral, FDN = fibra detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA = fibra detergente ácido. ²Mistura mineral: 551,3 g kg⁻¹ Carbonato de cálcio, 258,4 g kg⁻¹ Caulim, 24,8 g kg⁻¹ Flor de enxofre, 0,059 g kg⁻¹ Iodato de cálcio, 157,9 g kg⁻¹ Sal comum, 0,020 g kg⁻¹ Selenito de sódio, 0,110 g kg⁻¹ Sulfato de cobalto, 2,672 g kg⁻¹ Sulfato de cobre, 2,461 g kg⁻¹ Sulfato de manganês, 2,286 g kg⁻¹ Sulfato de zinco. ³Carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais. Calculados segundo Sniffen et al. (1992).

Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de LCCC no concentrado, conforme segue:

- 1 – Tratamento 0: sem inclusão de LCCC no concentrado (controle);
- 2 – Tratamento 0,03: inclusão de 300 mg de LCCC/ kg de concentrado (0,03%);

- 3 – Tratamento 0,06: inclusão de 600 mg de LCCC/kg de concentrado (0,06%);
- 4 – Tratamento 0,12: inclusão de 1200 mg de LCCC/kg de concentrado (0,12%).

Os alimentos foram fornecidos na forma de mistura completa, à vontade, em duas refeições diárias (8h e 16h), sendo o LCCC misturado aos demais ingredientes durante o preparo da ração concentrada.

Os períodos experimentais tiveram duração de dez dias, sendo os três últimos dias de cada período utilizados para coleta de líquido ruminal, digesta duodenal e fezes. Visando um período menor de adaptação à dieta, no último dia de cada período experimental, após a pesagem dos animais, foi realizado o esvaziamento e a troca de conteúdo ruminal entre os animais, da mesma forma realizada com as dietas.

O consumo dos animais foi determinado considerando o fornecido e as sobras, sendo estas recolhidas e pesadas diariamente, antes da primeira refeição. Para a determinação da digestibilidade ruminal, intestinal e total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), da proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não fibrosos (CNF), foram efetuadas coletas de amostras de digesta duodenal (aproximadamente, 300 mL), através de cânula duodenal e de fezes diretamente na ampola retal. Para determinação do fluxo duodenal e da produção fecal, todos os animais receberam uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO₂) diretamente no rúmen, do primeiro ao último dia de cada período experimental.

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram realizadas a partir do sétimo dia, durante três dias, em horários alternados. Ao final, obtivemos os seguintes horários de coletas: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21h após a primeira alimentação, totalizando oito amostras de digesta duodenal e oito amostras de fezes por tratamento/período.

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificadas e congeladas (-20°C). Posteriormente, as amostras foram descongeladas, pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72h e moídas em moinhos tipo *Willey*, utilizando peneira com crivos de 1 mm. Em seguida, as amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, e realizada uma amostra composta de digesta duodenal e de fezes por tratamento/período.

As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, da digesta duodenal e de fezes foram analisadas determinando-se os teores de MS, MO, PB, EE (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDN_{cp}), segundo Van Soest et al. (1991). A percentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada segundo equação descrita por Sniffen et al. (1992).

$$\text{NDT} = \text{PBD} + \text{FDND} + \text{CNFD} + (\text{EED} \times 2,25)$$

em que: NDT = nutrientes digestíveis totais (g kg⁻¹); PBD = proteína bruta digestível (g kg⁻¹); FDND= fibra em detergente neutro digestível (g kg⁻¹); CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis (g kg⁻¹); EED= extrato etéreo digestível (g kg⁻¹).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados, segundo NRC (2001):

$$\text{CNF (g kg}^{-1}\text{)} = 100 - ((\text{g kg}^{-1}) \text{PB} + (\text{g kg}^{-1}) \text{FDN}_{\text{cp}} + (\text{g kg}^{-1}) \text{EE} + (\text{g kg}^{-1}) \text{cinzas})$$

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram analisadas para a determinação da concentração de titânio, segundo Myers et al. (2004).

Para a determinação do amido, aproximadamente 30 g de amostras de alimentos, sobras, digesta duodenal e fezes foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Físico-Químicas da Fundação ABC em Castro – PR. A metodologia utilizada foi o método polarimétrico, que é compreendido por duas determinações. Na primeira, a amostra é tratada a quente com ácido clorídrico diluído. Após o processo de clarificação e filtração, a rotação óptica da solução é medida por polarimetria. Na segunda fase, a amostra é extraída com etanol a 40%. Depois da acidificação do filtrado com ácido clorídrico, clarificação e filtração, a rotação óptica é medida como na primeira determinação. A diferença entre as duas medições, multiplicada por um fator conhecido, dá o teor de amido da amostra (Directiva 72/199/EEC de 27 de Abril de 1972).

Entre o sétimo e o nono dia de cada período experimental, foram coletadas amostras, via cânula ruminal, de 150 mL de líquido ruminal para determinação do pH e da concentração de N amoniacal (N-NH₃). A primeira coleta foi iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira alimentação do dia, sendo esta coletada no tempo 0 e nas próximas 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21h após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH foi medido em seguida com peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), alíquotas de 50 mL de líquido ruminal foram acidificadas com 1 mL de H₂SO₄ (1:1) e armazenado a -20°C, para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente, e posteriormente, centrifugado a 3.000 x g por 15 min. A concentração de N-NH₃ das amostras foi determinada pelo método de Fenner (1965), modificada por Vieira (1980).

No quarto e no décimo dia experimental de cada período, foram coletadas amostras de sangue. O sangue foi coletado em tubos de vacutainer, com adição de anticoagulante, por meio de punção da veia jugular. Para obtenção do plasma as amostras foram centrifugadas a 2.500 x g por 15 min a 4°C. No plasma, determinou-se a concentração de ureia, segundo o método diacetil modificado (GoldAnalisa®) e o N ureico no plasma (NUP) foi obtido por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466 correspondente ao teor de N na ureia.

Para a eficiência de síntese microbiana, no nono dia de cada período experimental, 4h após a segunda alimentação e no décimo dia antes do fornecimento da primeira alimentação, foram coletados 1,5 kg de conteúdo ruminal de cada animal, sendo misturado a 500 mL de solução salina (9 g de NaCl L⁻¹) por 1 min em liquidificador e, posteriormente, filtrado em gazes. Após esse procedimento, as amostras foram congeladas a -20°C. Ao final do experimento, as amostras foram descongeladas e as bactérias foram isoladas por centrifugação diferencial (500 x g e 27.000 x g), de acordo com os procedimentos de Cecava et al. (1990). Após a última centrifugação das amostras com água destilada, foi realizada mais uma centrifugação também com água destilada, visando diminuir a participação de solução salina nas amostras e possíveis contaminações com o sal. Os peletes bacterianos resultantes das centrifugações foram secos a 55°C durante 48h e macerados para a determinação de MS, N total, purinas totais e eficiência de síntese microbiana de acordo com Ushida et al. (1985).

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4x4. Os dados foram interpretados por Anova, adotando-se $\alpha = 0,05$ de probabilidade. Empregou-se o teste de Tukey e quando as variáveis dependentes foram influenciadas pelas dietas experimentais, foi realizado um estudo de regressão polinomial. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1).

Resultados e Discussão

Os dados referentes à ingestão, fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total (CDR, CDI e CDT) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) não foram influenciados pelos níveis de LCCC fornecidos aos bovinos (Tabela 2).

Tabela 2 - Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO e PB de bovinos confinados consumindo diferentes níveis de LCCC na dieta

Variáveis	Níveis de LCCC (mg kg ⁻¹)				ER	EPM	P<	
	0	300	600	1200				
MS	ING (g d ⁻¹)	11.018	10.874	10.784	10.467	Y=10.786	585,54	0,92
	FD (g d ⁻¹)	6.019	6.781	6.117	5.687	Y = 6.151	626,18	0,67
	FF (g d ⁻¹)	2.471	2.254	2.322	2.090	Y=2.285	242,76	0,74
	CDR (g kg ⁻¹)	450,85	364,98	434,40	454,20	Y = 426,2	6,14	0,72
	CDI (g kg ⁻¹)	578,28	659,15	619,90	625,83	Y = 620,8	4,10	0,60
	CDT (g kg ⁻¹)	774,03	795,15	784,80	801,48	Y=788,9	1,75	0,71
MO	ING (g d ⁻¹)	10.496	10.312	10.222	9.975	Y=10.2521	561,97	0,93
	FD (g d ⁻¹)	5.404	6.215	5.613	5.133	Y = 5.591	617,12	0,66
	FF (g d ⁻¹)	2.279	2.076	2.157	1.909	Y=2.106	229,53	0,72
	CDR (g kg ⁻¹)	483,08	385,38	452,30	480,48	Y = 450,3	6,54	0,71
	CDI (g kg ⁻¹)	563,35	655,58	614,55	617,65	Y = 612,8	4,63	0,59
	CDT (g kg ⁻¹)	781,33	801,10	788,93	809,43	Y=795,2	1,80	0,71
PB	ING (g d ⁻¹)	1.455	1.424	1.424	1.378	Y=1.420	74,47	0,91
	FD (g d ⁻¹)	944,83	1.066,55	964,36	905,06	Y = 970,2	62,29	0,35
	FF (g d ⁻¹)	348,86	310,19	327,40	302,24	Y=322,2	26,17	0,62
	CDR (g kg ⁻¹)	350,38	244,43	320,35	346,68	Y = 315,5	3,72	0,22
	CDI (g kg ⁻¹)	626,55	709,18	661,23	667,00	Y = 666,0	1,96	0,08
	CDT (g kg ⁻¹)	759,28	783,38	768,90	781,18	Y=773,4	1,36	0,56

ER = equação de regressão, EPM = erro-padrão da média, P = probabilidade.

O consumo médio de MS foi de 10,79 kg d⁻¹, o que representa 2,42 g kg⁻¹ do peso vivo (PV) e 110 g/kg de PV^{0,75}. Cardozo et al. (2006) relataram que os óleos funcionais podem possuir propriedades atrativas e palatáveis que influenciam o consumo dos animais, mas, não obtivemos respostas nesse sentido (P>0,05).

Diaz (2013), avaliando a resposta “in vitro” de níveis crescentes de concentrado associado a níveis crescentes de LCCC em dietas para ruminantes, verificou que para a dieta contendo 800 g/kg de concentrado e 1.200 mg/kg de LCCC, o CDT da MS foi de 797 g kg⁻¹, semelhante ao verificado na Tabela 2.

O fornecimento de 2 e 4 g d⁻¹ de um produto comercial à base de LCCC e óleo de mamona melhorou (P<0,05) o CDT da MS dos alimentos consumidos pelos bovinos.

Para Coneglian (2009), a hipótese desta melhora na digestibilidade da MS provavelmente se deve ao aumento da secreção salivar, dos sucos gástricos, sais biliares e também enzimas do intestino delgado quando se fornecem extratos de plantas da dieta dos animais.

Os resultados de CDR, CDI e CDT da MO não foram influenciados pelo uso do LCCC ($P>0,05$) e discordam de Shinkai et al. (2012) que verificaram que o CDT da MS e MO foram prejudicados com o fornecimento de LCCC, pois houve decréscimo significativo na população de algumas importantes bactérias e dentre elas a *Butyrivibrio fibrisolvens*.

Com relação ao CDR da PB, Maeda et al. (2007) afirmam que maiores digestões ruminais da proteína e conseqüente desaparecimento de nitrogênio podem significar maior absorção de amônia pela parede do rúmen ou menor fixação de nitrogênio na forma de N microbiano, sendo desejáveis valores de digestibilidade ruminal negativos ou próximos de zero, o que não foi verificado na Tabela 2, visto que em média os animais apresentaram um CDR da PB de 316 g kg^{-1} .

O CDT da PB variou entre 720 e 750 g kg^{-1} de MS, sendo semelhantes entre os níveis de LCCC fornecidos ($P>0,05$). McIntosh et al. (2003) verificaram que bovinos consumindo 1 g d^{-1} de um produto comercial à base de timol, eugenol, vanilina e limoneno, não sofreram influência em relação aos padrões de metabolismo proteico. Os autores sugeriram que algum efeito benéfico dos extratos de plantas no metabolismo das proteínas pode acontecer em dietas ricas em fibra, principalmente sobre a ação sobre as bactérias celulolíticas, que não é o caso da dieta adotada no presente experimento.

Os principais efeitos dos extratos de plantas no rúmen podem ser pela redução da degradação da proteína e do amido e inibição da degradação de aminoácidos por uma ação seletiva em certos microrganismos ruminais, especialmente algumas bactérias (Hart et al., 2008). Assim, a presença de LCCC na dieta pode favorecer o CDT da PB, possivelmente por maior fluxo de nitrogênio para o intestino delgado, conseqüência da diminuição da fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, em virtude da menor deaminação (Coneglian, 2009).

Outro modo de ação sugere que os óleos funcionais afetam o padrão de colonização de substratos ricos em amido no rúmen ou podem inibir as bactérias hiperprodutoras de amônia, envolvidas na deaminação dos aminoácidos (Patra, 2011).

A ingestão da fibra (FDNcp) (Tabela 3) não foi afetada pelos níveis de administração do LCCC. Estes dados corroboram com os encontrados por Segabinazzi

(2008), ao fornecer extratos vegetais como alternativa à monensina a vacas em confinamento, e Shinkai et al. (2012) ao avaliarem a mitigação na produção de metano de bovinos alimentados com LCCC.

Em média, o CDT da FDN foi $638,6 \text{ g kg}^{-1}$, sendo satisfatório para a dieta utilizada, mas superior ao constatado por Coneglian (2009), ao verificar que o maior (8 g d^{-1}) e o menor nível (1 g d^{-1}) de inclusão dos extratos de plantas proporcionaram menores digestibilidades da fibra (459 e 458 g d^{-1} , respectivamente), em dietas alto grão.

Esta resposta referente ao CDT da FDN ($P > 0,05$) (Tabela 3) corrobora com os resultados mencionados por Castillejos et al. (2006), os quais verificaram que o efeito dos extratos de plantas sobre a microbiota ruminal pode variar dependendo da dose e do tipo do óleo utilizado, apesar dos dados não serem conclusivos.

Tabela 3 - Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da FDNcp, EE, amido e CNF de bovinos confinados consumindo diferentes níveis de LCCC na dieta

Variáveis	Níveis de LCCC (mg kg^{-1})				ER	EPM	P<	
	0	300	600	1200				
FDNcp	ING (g d^{-1})	1.829	1.875	1.794	1.751	Y=1.812	108,62	0,88
	FD (g d^{-1})	759,21	842,28	753,99	711,86	Y = 766,8	117,11	0,89
	FF (g d^{-1})	664,38	692,81	647,04	628,95	Y=658,3	95,14	0,97
	CDR (g kg^{-1})	585,55	562,33	575,60	593,48	Y = 579,2	5,23	0,98
	CDI (g kg^{-1})	98,85	185,68	131,13	132,00	Y = 134,7	3,84	0,47
	CDT (g kg^{-1})	636,20	641,25	636,40	640,50	Y = 638,6	4,26	0,99
EE	ING (g d^{-1})	354,80	349,86	347,15	333,72	Y = 346,4	18,33	0,87
	FD (g d^{-1})	254,20	278,26	228,99	218,36	Y = 244,9	16,29	0,10
	FF (g d^{-1})	86,65	83,46	84,05	87,71	Y = 85,5	12,21	0,99
	CDR (g kg^{-1})	286,65	198,38	342,10	344,78	*	3,26	0,03
	CDI (g kg^{-1})	660,06	698,63	633,60	591,50	Y = 646,1	5,02	0,52
	CDT (g kg^{-1})	757,23	757,58	758,45	735,35	Y=752,2	3,52	0,96
Amido	ING (g d^{-1})	5.917	5.786	5.784	5.606	Y = 5.773	297,86	0,91
	FD (g d^{-1})	2.303	2.865	2.568	2.294	Y = 2.507	463,76	0,80
	FF (g d^{-1})	656,27	526,18	598,74	439,55	Y = 555,2	116,41	0,60
	CDR (g kg^{-1})	605,70	491,80	561,68	586,78	Y = 561,5	8,49	0,80
	CDI (g kg^{-1})	703,10	806,30	769,13	796,73	Y = 768,8	3,71	0,23
	CDT (g kg^{-1})	886,80	909,98	897,43	922,78	Y = 904,2	1,89	0,59
CNF	ING (g d^{-1})	6.965	6.815	6.814	6.610	Y=6.801	374,04	0,93
	FD (g d^{-1})	3.591	4.188	3.826	3.450	Y = 3.764	594,41	0,83
	FF (g d^{-1})	1.179,5	989,69	1.098,7	889,67	Y=1.039	165,36	0,64
	CDR (g kg^{-1})	478,35	369,25	443,28	437,55	Y = 441,1	9,31	0,83
	CDI (g kg^{-1})	658,63	735,22	713,80	728,90	Y = 713,7	3,65	0,35
	CDT (g kg^{-1})	827,80	855,63	839,95	866,60	Y = 847,5	2,23	0,64
NDT ¹ (g kg^{-1})	784,45	804,28	793,05	810,25	Y = 798,0	1,68	0,72	

ER = equação de regressão, EPM = erro-padrão da média, P = probabilidade. ¹Calculado segundo Sniffen et al. (1992). *Y = $28,66 - 9,53 X + 2,65 X^2 - 0,15 X^3$ $r^2 = 52,41$ $P = 0,0142$.

O CDT do extrato etéreo (EE) não foi influenciado pela adição de LCCC à dieta ($P>0,05$), no entanto, seu CDR apresentou um comportamento quadrático, sendo menor para os animais que consumiram 0 e 300 mg de LCCC/kg de concentrado ($P<0,05$). Todavia, de forma geral, apresentaram valores de CDR do EE elevados. Para Ítavo et al. (2002), valores de digestão ruminal do EE negativos ou próximos de 0 seriam esperados, pois não há microrganismo ruminal capaz de utilizar lipídios como fonte de energia.

Os resultados referentes à ingestão e coeficiente de digestibilidade parcial e total do amido não foram influenciados pela adição de LCCC na dieta (Tabela 3). A dieta experimental proporcionou uma ingestão média de MS de 10.786 g d⁻¹, uma ingestão de FDN de 1.812 g d⁻¹ (16,8 g kg⁻¹) e ingestão de amido de 5.773 g d⁻¹ (53,5 g kg⁻¹ do total e 83 g kg⁻¹ dos CNF).

Luebbe et al. (2012), ao avaliarem dietas com diferentes fontes de amido no desempenho, digestibilidade de nutrientes e características de fermentação ruminal, verificaram que em uma dieta com 55 g kg⁻¹ de amido, representado basicamente pelo milho, apresentou coeficiente de digestibilidade ruminal de 82 g kg⁻¹, digestibilidade intestinal de 78 g kg⁻¹ e digestibilidade total de 96 g kg⁻¹.

Van Soest (1994) afirma que o consumo elevado de amido, proveniente principalmente de dietas alto grão, pode proporcionar efeitos negativos ao animal pela sua rápida fermentação e desenvolvimento de grandes quantidades de ácido lático como produto primário. Assim, o pH do rúmen diminui pela inadequada capacidade tamponante do órgão e isso pode proporcionar distúrbios metabólicos ao animal, como acidose. Desta forma, com o elevado consumo de amido (Tabela 3) era esperado que a digestibilidade intestinal e o pH ruminal dos animais fossem menor dos que os verificados nas Tabelas 3 e 4.

A inclusão do LCCC na dieta não influenciou as respostas relacionadas aos carboidratos não fibrosos (CNF) (Tabela 3), mas em média obtiveram valores de 848 g kg⁻¹ de digestibilidade total, sendo muito próximos aos verificados por Detmann et al. (2006) para novilhos em crescimento e terminação, consumindo dietas com valores de CNF variando entre 38,62 e 49,11 g kg⁻¹ da MS. Em contrapartida, Coneglian (2009) verificou que o consumo de 8 g d⁻¹ do produto Essential® diminuiu a digestibilidade dos CNF.

O pH do líquido ruminal foi influenciado ($P<0,05$) pelo consumo do LCCC (Tabela 4 e Figura 1). Diaz (2013) verificou que a inclusão do LCCC aumentou

linearmente o pH do líquido ruminal. Provavelmente, o efeito de controle do pH está relacionado à atividade antimicrobiana do LCCC contra as bactérias Gram-positivas, o que promove o crescimento de microrganismos Gram-negativos, tais como *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* (Watanabe et al., 2010), principais bactérias utilizadoras do lactato como substrato energético.

Em dietas alto grão, há grande produção de ácidos graxos voláteis e de lactato. Com isso, os mecanismos tamponantes do rúmen podem ser ineficientes, e o pH ruminal pode cair para níveis críticos abaixo de 5,5, como resultado do acúmulo indesejável dos produtos da fermentação dos carboidratos não estruturais (Van Soest, 1994). Desta forma, era esperado que o pH do líquido ruminal dos animais fosse mais ácido, visto que diariamente consumiram 850 g kg⁻¹ de concentrado, embora, não foi o verificado na Tabela 4.

Cardozo et al. (2005) e Spanghero et al. (2008) sugerem que os efeitos de alguns extratos de plantas, como os provenientes do alho, orégano, cravo, anis, canela e casca de laranja podem ser pH dependentes, agindo de forma mais eficaz quando o pH do rúmen encontra-se próximo a 5,5 o que não foi verificado no presente estudo. Desta forma, esse mecanismo de dependência de um pH ruminal mais ácido para expressar o máximo efeito de alguns extratos de plantas, também pode ter influenciado as respostas verificadas para o uso de LCCC (Tabela 4).

Tabela 4 - pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal, nitrogênio ureico plasmático (NUP) e eficiência de síntese microbiana (ES) em bovinos confinados consumindo dietas com LCCC

Variáveis	LCCC (mg kg ⁻¹)				ER	EPM	P<
	0	300	600	1200			
pH	6,0 ^a	6,2 ^b	6,3 ^b	6,2 ^b	Y = 6,2	0,1	0,0004
N-NH ₃ (mg dL ⁻¹)	14,5	12,4	12,1	13,7	Y = 13,3	0,8	0,22
NUP (mg dL ⁻¹)	13,9	14,2	12,8	13,3	Y = 13,6	1,3	0,88
ES (g N microb/kg MODR) ¹	23,1	33,0	26,2	23,0	Y = 26,3	5,8	0,59

¹ g N microb/kg MODR = gramas de nitrogênio microbiano/kg de matéria orgânica degradada no rúmen.

A atividade inibitória dos óleos funcionais em relação à população de bactérias envolvem a produção ruminal de amônia, o que foi verificado “in vitro” por McIntosh et al. (2003) e Newbold et al. (2004), mas no presente estudo, a inclusão de LCCC não influenciou a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen (Tabela 4 e Figura 2), concordando com resultados “in vitro” (Benchaar et al., 2006; Spanghero et al., 2008) e “in vivo” (Khiaosa-ard & Zebeli, 2013).

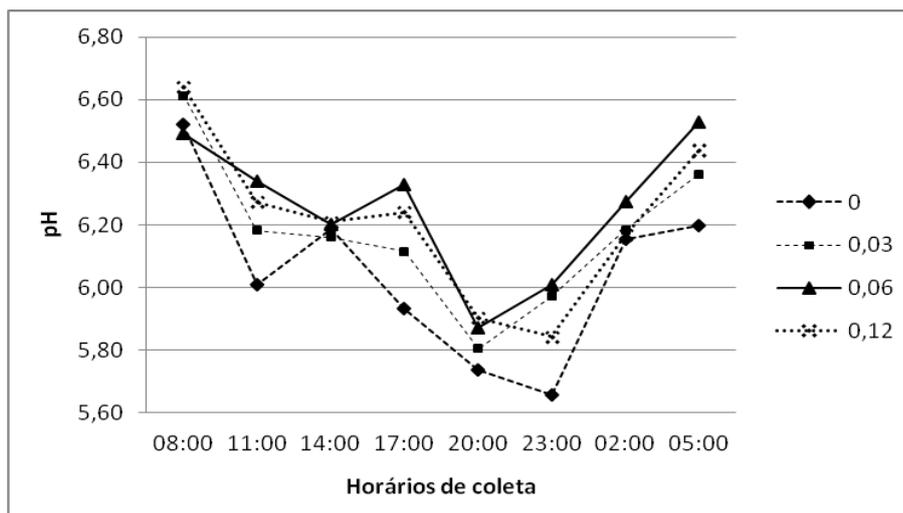


Figura 1 - Valores médios para pH ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia

Diaz (2013) verificou que o uso de LCCC reduziu linearmente a concentração de $N-NH_3$ no rúmen, provavelmente pela inibição produzida pelos compostos ativos do LCCC no crescimento de bactérias proteolíticas, favorecendo o crescimento de microrganismos que utilizam a amônia como fonte de energia (Watanabe et al., 2010).

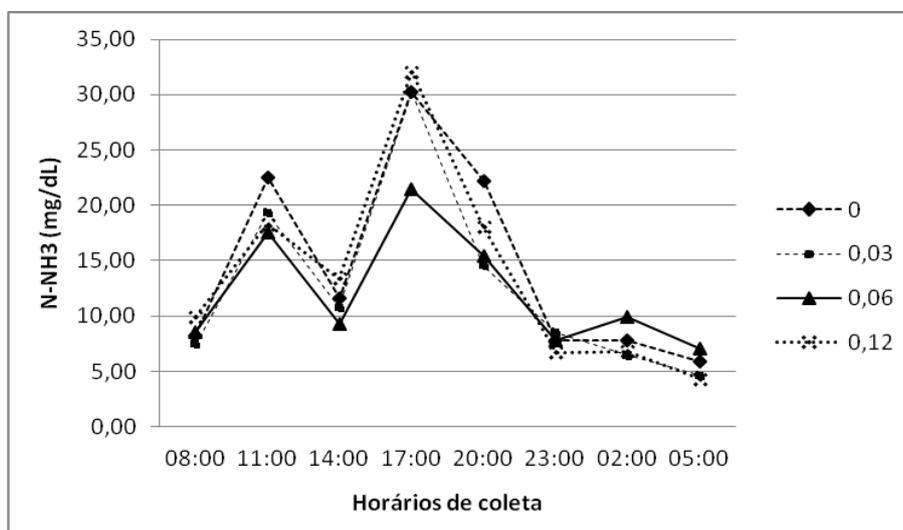


Figura 2 - Valores médios para nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) do líquido ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia

Castillejos et al. (2007) sugerem que um longo período de adaptação das bactérias ruminais aos óleos funcionais (no mínimo, 4 semanas) pode ser requerido para se obter a depressão na concentração de $N-NH_3$, o que não foi realizado neste experimento, os autores afirmam que para modificações nas concentrações e proporções de ácidos

graxos de cadeia curta é requerido mais de 24h e menos de seis dias para serem manipulados pelos óleos funcionais.

Khiaosa-ard & Zebeli (2013) verificaram uma marcada supressão na concentração de amônia ruminal com doses de extrato de plantas maiores que 100 g kg^{-1} de MS, mas este alto consumo não foi adotado no presente estudo.

O valor médio de nitrogênio ureico plasmático (NUP) para todos os tratamentos foi de $13,26 \text{ mg de NUP dL}^{-1}$ (Tabela 4), estando dentro da faixa ideal entre $13,5$ e 15 mg dL^{-1} considerados por Valadares et al. (1997), o que proporcionaria a máxima eficiência microbiana., valores acima dos recomendados por Valadares et al. (1997) poderiam proporcionar perda de proteína no processo de fermentação ruminal.

Tekippe et al. (2011) verificaram que vacas em produção consumindo 500 g de folhas de orégano dia^{-1} , obtiveram um aumento do nitrogênio plasmático, como consequência do aumento da concentração de amônia.

Os dados de eficiência de síntese microbiana não foram influenciados pelo LCCC, mas apresentaram valores satisfatórios ao tipo de dieta fornecida (Tabela 4). Os óleos funcionais podem atuar na inibição do desenvolvimento de protozoários além de maximizar a eficiência de síntese de proteína microbiana (Lambert et al., 2001). Segundo Van Der Merwe et al. (2001), a diminuição ruminal da concentração de amônia pode ser um indicativo do aumento da síntese de proteína microbiana, além do pH ruminal mais elevado.

Os óleos funcionais podem ser mais efetivos em sistemas intensivos de alimentação, como dietas com altas proporções de concentrado de bovinos em terminação ou bovinos leiteiros de alta produção, em que o líquido ruminal é mais ácido. Em algumas situações, a baixa relação acetato:propionato poderia aumentar a eficiência de utilização do alimento, especialmente em animais em terminação e também em vacas em alta produção, se a escassez de acetato ruminal não for limitante para a síntese de gordura (Spanghero et al., 2008).

Hart et al. (2008) afirmam que os efeitos dos óleos funcionais são amplos e frequentemente contraditórios, e isto é pelas diferenças nos extratos de plantas utilizados. A variação da concentração e da qualidade dos compostos ativos dentro da mesma espécie crescida em diferentes locais, a quantidade fornecida e o tipo de dieta basal proporcionada aos animais podem ser os responsáveis por essas contradições nas respostas.

Conclusões

A inclusão de líquido da casca da castanha de caju, em dose superior a 300 mg kg^{-1} de matéria seca, em dietas ricas em grãos de cereais para bovinos confinados aumenta e mantém o pH ruminal acima de 6,2. Os níveis de líquido da casca da castanha de caju não influenciam a digestibilidade total e parcial dos nutrientes avaliados, bem como o nitrogênio ureico plasmático e eficiência de síntese microbiana.

Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R. et al. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.11, p.4352-4364, 2006.
- CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. et al. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.83, n.11, p.2572-2579, 2005.
- CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. et al. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. **Journal of Animal Science**, v.84, n.10, p.2801-2808, 2006.
- CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.7, p.2649-2658, 2006.
- CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. et al. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compound on rumen fermentation. **Animal of Feed Science and Technology**, v.132, n.3-4, p.186-201, 2007.
- CECAVA, M.J., MERCHEN, N.R., GAY L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.
- CONEGLIAN, S.M. **Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos**. 2009. 100f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T. et al. Estimativa da digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos em bovinos utilizando-se o conceito de entidade nutricional em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1479-1486, 2006.
- DIAZ, T.G. **Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da castanha de caju em dietas para ruminantes**. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)–Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.1-21.
- HART, K.J.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; DUVAL, S.M. et al. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science Technology**, v.147, n.1, p.8-35, 2008.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Consumo e digestibilidade aparentes totais e parciais de nutrientes em novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1543-1552, 2002.
- KHIAOSA-ARD, R.; ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.91, n.4, p.1819-1830, 2013.

- LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal Applied Microbiology**, v.91, n.3, p.453-462, 2001.
- LUEBBE, M.K.; PATTERSON, J.M.; JENKINS, K.H. et al. Wet distillers grain plus solubles concentration in steam-flaked-corn-based diets: effects on feedlot cattle performance, carcass characteristics, nutrient digestibility, and ruminal fermentation characteristics. **Journal of Animal Science**, v.90, n.5, p.1589-1602, 2012.
- MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; GERON, L.J.V. et al. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.716-726, 2007.
- McINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.8, p.5011-5014, 2003.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, n.1, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Washington, DC: The National Academy Press, 2001.
- NEWBOLD, C.J.; McINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P. Effects of specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.114, n.1-4, p.105-112, 2004.
- PATRA, A.K. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n.5, p.416-428, 2011.
- SEGABINAZZI, L.R. Aditivo a base de extratos vegetais como alternativa á monensina sódica na dieta de vacas de corte terminadas em confinamento. 2008. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M. et al. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. 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.
- SPANGHERO, M.; ZANFI, C.; FABBRO, E. et al. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.364-374, 2008.
- TEKIPPE, J.A.; HRISTOV, A.N.; HEYLER, K.S. et al. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.94, n.10, p.5065-5079, 2011.
- USHIDA, K., LASSALAS, B., JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry: Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, n.6, p.1037-1046, 1985.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. Concentrações de amônio ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

- VAN DER MERWE, B.L.; DUGMORE, T.J.; WALSH, K.P. The effect of flavophospholipol (Flavomycin) on milk production and milk urea nitrogen concentration of grazing dairy cows. **South Africa Journal of Animal Science**, v.31, n.2, p.101-105, 2001.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell, 1994.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S. et al. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p.5258-5267, 2010.

IV – Líquido da casca da castanha de caju e duas fontes de nitrogênio não proteico na alimentação de ruminantes

RESUMO - Objetivou-se avaliar a associação do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) com duas fontes de nitrogênio não proteico (NNP), sobre a ingestão de matéria seca (IMS), o coeficiente de digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, os parâmetros de fermentação ruminal, de síntese de proteína microbiana no rúmen e sanguíneos. Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa (316 kg), providos de cânula ruminal e duodenal. As dietas continham (em base na MS) 135 g kg⁻¹ de proteína bruta e 746 g kg⁻¹ de nutrientes digestivos totais em uma relação volumoso:concentrado de 30:70. O delineamento experimental foi o quadrado latino 4 x 4, com períodos experimentais de 14 dias. As fontes de NNP foram a ureia pecuária (U) e a ureia de liberação lenta (ULL) (Optigen®II). Os tratamentos consistiram em dietas contendo U + LCCC; U – LCCC; ULL + LCCC e ULL – LCCC. O LCCC foi incluído em percentagem do concentrado para uma concentração final na dieta de 300 mg kg⁻¹. A IMS e os coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e amido não foram influenciados pelas dietas experimentais. A associação das fontes de NNP e do LCCC não influenciaram o pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), nitrogênio ureico plasmático (NUP) e eficiência de síntese microbiana ruminal dos animais consumindo dietas alto grão.

Palavras-chave: aditivo, bovinos, digestibilidade de nutrientes, nitrogênio

Cashew nut shell liquid and two sources of non-protein nitrogen for ruminants

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the association of the cashew nut shell liquid (CNSL) with two sources of non-protein nitrogen (NPN) on dry matter intake (DMI), partial and total apparent digestibility coefficient of nutrients, ruminal fermentation, microbial synthesis and blood characteristics. Four Holstein steers (316 kg) fitted with ruminal and duodenal cannula were used. Diets had (in DM basis) 135 g.kg⁻¹ of crude protein and 746 g.kg⁻¹ of total digestive nutrients. The forage:concentrate relation was 30:70. The experimental design was a 4 x 4 Latin square with experimental periods of 14 days. The non-protein nitrogen sources used were livestock urea (U) and slow-release urea (SRU) (Optigen ® II). The treatments consisted in diets containing U + CNSL, U – CNSL; SRU + CNSL and SRU – CNSL. The CNSL was added to the diet in a proportion of 300 mg/kg of concentrate. DMI and ruminal, intestinal and total apparent digestibility coefficients of dry matter, organic matter, crude protein, neutral detergent fiber, non-fiber carbohydrates and starch were not affected by experimental diets. The association of the sources of NPN and CNSL did not affect pH, ammonia nitrogen (NH₃-N), plasma urea nitrogen (PUN) and microbial synthesis of animals consuming high grain diets.

Key Words: additives, nutrient digestibility, nitrogen, ruminants

Introdução

O aumento da produtividade tem mudado o perfil das dietas fornecidas aos ruminantes, de ricas em volumoso para ricas em concentrado, para atender ao aumento das exigências nutricionais dos animais de alta produção (Antunes & Rodrigues, 2006).

O aumento da disponibilidade de carboidratos não estruturais e a consequente queda de pH, quando bovinos consomem dietas ricas alto grão, provocam intensas modificações no ambiente ruminal. Há a redução na população de microrganismos celulolíticos, com diminuição na degradação dos carboidratos estruturais e aumento na população dos amilolíticos, que produzem principalmente o lactato, causando acidose ruminal (Van Soest, 1994).

Em sistemas de produção animal, os antibióticos são comumente utilizados para prevenir doenças e desordens metabólicas, como a acidose ruminal, bem como melhorar a eficiência alimentar, funcionando como promotores de crescimento. Recentemente, a preocupação pública sobre o uso rotineiro de antibióticos tem aumentado pelo surgimento de bactérias resistentes a antibióticos que podem representar um risco para a saúde humana (Benchaar et al., 2008).

Desta forma, surge a necessidade de aditivos alternativos para substituir os antibióticos nessa função e os óleos funcionais aparecem com grandes possibilidades (Wallace, 2004). Nesse contexto, o líquido da casca da castanha de caju é apontado como um dos aditivos alimentares capazes de cumprir com essas exigências.

A ureia dietética é rapidamente hidrolisada com a entrada no rúmen, resultando num pico rápido de amônia ruminal, dentro das primeiras horas após o consumo. No entanto, a degradação ruminal de carboidratos e o crescimento microbiano é um processo muito mais lento. A maior sincronia entre esses processos pode melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio não proteico (Taylor-Edwards et al., 2009). Assim, o uso de ureia de liberação lenta (ULL) pode suprir essa necessidade (Bourg et al., 2012).

Desta forma, a diminuição no processo de deaminação no rúmen, diminuindo as concentrações de nitrogênio amoniacal (Coneglian, 2009), e a obtenção de concentrações de nitrogênio amoniacal mais uniforme ao longo do dia que podem ser proporcionadas pela ULL, e pode melhorar a eficiência da produção de proteína microbiana.

Com isso, o objetivo do experimento foi avaliar o efeito do uso ou não do líquido da casca da castanha de caju associado a duas fontes de nitrogênio não proteico sobre a digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes e parâmetros ruminais de bovinos consumindo dietas alto grão.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal, pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandesa, pesando em média 316 kg, providos de cânula ruminal e duodenal. Os animais foram alojados em uma instalação de alvenaria, coberta, em baias individuais, com 8,75 m² de área útil, dotadas de comedouro individual e bebedouro automático.

As dietas foram constituídas por 300 g kg⁻¹ de silagem de milho e 700 g kg⁻¹ de ração concentrada, em base da matéria seca, elaborada com grão de milho moído, farelo de trigo, minerais, ureia/Optigen II® e líquido de castanha de caju (LCCC) (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos utilizados nas dietas experimentais (g kg⁻¹)

Alimentos	MS ¹	PB	EE	MM	FDN	FDA	Amido	Dietas*	
								U	ULL
Silagem de milho	303	70	30	39	504	225	212	300	300
Milho	920	87	42	14	87	32	594	467	465
Farelo de trigo	924	180	29	35	283	81	369	196	196
Ureia	990	2810	-	-	-	-	-	15	-
Optigen®II	990	2560	-	-	-	-	-	-	17
Minerais ²	990	-	-	990	-	-	-	22	22
Composição química das dietas experimentais (g kg ⁻¹)									
Dietas*	MS	PB	EE	MM	FDN	CNF ³	Amido	NDT ³	
U	923	135	34	47	252	535	420	747	
ULL	923	135	34	47	252	535	419	746	

*Dietas: U = dieta com ureia; ULL = dieta com ureia de liberação lenta (Optigen®II). Dietas com base na MS e LCCC incluído em percentagem do concentrado, para uma concentração final nas dietas de 300 mg kg⁻¹ de concentrado. ¹MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; MM = matéria mineral, FDN_{cp} = fibra detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA = fibra detergente ácido. ²Minerais: 551,3 g kg⁻¹ Carbonato de cálcio, 258,4 g kg⁻¹ Caulim, 24,8 g kg⁻¹ Flor de enxofre, 0,059 g kg⁻¹ Iodato de cálcio, 157,9 g kg⁻¹ Sal comum, 0,020 g kg⁻¹ Selenito de sódio, 0,110 g kg⁻¹ Sulfato de cobalto, 2,672 g kg⁻¹ Sulfato de cobre, 2,461 g kg⁻¹ Sulfato de manganês, 2,286 g kg⁻¹ Sulfato de zinco. ³Carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais.

Os tratamentos consistiram em associações ou não do líquido de castanha de caju a duas fontes de nitrogênio não proteico, conforme segue: U + LCCC = ureia com líquido de castanha de caju; U – LCCC = ureia sem líquido de castanha de caju; O + LCCC = Optigen®II com líquido de castanha de caju e O – LCCC = Optigen®II sem líquido de castanha de caju.

Os alimentos foram fornecidos na forma de mistura completa, à vontade, em duas refeições diárias (8h e 16h), sendo o LCCC misturado aos demais ingredientes durante o preparo da ração concentrada.

Os períodos experimentais tiveram duração de 14 dias, sendo os três últimos dias de cada período utilizados para coleta de amostras de líquido ruminal, digesta duodenal, e fezes.

O consumo dos animais foi determinado considerando o fornecido e as sobras, sendo estas recolhidas e pesadas diariamente, antes da primeira refeição. Para a determinação da digestibilidade ruminal, intestinal e total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDN_{cp}) e dos carboidratos não fibrosos (CNF), foram efetuadas coletas de amostras de digesta duodenal (aproximadamente 300 mL), através de cânula duodenal e de fezes diretamente na ampola retal. Para determinação do fluxo duodenal e da produção fecal, todos os animais receberam uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO₂) diretamente no rúmen, a partir do segundo dia de cada período experimental.

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram realizadas a partir do 11º dia, durante três dias, em horários alternados, que juntos compreenderam os seguintes tempos: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20h após a primeira alimentação, totalizando 11 amostras de digesta duodenal e 11 amostras de fezes por tratamento/período.

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos e foram devidamente identificadas e congeladas (-20°C). Posteriormente, as amostras foram descongeladas, pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C por 72h e moídas em moinhos, tipo *Willey*, utilizando peneira com crivos de 1 mm. Em seguida, as amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, e realizada uma amostra composta de digesta duodenal e de fezes por tratamento/período.

As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras, da digesta duodenal e de fezes foram analisadas determinando-se os teores de MS, MO, PB, EE (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDN_{cp}), segundo Van Soest et

al. (1991). A percentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada, segundo equação descrita por Sniffen et al. (1992).

$$\text{NDT} = \text{PBD} + \text{FDND} + \text{CNFD} + (\text{EED} \times 2,25)$$

em que: NDT = nutrientes digestíveis totais (g kg^{-1}); PBD = proteína bruta digestível (g kg^{-1}); FDND= fibra em detergente neutro digestível (g kg^{-1}); CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis (g kg^{-1}); EED= extrato etéreo digestível (g kg^{-1}).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados, segundo NRC (2001):

$$\text{CNF} (\text{g kg}^{-1}) = 100 - ((\text{g kg}^{-1}) \text{PB} + (\text{g kg}^{-1}) \text{FDN}_{\text{cp}} + (\text{g kg}^{-1}) \text{EE} + (\text{g kg}^{-1}) \text{Cinzas})$$

As amostras de digesta duodenal e de fezes foram analisadas para a determinação da concentração de titânio, segundo Myers et al. (2004).

Para a determinação do amido, aproximadamente 30 g de amostras de alimentos, sobras, digesta duodenal e fezes foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Físico-Químicas da Fundação ABC em Castro – PR. A metodologia utilizada foi o método polarimétrico, que é compreendido por duas determinações. Na primeira, a amostra é tratada a quente com ácido clorídrico diluído. Após o processo de clarificação e filtração, a rotação óptica da solução é medida por polarimetria. Na segunda fase, a amostra é extraída com etanol a 40%. Depois da acidificação do filtrado com ácido clorídrico, clarificação e filtração, a rotação óptica é medida como na primeira determinação. A diferença entre as duas medições, multiplicada por um fator conhecido, dá o teor de amido da amostra (Diretiva 72/199/EEC de 27 de Abril de 1972).

Entre o 11º e o 13º dia de cada período experimental, foram coletadas amostras, via cânula ruminal, de 150 mL de líquido ruminal para determinação do pH e da concentração de N amoniacal (N-NH_3). A primeira coleta foi iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira alimentação do dia, sendo esta coletada no tempo 0 e as próximas 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20h após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H_2SO_4 (1:1) e armazenada a -20°C para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente e, posteriormente,

centrifugado a 3.000 x g por 15 min. A concentração de N-NH₃ das amostras foi determinada pelo método de Fenner (1965), modificado por Vieira (1980).

No sétimo e no 14º dia experimental de cada período, foram coletadas amostras de sangue. O sangue foi coletado em tubos de vacutainer, com adição de anticoagulante, por meio de punção da veia jugular. Para obtenção do plasma, as amostras foram centrifugadas a 2.500 x g por 15 min a 4°C. No plasma determinou-se a concentração de ureia, segundo o método diacetil modificado (GoldAnalisa®), e o N ureico no plasma (NUP) foi obtido por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466 correspondente ao teor de N na ureia.

Para a eficiência de síntese microbiana, no 13º dia de cada período experimental, 4h após a segunda alimentação e no 14º dia antes do fornecimento da primeira alimentação, foram coletados 1,5 kg de conteúdo ruminal de cada animal, sendo misturado a 500 mL de solução salina (9 g de NaCl L⁻¹) por 1 min em liquidificador e, posteriormente, filtrado em gazes. Após esse procedimento, as amostras foram congeladas a -20°C. Ao final do experimento, as amostras foram descongeladas e as bactérias foram isoladas por centrifugação diferencial (500 x g e 27.000 x g), de acordo com os procedimentos de Cecava et al. (1990). Após a última centrifugação das amostras com água destilada, foi realizada mais uma centrifugação também com água destilada, visando diminuir a participação de solução salina nas amostras e possíveis contaminações com o sal. Os peletes bacterianos resultantes das centrifugações foram secos a 55°C durante 48h e macerados para a determinação de MS, N total, purinas totais e eficiência de síntese microbiana de acordo com Ushida et al. (1985).

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4x4. Os dados foram interpretados por Anova. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey adotando-se $\alpha = 0,05$ de probabilidade.

Foi realizada a análise dos contrastes ortogonais, U + LCCC e U – LCCC versus O + LCCC e O – LCCC e entre U + LCCC e O + LCCC versus U - LCCC e O – LCCC. Todavia, como não houve variação significativa entre as dietas experimentais, de acordo com os efeitos testados, não serão discutidos no presente artigo.

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1).

Resultados e Discussão

A ingestão de matéria seca (MS) não foi influenciada pelas dietas experimentais (Tabela 2), da mesma forma que o fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF) e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total (CDR, CRI e CDT) da MS. O consumo médio de MS observado foi de 9 kg de MS d⁻¹, correspondendo a 2,6 g kg⁻¹ do peso vivo (PV) e 110 g/kg PV^{0,75}.

Tabela 2 – Ingestão (ING), fluxo duodenal (FD), fluxo fecal (FF), coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da MS, MO e PB de bovinos alimentados com e sem LCCC e duas fontes de NNP na dieta

Variáveis	Tratamentos				EPM	P<	
	Com LCCC		Sem LCCC				
	U	ULL	U	ULL			
MS	ING (g d ⁻¹)	9225,83	8821,41	8761,48	9161,90	478,13	0,87
	FD (g d ⁻¹)	5569,86	5012,72	4919,61	5290,21	364,82	0,60
	FF (g d ⁻¹)	2504,09	2366,68	2290,74	2453,25	211,87	0,90
	CDR (g kg ⁻¹)	399,87	431,65	437,55	424,10	1,79	0,50
	CDI (g kg ⁻¹)	547,78	529,70	533,58	537,73	2,62	0,97
	CDT (g kg ⁻¹)	728,75	732,55	738,92	733,70	1,55	0,98
MO	ING (g d ⁻¹)	8689,66	8295,72	8251,88	8616,77	450,70	0,87
	FD (g d ⁻¹)	4873,13	4547,62	4371,71	4737,53	351,58	0,77
	FF (g d ⁻¹)	2281,61	2181,45	2088,19	2258,44	200,00	0,90
	CDR (g kg ⁻¹)	442,75	451,45	468,32	452,05	2,31	0,89
	CDI (g kg ⁻¹)	528,90	522,40	520,98	532,60	2,91	0,99
	CDT (g kg ⁻¹)	737,60	737,90	747,18	739,48	1,60	0,97
PB	ING (g d ⁻¹)	1254,56	1202,73	1186,39	1251,32	69,99	0,87
	FD (g d ⁻¹)	923,70	805,96	822,69	922,84	54,02	0,30
	FF (g d ⁻¹)	329,74	291,47	294,34	316,34	19,79	0,50
	CDR (g kg ⁻¹)	262,15	329,10	306,98	258,33	3,33	0,40
	CDI (g kg ⁻¹)	640,10	635,65	642,18	654,48	2,31	0,95
	CDT (g kg ⁻¹)	734,08	758,13	752,15	746,65	1,37	0,66

EPM = erro-padrão da média, P = valor de P.

Considerando ingestão média de MS 9 kg d⁻¹ (Tabela 2) e que a dieta foi composta de 710,3 g kg⁻¹ de concentrado com 932 g kg⁻¹ de MS, os animais consumiram, aproximadamente, 2,06 g d⁻¹ do LCCC. Todavia, proporcionaram um CDT da MS, semelhantes aos verificados por Coneglian (2009), ao fornecerem 2 e 4 g d⁻¹ de um aditivo à base de LCCC e óleo de mamona.

Benchaar et al. (2003, 2006) não observaram diferenças significativas no consumo de MS quando vacas em lactação foram suplementadas com um composto de extratos

de plantas em nível de 750 mg d⁻¹ e 2 g d⁻¹, respectivamente, quando comparadas a vacas sem suplementação.

Zawadzki (2013), ao fornecer o mesmo produto utilizado por Coneglian (2009) na terminação de bovinos, verificou que o consumo de 3 g d⁻¹ de LCCC e mamona melhorou (P<0,05) o consumo de MS dos animais.

A inclusão de LCCC técnico na quantidade de 0,3 g kg⁻¹ de MS proporcionou uma melhora de 330 g kg⁻¹ na digestibilidade “in vitro” da MS em relação ao tratamento controle em dietas contendo 800 g kg⁻¹ de concentrado, quando Diaz (2013) avaliou o efeito da inclusão crescente de LCCC em alimentos para ruminantes.

Desta forma, parece ser difícil encontrar uma equivalência dos níveis de óleos funcionais utilizados “in vitro” aos utilizados “in vivo”, por vários efeitos que podem estar associados à utilização dos produtos com os animais, como raça, consumo, condição fisiológica e ainda os efeitos relacionados às características da matéria-prima no momento da extração dos extratos de plantas, necessitando-se mais pesquisas referentes ao fornecimento de LCCC tanto “in vivo”, quanto “in vitro”.

A fonte de nitrogênio não proteico (NNP) utilizada também não afetou as respostas de ingestão, fluxo duodenal, fluxo fecal e a digestibilidade da MS tanto quando associado ao LCCC quando fornecido sem o aditivo. Esses dados corroboram com Owens et al. (1980) que, ao avaliarem o metabolismo da ULL em ruminantes, verificaram que suplementos com esta fonte de NNP podem ser consumidos de forma mais rápida que os suplementos contendo ureia. No entanto, a digestibilidade da MS pode não ser influenciada pela fonte de NNP proteico fornecida.

Ao avaliar a substituição da ureia por ULL na dieta de bovinos, Castañeda (2011) também não verificou influência dos níveis de substituição no consumo e digestibilidade aparente total da MS. Porém, o fluxo intestinal da MS apresentou comportamento linear decrescente quando a ureia foi substituída pela ULL, o que teve efeito direto e inverso sobre a digestibilidade ruminal da FDN, a qual alterou com o aumento de ULL na dieta dos bovinos.

Orskov (1999) afirma que altas digestibilidades são observadas quando há altos teores de fibra associadas a fontes de ULL, o que não pode ser considerado neste estudo, visto que os teores de FDN nas dietas foram, em média, de 250 g kg⁻¹.

Puga et al. (2001), utilizando ureia protegida em dietas com alta forragem, observaram aumento significativo na digestibilidade da MS, provavelmente pela

melhora na atividade dos microrganismos responsáveis pela fermentação da fibra no rúmen.

Galo et al. (2003) e Xin et al. (2010), ao trabalharem com Optigen®1200 e ureia revestida de poliuretano, verificaram que a digestibilidade total da MS aumentou 4 e 10 g kg⁻¹, respectivamente, com o consumo do NNP.

Para o CDR, CDI e CDT da matéria orgânica (MO), os resultados mostram que independente da fonte de NNP utilizado, associado ou não ao LCCC (Tabela 2), os valores médios foram 452,6; 526,2 e 740,5 g kg⁻¹, respectivamente. Os valores de CDT foram semelhantes aos verificados por Benchaar et al. (2006) e Coneglian (2009), em dietas alto grão, sendo superiores aos verificados por da Silva (2013) e Zawadzki (2013).

A proteína bruta (PB) consumida e excretada, bem como o CDR, CDI e CDT (Tabela 2) não foram influenciadas pelas dietas. Coneglian (2009) verificou que o fornecimento de 2 e 4g d⁻¹ de óleos funcionais melhorou (P<0,05) a digestibilidade aparente total da proteína, afirmando que tal resultado pode ter sido em virtude de um maior fluxo de nitrogênio para o intestino delgado, consequência da diminuição da fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, em virtude da menor desaminação.

Com relação ao CDR da PB, Maeda et al. (2007) afirmam que maiores digestões ruminais da proteína, e conseqüente desaparecimento de nitrogênio podem significar maior absorção de amônia pela parede do rúmen ou menor fixação de nitrogênio na forma de N microbiano, sendo desejável, valores de digestibilidade ruminal negativos ou próximos de zero, o que não foi verificado na Tabela 2, visto que em média os animais apresentaram um CDR da PB de 289 g kg⁻¹.

Ao avaliarem a mitigação de metano produzido por bovinos alimentados com LCCC, Shinkai et al. (2012) verificaram que a digestibilidade total da MS, MO, PB e FDN diminuíram pela redução de uma importante quantidade de bactérias, especialmente a *Butyrivibrio fibrisolvens*.

Galo et al. (2003) reportaram melhora na CDT da PB ao utilizar ULL com polímero (Optigen®), apresentando valor de 690 g kg⁻¹ de digestibilidade total em dieta com 700 g kg⁻¹ de concentrado, inferiores aos 747,75 g kg⁻¹ verificados no presente estudo.

Com relação à fibra, os dados da Tabela 3 mostram que as dietas não influenciaram o consumo, o fluxo fecal e os coeficientes de digestibilidade aparente dos

nutrientes. O efeito do LCCC sobre a FDN corrobora com os dados verificados por Segabinazzi (2008) e Coneglian (2009) ao fornecer extratos vegetais como alternativa a monensina na alimentação de bovinos em confinamento.

Tabela 3 - Ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da FDN_{cp}, EE, amido e CNF de bovinos alimentados com e sem LCCC associado a duas fontes de NNP na dieta

Variáveis		Tratamentos				EPM	P<
		Com LCCC		Sem LCCC			
		U	ULL	U	ULL		
FDN _{cp}	ING (g d ⁻¹)	2279,26	2183,90	2172,05	2267,66	123,03	0,90
	FD (g d ⁻¹)	1170,73	1104,06	1061,00	1076,82	90,62	0,84
	FF (g d ⁻¹)	1114,34	1049,62	1003,38	1031,74	89,81	0,85
	CDR (g kg ⁻¹)	484,60	493,85	515,80	524,55	3,04	0,78
	CDI (g kg ⁻¹)	492,25	510,75	502,00	450,50	1,65	0,99
	CDT (g kg ⁻¹)	509,75	520,02	541,00	546,08	2,83	0,78
EE	ING (g d ⁻¹)	313,47	299,08	297,52	308,27	20,20	0,94
	FD (g d ⁻¹)	231,01	208,60	200,87	213,66	19,83	0,75
	FF (g d ⁻¹)	62,04	58,77	58,70	72,69	6,99	0,48
	CDR (g kg ⁻¹)	263,18	298,48	320,38	309,48	5,54	0,90
	CDI (g kg ⁻¹)	721,15	714,80	690,42	660,55	4,14	0,73
	CDT (g kg ⁻¹)	802,15	802,40	799,50	764,88	2,07	0,53
Amido	ING (g d ⁻¹)	3904,60	3725,41	3705,92	3875,14	211,22	0,88
	FD (g d ⁻¹)	1568,77	1677,65	1539,40	1791,57	285,85	0,93
	FF (g d ⁻¹)	444,61	444,74	405,82	456,87	63,96	0,95
	CDR (g kg ⁻¹)	599,93	553,18	579,68	541,63	6,58	0,93
	CDI (g kg ⁻¹)	692,05	719,78	713,98	732,95	5,45	0,96
	CDT (g kg ⁻¹)	886,85	880,90	889,95	883,73	1,38	0,97
CNF	ING (g d ⁻¹)	4967,32	4742,65	4714,67	4927,54	259,70	0,87
	FD (g d ⁻¹)	2694,88	2544,03	2371,30	2631,88	277,81	0,86
	FF (g d ⁻¹)	775,50	760,47	731,72	805,85	100,64	0,97
	CDR (g kg ⁻¹)	461,93	465,00	491,75	469,53	4,51	0,95
	CDI (g kg ⁻¹)	714,43	701,23	683,62	688,88	3,40	0,92
	CDT (g kg ⁻¹)	845,58	840,33	844,08	838,53	1,59	0,99
	NDT (g kg ⁻¹) ¹	741,00	743,90	750,00	745,30	1,46	0,98

¹ Calculado, segundo Sniffen et al. 1992. EPM = erro-padrão da média, P = probabilidade.

A digestibilidade total da FDN, quando os animais consumiram as fontes de NNP sem o LCCC, ficou próxima dos 520 g kg⁻¹, valor superior aos verificados por Galo et al. (2003) (487 g kg⁻¹) e aos relatados por Castañeda (2011) (410 g kg⁻¹).

Zawadzki (2013) obteve melhora nos resultados (P<0,05) de digestibilidade aparente total da FDN quando o produto comercial à base de LCCC foi associado à glicerina na alimentação dos bovinos em confinamento, consumindo uma dieta com relação volumoso:concentrado de 40:60.

Azevedo et al. (2010), avaliando a inclusão de ULL em substituição à ureia em dietas de novilhos consumindo feno de baixa qualidade, verificaram que esta substituição não produziu diferenças com relação à degradação da fibra e à fermentação ruminal dos demais nutrientes. Segundo os autores, esses resultados ocorreram provavelmente em razão da baixa eficiência de proteção da ureia, verificada pelo fato da liberação de amônia no rúmen ter sido semelhante ao longo do tempo, fato confirmado no presente estudo, conforme pode ser visto na Tabela 4 e na Figura 2, o que provavelmente contribuiu para as respostas ($P>0,05$) no CDR e CDI da FDN (Tabela 3).

Os coeficientes de digestibilidade aparente do extrato etéreo (EE) também não foram influenciados pelas dietas utilizadas e apresentaram valores médios de 297,9; 696,7 e 792,2 g kg⁻¹ de CDR, CDI e CDT, respectivamente. O CDT de 802 g kg⁻¹ para os tratamentos que continham 300 mg kg⁻¹ de LCCC no concentrado foi superior aos 695 g kg⁻¹ verificados por Coneglian (2009). Para Ítavo et al. (2002), valores de digestão ruminal do EE negativos ou próximos de 0 seriam esperados, pois não há microrganismo ruminal capaz de utilizar lipídios como fonte de energia.

O amido também não foi influenciado pelas dietas ($P>0,05$) (Tabela 3), apresentado em média 885,3 g kg⁻¹ de CDT, semelhantes aos resultados encontrados por Galo et al. (2003).

Os resultados de digestibilidade ruminal e total do amido foram inferiores ao verificados por Brake et al. (2010), sendo 774 g kg⁻¹ e 950 g kg⁻¹, respectivamente, ao avaliarem o efeito da suplementação nitrogenada nos parâmetros ruminiais da ureia em novilhos consumindo dietas alto grão.

Como os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados a partir dos teores de PB, FDN, EE e matéria mineral dos constituintes da dieta e digesta dos animais (Sniffen et al., 1992), estes também não foram influenciados pelas dietas. Ainda, os dados da Tabela 3 corroboram com os dados citados por Detmann et al. (2006), ao estimar a digestibilidade dos CNF de bovinos consumindo uma dieta com teores de CNF que variou entre 38,62 e 49,11 g kg⁻¹ da MS.

Como as dietas eram isoproteicas, isoenergéticas (Tabela 1) e não apresentaram variação com relação ao CDR, CDI e CDT dos nutrientes, consequentemente, o NDT também não foi influenciado pelas dietas fornecidas aos bovinos.

Sugere-se que os óleos funcionais são responsáveis por estimular a secreção salivar, e dos sucos gástricos, o que beneficiaria a secreção enzimática e melhoraria a

digestibilidade de nutrientes (Mellor, 2000). Segundo Hernandez et al. (2004), esse efeito é o mais estudado em relação à contribuição desses produtos na digestibilidade. Porém, outros efeitos podem estar associados às respostas encontradas, como interação ou efeitos antagônicos quando se avaliam misturas de extratos vegetais (Burt, 2004), o que merece uma atenção especial.

Dietas ricas em carboidratos solúveis estão associadas à maior produção de ácidos totais, bem como o aumento da produção de ácido lático e, conseqüentemente, valores baixos de pH ruminal. O decréscimo no pH do rúmen pode influenciar negativamente o consumo de MS, a motilidade ruminal, a degradação da fração fibrosa e a produção microbiana, influenciando o adequado funcionamento do rúmen e, conseqüentemente, a saúde do animal (Van Soest, 1994; Cabral et al. 2008).

Os valores médios de pH, N-NH₃ e nitrogênio ureico plasmático (NUP) não foram influenciados pelas dietas utilizadas (P>0,05) (Tabela 4). Desta forma, sugere-se baixa eficiência na proteção da ULL utilizada, corroborando com Azevedo et al. (2010).

Os valores de pH mantiveram-se acima de 6,2 considerado por Orskov (1988) e Van Soest (1994), como limite mínimo para adequada fermentação da fibra, por não prejudicarem os microrganismos celulolíticos, mas inferiores aos verificados por Castañeda et al. (2009), utilizando diferentes fontes de NNP na dieta de ruminantes. Em contrapartida, Coneglian (2009), utilizando diferentes níveis de óleos funcionais na alimentação de bovinos, verificou valores de pH ruminal inferiores aos da Tabela 4.

Tabela 4 - pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal, nitrogênio ureico plasmático (NUP) e eficiência de síntese microbiana (ES) de bovinos alimentados com e sem LCCC associado a duas fontes de NNP na dieta

Variáveis	Tratamentos				EPM	P<
	Com LCCC		Sem LCCC			
	U	ULL	U	ULL		
pH	6,3	6,3	6,4	6,2	0,1	0,50
N-NH ₃ (mg dL ⁻¹)	14,3	13,0	15,0	13,0	2,0	0,88
NUP (mg dL ⁻¹)	15,6	14,3	14,5	14,0	1,1	0,74
ES (g N microb./kg MODR) ¹	24,7	24,8	25,8	26,4	3,4	0,98

EPM = erro-padrão da média, P = probabilidade. g N microb./kg de MODR = gramas de nitrogênio microbiano/ kg de matéria orgânica degradada no rúmen.

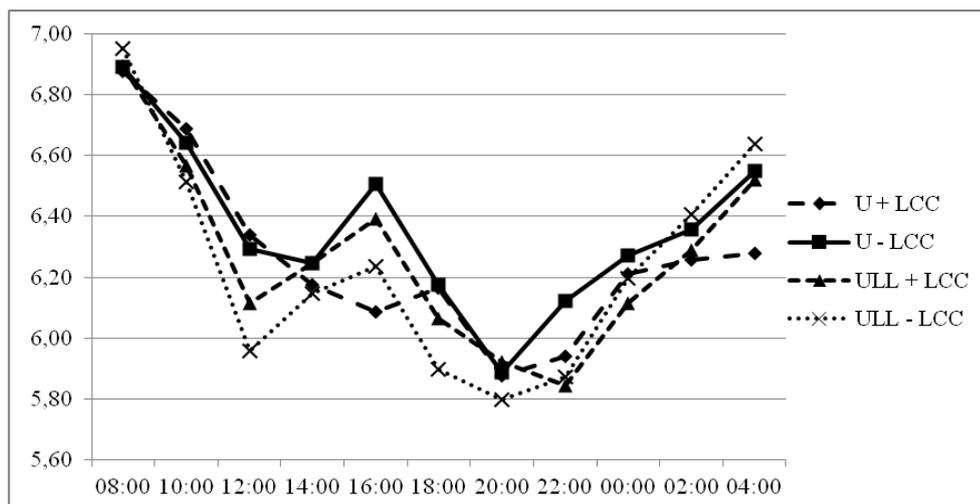


Figura 1 – Valores médios para pH ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia.

Os valores de pH ruminal ao longo do tempo para os animais que consumiram a ULL, mantiveram-se em média mais baixos que os verificados para os animais que consumiram ureia, independente do uso do LCCC (Figura 1), o mesmo verificado por Ribeiro et al. (2011) ao substituírem a ureia pelo Optigen ®1200.

Para as concentrações de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$), verificou-se que todas as dietas proporcionaram valores médios superiores a 5 mg dL^{-1} considerados mínimos para a adequada fermentação ruminal (Satter & Slyter, 1974).

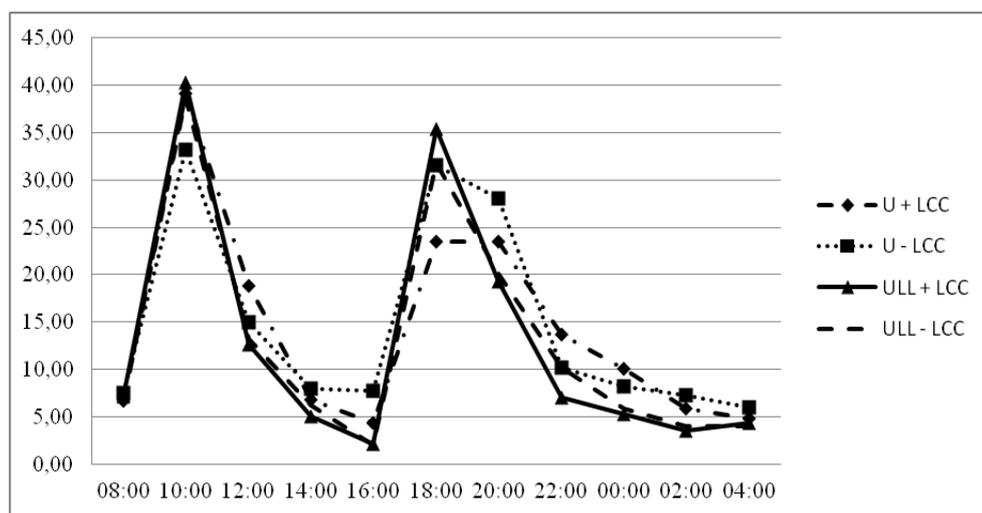


Figura 2 - Valores médios para nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) do líquido ruminal em relação aos tratamentos e horários de coleta ao longo do dia.

Os maiores valores de $N-NH_3$ foram encontrados 2h após a alimentação da manhã e os menores valores imediatamente antes da alimentação da tarde (Figura 2). Estes dados confirmam a grande degradação de proteínas, peptídeos, aminoácidos e outras

substâncias nitrogenadas que promovem a liberação da amônia para o líquido ruminal 2h após a alimentação. No entanto, os animais alimentados com o LCCC tiveram um pico mais elevado de amônia ruminal 2h após a alimentação da manhã e da tarde, comparado aos animais que não consumiram o aditivo.

Pimentel et al. (2012), ao avaliarem níveis de 0, 80, 160 e 240 g de castanha de caju moída por kg de concentrado na dieta de vacas em lactação, não verificaram efeitos da suplementação lipídica sobre o pH ruminal, ficando este ao redor de 6,0 e verificaram valores médio de N-NH₃ de 12,70 mg/100 mL de líquido ruminal.

Watanabe et al. (2010) relataram a redução na síntese N-NH₃ “in vitro” em dietas contendo LCCC. De acordo com os autores, o LCCC pode inibir o crescimento de bactérias proteolíticas e reduzir a capacidade de adesão e colonização destas bactérias aos seus substratos.

Taylor-Edwards et al (2009), ao avaliarem o efeito da ureia e da ULL nas características da digesta de novilhos, verificaram que as fontes de NNP não influenciaram os valores de pH ruminal, ficando próximos dos 6,5., Mas os animais que consumiram ULL apresentaram menores concentrações de N-NH₃ no líquido ruminal.

O nível ótimo de N-NH₃ varia conforme o alimento e a disponibilidade de carboidratos fermentáveis no rúmen. No entanto, pode ser esperado que a disponibilidade de N-NH₃ proveniente de fontes de NNP pode ser mais limitante para os animais com altos requisitos de N ruminal, tais como aqueles com consumo ou demandas de produção elevada ou aqueles que consomem alimentos altamente degradáveis, em comparação aos animais que necessitam de menos N ruminal (Taylor-Edwards et al., 2009).

Para McIntosh et al. (2003) e Castillejo et al. (2007), muitos óleos funcionais reduzem o número de bactérias produtoras de amônia, a taxa de deaminação de aminoácidos e conseqüentemente, a taxa de produção de amônia, aumentando a quantidade de nitrogênio que chega ao intestino. Dessa forma, era esperado que os animais que consumiram LCCC obtivessem maiores valores de nitrogênio ureico plasmático (NUP) o que não foi verificado na Tabela 4, mas foram superiores aos verificados por Pimentel et al. (2012), trabalhando com níveis crescentes de castanha de caju na dieta de vacas leiteiras.

Castañeda (2011) verificou valor médio de NUP de 11,8 mg dL⁻¹ ao substituir a ureia por Optigen®II. Segundo Valadares et al. (1997), o resultado da máxima eficiência microbiana são valores de NUP que variam entre 13,5 e 15 mg dL⁻¹, o que foi

verificado no presente estudo, em que os valores variaram entre 14 e 16 mg dL⁻¹, valores acima dos recomendados por Valadares et al. (1997) poderiam proporcionar perda de proteína no processo de fermentação ruminal.

Ao avaliarem a substituição parcial do farelo de soja por ureia ou amireia na alimentação de cabras em lactação, Mendes et al. (2010) verificaram valores médios de NUP de 28,26 e 28,94 mg dL⁻¹ para animais consumindo farelo de soja + amireia e farelo de soja + ureia, respectivamente. Desta forma, sugeriram que a proteção da ureia com o milho extrusado não foi eficiente em proporcionar menores valores de NUP dos animais utilizados, o que corrobora com os dados do presente estudo.

Como as fontes de ULL e o LCCC podem diminuir a deaminação da proteína dietética no rúmen, favorecendo a eficiência de síntese microbiana, era esperado que as dietas fornecidas influenciassem a eficiência de síntese, no entanto, como as dietas avaliadas não proporcionaram influência nas digestibilidades da PB (Tabela 2), tampouco na concentração de N-NH₃ no líquido ruminal (Tabela 4), isso favoreceu as respostas verificadas na Tabela 4 (P>0,05).

Conclusões

O líquido da casca da castanha de caju associado ou não às fontes de nitrogênio não proteico não influencia a digestibilidade dos nutrientes, a fermentação ruminal, a síntese de proteína microbiana no rúmen e o nitrogênio ureico plasmático em bovinos consumindo dietas alto grão.

Referências

- ANTUNES, R.C.; RODRIGUES, N.M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.229-248.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990.
- AZEVEDO, E.B.; PATIÑO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.622-627, 2010.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R. et al. Effects of essential oil supplement on ruminal fermentation, rumen microbial populations and in sacco degradation of dry matter and nitrogen in the rumen of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.83, p.637, 2003.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R. et al. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.11, p.4352-4364, 2006.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.209-228, 2008.
- BOURG, B.M.; TEDESCHI, L.O.; WICKERSHAM, T.A. et al. Effects of a slow-release urea product on performance, carcass characteristics, and nitrogen balance of steers fed steam-flaked corn. **Journal of Animal Science**, v.90, n.11, p.3914-3923, 2012.
- BRAKE, D.W.; TITGEMEYER, E.C.; JONES, M.L. et al. Effect of nitrogen supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming corn-based diets. **Journal of Animal Science**, v.88, n.8, p.2729-2740, 2010.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-253, 2004.
- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. et al. Eficiência microbiana e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas à base de volumosos tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.5, p.919-925, 2008.
- CASTAÑEDA, R.D. **Glicerina bruta e ureia de liberação lenta na alimentação de bovinos de corte**. 2011. 63f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá,
- CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. et al. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compound on rumen fermentation. **Animal of Feed Science and Technology**, v.132, n.3-4, p.186-201, 2007.
- CECAVA, M.J., MERCHEN, N.R., GAY L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.

- CONEGLIAN, S.M. **Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos**. 2009. 100f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- DA SILVA, L.G. **Glicerina e óleos funcionais em dietas de bovinos em confinamento sobre o desempenho e comportamento animal**. 2013. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T. et al. Estimação da digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos em bovinos utilizando-se o conceito de entidade nutricional em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1479-1486, 2006.
- DIAZ, T.G. **Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da castanha de caju em dietas para ruminantes**. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)–Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- GALO, E.; EMANUELE, S.M.; SNIFFEN, C.J. et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.6, p.2154-2162-, 2003.
- HERNANDEZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V. et al. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, n.2, p.169-174, 2004.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Consumo e digestibilidade aparentes totais e parciais de nutrientes em novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1543-1552, 2002.
- MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; GERON, L.J.V. et al. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.716-726, 2007.
- McINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.8, p.5011-5014, 2003.
- MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v.16, n.1, p.18-21, 2000.
- MENDES, C.Q.; FERNANDES, R.H.R.; SUSIN, I. et al. Substituição parcial do farelo de soja por ureia ou amireia na alimentação de cabras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1818-1824, 2010.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, n.1, p.179-183, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Washington, DC: The National Academy Press, 2001.
- ORSKOV, E. R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988.
- ORSKOV, E.R. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. **Preventive Veterinary Medicine**, v.38, n.2-3, p.179-185, 1999.
- OWENS, F.N.; LUSBY, K.S.; MIZWICKI, K. et al. Slow ammonia release form urea: rumen and metabolism studies. **Journal of Animal Science**, v.50, n.3, p.527-531, 1980.

- PIMENTEL, P.G.; REIS, R.B.; LEITE, L.A. et al. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.959-966, 2012.
- PUGA, D.C.; GALINA, H.M.; PEREZ-GIL, R.F. et al. Effect of a controlled release urea supplement on rumen fermentation in sheep fed a diet of sugar cane tops (*Saccharum officinarum*), corn stubble (*Zea mays*) and King grass (*Pennisetum purpureum*). **Small Ruminant Research**, v.39, n.3, p.269-276, 2001.
- RIBEIRO, S.S.; VASCONCELOS, J.T.; MORAIS, M.G. et al. Effects of ruminal infusion of a slow-release polymer-coated urea or conventional urea on apparent nutrient digestibility, in situ degradability, and rumen parameters in cattle fed low quality hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.164, n.1-2, p.53-61, 2011.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SEGABINAZZI, L.R. Aditivo a base de extratos vegetais como alternativa á monensina sódica na dieta de vacas de corte terminadas em confinamento. 2008. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M. et al. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. 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.
- TAYLOR-EDWARDS, C.C.; HIBBARD, G.; KITTS, S.E. et al. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.87, n.1, p.200-208, 2009.
- USHIDA, K., LASSALAS, B., JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry: Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, n.6, p.1037-1046, 1985.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. Concentrações de amônio ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell, 1994.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- XIN, H.S.; SCHAEFER, D.M.; LIU, Q.P. et al. Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. **Asian and Australian Journal of Animal Science**, v.23, n.4, p.491-500, 2010.
- WALLACE, R.J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of Nutrition Society**, v.63, n.4, p.621-629, 2004.

- WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S. et al. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p.5258-5267, 2010.
- ZAWADZKI, F. **Glicerina, antioxidantes e carotenóides sobre a qualidade e traçabilidade da carne de bovinos e ovinos**. 2013. 202f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.