



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA

**METABOLISMO NITROGENADO DE NOVILHAS  
JERSEY ALIMENTADAS COM QUITOSANA OU  
GRÃO DE SOJA CRU NAS DIETAS**

**Acadêmico(a): Murilo Augusto Miranda de Brito Vendramini**

Dourados - MS

Junho - 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA

**METABOLISMO NITROGENADO DE NOVILHAS  
JERSEY ALIMENTADAS COM QUITOSANA OU  
GRÃO DE SOJA CRU NAS DIETAS**

**Acadêmico(a): Murilo Augusto Miranda de Brito Vendramini  
Orientador(a): Jefferson Rodrigues Gandra**

Trabalho apresentado à Faculdade de  
Ciências Agrárias da Universidade  
Federal da Grande Dourados, como  
parte das exigências para obtenção  
do grau de bacharel em Zootecnia

Dourados - MS

Junho - 2015

## **CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** Metabolismo nitrogenado de novilhas Jersey alimentadas com quitosana ou grão de soja cru nas dietas.

**AUTOR:** Murilo Augusto Miranda de Brito Vendramini

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do grau de bacharel em **ZOOTECNIA** pela comissão examinadora.

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra  
(Orientador)

Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira

Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Góes

Data de realização: 26 de junho de 2015

Prof. Dr. Marco Antônio Previdelli Orrico Júnior  
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

## OFERECIMENTOS

*Ao curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, em nome de todos os seus professores, funcionários e alunos, onde passei esses anos de minha graduação tendo o privilégio de tê-los ao meu lado durante todos os momentos, onde aprendi o verdadeiro valor de responsabilidade e comprometimento.*

*A minha família que me apoiou diante de todas as dificuldades encontradas, não medindo esforços para que meus sonhos, desejos e anseios se tornassem realidade.*

*Ao meu filho Frederico que me mostrou o amor verdadeiro, me inspirando e não me deixando desistir nos momentos mais difíceis.*

*Ofereço este trabalho do fundo do meu coração*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, a Faculdade de Ciências Agrárias, ao curso de Zootecnia pela oportunidade de realização deste.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, pela orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, pelo companheirismo, por me enxergar como um futuro profissional e não somente como um aluno, possibilitando assim, a geração dos resultados deste trabalho.

A minha família, por sempre estarem ao meu lado me apoiando mesmo estando tão longe.

Ao meu filho Frederico, por me inspirar a fazer o melhor possível.

A minha namorada Maria Gabriela, por estar sempre ao meu lado me apoiando, confortando e inspirando.

Aos amigos da Republica Litraço, moradores e frequentadores, por sempre estarem comigo na maior parte destes anos de graduação;

A todos os estudantes do Grupo de Pesquisa NutriLeite, por ajudar durante todo o período do experimento;

Aos professores do curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, por passarem os ensinamentos necessários para a minha formação;

Ao Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira por disponibilizar os animais para a realização deste trabalho;

Ao Laboratório de Nutrição Animal, sob responsabilidade do Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Góes, pela realização das análises;

A todos que ajudaram direta ou indiretamente a realização deste trabalho meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	3
2 - REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 - <i>Criação de novilhas leiteiras</i> .....	4
2.2 - <i>Fontes de lipídeos para bovinos</i> .....	7
2.3 - <i>Grão de soja</i> .....	8
2.4 - <i>Quitossana na alimentação de bovinos</i> .....	10
2.5 - <i>Síntese de proteína microbiana</i> .....	13
2.6 - <i>Balanço de nitrogênio</i> .....	16
3 - MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1 - <i>Animais e dietas</i> .....	19
3.2 - <i>Análises bromatológicas</i> .....	20
3.3 - <i>Síntese de proteína microbiana</i> .....	20
3.4 - <i>Balanço de nitrogênio</i> .....	21
3.5 - <i>Clearance de ureia e creatinina</i> .....	22
3.6 - <i>Análises estatísticas</i> .....	22
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4.1 - <i>Síntese de Proteína Microbiana</i> .....	23
4.2 - <i>Balanço de Nitrogênio</i> .....	24
4.3 - <i>Clearance de ureia e creatinina</i> .....	26
5 – CONCLUSÃO.....	28
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Dietas experimentais.....	19
Tabela 2 – Síntese de proteína microbiana.....	23
Tabela 3 – Balanço de nitrogênio.....	25
Tabela 4 – Clearance de ureia e creatinina.....	26

## **Metabolismo nitrogenado de novilhas Jersey alimentadas com quitosana ou grão de soja cru nas dietas**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a síntese de proteína microbiana, balanço de nitrogênio e depuração de compostos nitrogenados de novilhas Jersey alimentadas com quitosana ou grão de soja cru nas dietas. Foram utilizadas 8 novilhas da raça Jersey, com idade de  $6\pm 0,5$  meses, com peso médio de  $139,50\pm 25,56$  kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 quadrados latinos 4X4, balanceados e contemporâneos, em arranjo fatorial 2X2. O período experimental foi de 20 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 6 para a colheita de dados. As dietas experimentais foram: 1- Controle (CONT); 2 – Quitosana (QUIT) (inclusão de 2g/kgMS); 3 - Grão de soja (GS) (7.2% de EE); 4 - CHIGS (inclusão de quitosana + grão de soja). As dietas experimentais foram formuladas de acordo com o NRC, (2001), visando ganho de peso de 700 gramas por dia, sendo estas isonitrogenadas. A dieta possuía uma relação de 50% de volumoso e 50% de concentrado. O volumoso utilizado foi silagem de milho. A síntese de nitrogênio e a síntese de proteína bruta foram reduzidas ( $P<0,05$ ) pela dieta QUI. A dieta QUI+GS reduziu ( $P<0,05$ ) a excreção de nitrogênio na urina. A dieta GS reduziu ( $P<0,05$ ) o clearance da ureia, a dieta QUI reduziu ( $P<0,05$ ) o clearance da creatinina enquanto a dieta GS aumentou ( $P<0,05$ ) o clearance da creatinina. A associação entre quitosana e grão de soja influenciou positivamente o metabolismo proteico de novilhas Jersey.

**Palavras-chave:** Balanço de nitrogênio, clearance, síntese microbiana



## ABSTRACT

The objective was to evaluate the microbial protein synthesis, nitrogen balance and clearance nitrogen compounds of Jersey heifers fed with chitosan or soybeans in the diets. We used eight heifers of Jersey breed, aged  $6 \pm 0.5$  months, with an average weight of  $139.50 \pm 25.56$  kg. The animals were randomly divided into two 4x4 Latin squares, balanced and contemporary, in 2x2 factorial arrangements. The animals were randomly divided into two 4x4 Latin squares, balanced and contemporary, in 2x2 factorial arrangement. The experimental period was 20 days and 14 for the adaptation of experimental diets and 6 for data collection. The experimental diets were: 1. Control (CONT); 2 - Chitosan (CHI) (including 2 g / kgDM); 3 - Whole raw soybean (GS) (7.2% EE); 4 - CHIGS (including chitosan + Whole raw soybean). The experimental diets were formulated according to NRC 2001 aiming weight gain of 700 grams per day, and isonitrogenous. Diet had a ratio of 50% forage and 50% concentrate. The roughage used was corn silage. The synthesis of nitrogen and crude protein synthesis were reduced by CHI diet. The CHI + GS diet reduced nitrogen excretion in the urine. The GS diet reduced the clearance of urea, CHI diet reduced creatinine clearance while the GS diet increased creatinine clearance. The combination of chitosan and soybean positively influenced the protein metabolism of Jersey heifers.

**Keywords:** nitrogen balance, clearance, microbial synthesis

## 1 – INTRODUÇÃO

Com o objetivo de tornar a produção animal mais sustentável, diversas tecnologias são estudadas, desenvolvidas e empregadas para melhorar a eficiência produtiva e consequente minimização de danos ambientais. Assim, o melhoramento genético, o aperfeiçoamento das técnicas de manejo e o desenvolvimento de diferentes estratégias nutricionais para atender as exigências de animais cada vez mais produtivos são tecnologias e ferramentas cada vez mais utilizadas neste processo.

Na bovinocultura, o melhoramento genético ainda é pouco utilizado com o objetivo de melhorar a eficiência de aproveitamento dos alimentos, ao contrário da avicultura e da suinocultura. Um dos objetivos da nutrição de ruminantes tem sido a capacidade dos animais de converter alimentos de baixo valor nutricional em alimentos de alta qualidade com eficiência.

Buscando modular a fermentação ruminal e melhorar o processo digestivo, a inclusão de aditivos na dieta é uma das estratégias mais utilizadas. Contudo, os aditivos mais utilizados atualmente são na maioria substâncias com atividade antimicrobiana, tendo destaque os antibióticos ionóforos.

Entretanto, devido à sustentabilidade ambiental e social poder ser comprometida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na alimentação animal, e ainda por poder a vir causar resistência aos antibióticos em humanos, em 2006, a União Europeia banuiu o uso de promotores de crescimento na alimentação animal como precaução. Medida que teve repercussão no Brasil e que pela Instrução Normativa nº 55, de 2011, deu-se a proibição do uso de substâncias com atividade anabolizante hormonal em bovinos.

Assim, buscando desenvolver opções naturais que tenham efeitos similares aos aditivos utilizados e estabelecer as particularidades de utilização, como objetivo geral, propôs-se este trabalho, que é um dos objetivos atuais da pesquisa em nutrição animal. Como objetivos específicos, este trabalho avaliou a síntese de proteína microbiana, balanço de nitrogênio e depuração de compostos nitrogenados de novilhas Jersey alimentadas com quitosana ou grão de soja cru nas dietas.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - *Criação de novilhas leiteiras*

A criação de novilhas leiteiras é extremamente importante para a atividade, visto que serão as produtoras de leite futuras do rebanho, sendo que os animais não aproveitados poderão ser destinados à venda (Neiva, 2000). Deve ser encarada como um investimento financeiro. O número total de novilhas de primeira cria produzido por ano, no rebanho de reposição, tem grande influência na rentabilidade da fazenda de leite.

A eficiência econômica na atividade leiteira vem se tornando a maior preocupação dos produtores e empresários rurais, e gastos com a recria de novilhas podem ser reduzidos de forma significativa, possibilitando uma maior lucratividade. A criação desta categoria animal representa cerca de 20 % dos gastos totais com a produção de leite (Pirlo et al., 1997).

Uma das principais estratégias para diminuir estes custos é reduzir o período de criação, antecipando a idade ao primeiro parto. A criação econômica de novilhas, considerando rebanhos com boa eficiência reprodutiva, permite ao produtor maximizar o ganho genético do rebanho, substituir vacas de baixa produção, aumentar o rebanho sem a necessidade de compra de outros animais, vender as novilhas excedentes (Wattiaux, 1996).

Quando a novilha apresenta idade à primeira cria acima de 24 meses, o custo de sua criação aumenta, devido ao excesso de novilhas no rebanho, custo adicional em alimentação e um menor número de novilhas de primeira cria estará presente no rebanho por ano. Boas práticas de criação de novilhas incluem nutrição adequada, alojamento e saneamento adequados, além de prevenção de doenças e constantes cuidados diários.

O produtor que não cria suas novilhas deve comprá-las para substituir as vacas a serem descartadas. É possível comprar novilhas cujo potencial genético seja superior ao das vacas do rebanho, entretanto, é difícil ter essa garantia. Além disso, as características sanitárias dessas novilhas nem sempre são conhecidas, podendo ocorrer o risco da introdução de doenças não existentes no plantel. Portanto, os produtores que criam suas próprias novilhas, se beneficiam pelos conhecimentos do potencial genético das mesmas, e também pelo melhor controle de doenças (Holmes & Wilson, 1990).

Segundo Montardo (1998), é claro que o produtor leiteiro que cria suas próprias novilhas não tem como evitar o período improdutivo, mas pode e deve torná-lo o mais curto

possível, através de um sistema de criação gerenciado, que acompanhe cada fase da etapa de criação.

A maioria dos problemas sanitários termina quando a bezerra é desaleitada e entra na fase de recria, então é preciso definir a taxa de crescimento ideal, preconizando o ganho de peso diário, a altura e a melhor e mais econômica fonte alimentar de energia, proteína, vitaminas e minerais para suprir às exigências nutricionais desta categoria.

Na atividade leiteira, a fase de recria é a ação mais simples a ser desenvolvida pelo produtor de leite. O manejo de novilhas e sua criação em si, estão diretamente ligados com a viabilidade da atividade, contribuindo para o aumento dos custos de produção. Porém, é a categoria que recebe a menor atenção por parte dos produtores. Propriedades que não cuidam adequadamente seus animais jovens acabam apresentando índices zootécnicos, como idade ao primeiro parto, muito inferior do ideal. Com isso, o produtor irá pagar um preço muito elevado por essa desatenção, visto que haverá um aumento no tempo de permanência de animais improdutivos no rebanho e também pela diminuição do número de animais para a comercialização, onde normalmente nestas propriedades a mortalidade e o descarte involuntário também são muito elevados (Viégas, 2010).

Normalmente, a partir dos seis meses de idade, é que a desatenção por parte dos produtores começa, momento em que a interrupção do fornecimento do alimento concentrado ocorre e a novilha passa a ser alimentada somente com volumosos. Neste momento, os animais são afastados da sede da propriedade e conseqüentemente dos olhos do proprietário, principalmente no sistema a pasto de produção de leite. Contudo, nesta fase é preciso dobrar os cuidados com o nível de crescimento dos animais e avaliar se está de acordo com a raça e/ou linhagem em criação (Viégas, 2010).

Com um nível de crescimento adequado, poderemos garantir que as novilhas alcancem o peso ideal para a primeira concepção, e que, dependendo da raça, venham a parir até aos vinte e quatro meses de idade, onde há maior eficiência técnica e rentabilidade na atividade.

O tempo requerido para a recria de uma novilha, e conseqüentemente sua idade ao primeiro parto, é determinado pela velocidade ou taxa de crescimento. Sem considerar a idade, novilhas devem crescer para alcançar entre 80 a 85% do peso vivo adulto ao primeiro parto. A idade ao primeiro parto depende da taxa de crescimento da novilha, ou seja, do seu

ganho de peso médio diário. Para novilhas de raças pequenas, como é o caso da raça Jersey, os padrões ideais de taxa de crescimento são: peso ao nascer: 25 a 30 kg; peso ao primeiro serviço: 225 a 260 kg; idade ao primeiro serviço: 13 a 15 meses; peso ao primeiro parto: 360 a 425 kg; idade ao primeiro parto: 22 a 24 meses; ganho de peso médio diário: 0,50 kg/dia; peso adulto: 425 a 500 kg (Wattiaux, 1996).

Ainda segundo Wattiaux (1996), o peso corporal tem mais influência sobre a maturidade sexual de novilhas do que a idade, podendo ser manipulada por um programa nutricional. Assim, diferentes taxas de crescimento afetarão na idade à puberdade e, portanto, a idade ao primeiro parto. A puberdade se dá nas novilhas que alcançam de 40 a 50% do peso vivo adulto, sem considerar a idade. Então, o primeiro serviço é feito quando a novilha alcança de 50 a 60% do peso vivo adulto, já o parto ocorre com 80 a 85% desse peso. Altas taxas de crescimento corporal anteciparão as idades à puberdade, serviço e parto. Entretanto, taxas menores de crescimento corporal retardarão essas mesmas idades, independente do peso vivo animal.

As principais vantagens para acelerar a taxa de crescimento corporal e antecipar a idade ao primeiro parto são o rápido retorno do capital investido, redução dos custos com alimentação e mão-de-obra, aumento da produção por vida útil, rápido ganho genético no rebanho.

Quando comparamos as novilhas com bezerras e vacas de alta produção, sem dúvida esta categoria torna-se a mais fácil de ser alimentada. Contudo, esta categoria animal é deixada de lado, e na maioria das vezes não recebe sua devida atenção. Apesar da facilidade em se alimentar novilhas leiteiras, o nutricionista juntamente com o produtor ou responsável, devem definir metas claras e objetivas, buscando estabelecer um programa alimentar compatível com o ganho de peso esperado das novilhas em recria.

Novilhas com menos de doze meses de idade possuem alta exigência nutricional de energia, proteína, vitaminas e minerais, porém menor capacidade de ingestão. Assim, taxas de crescimento podem permanecer baixas caso grandes quantidades de forragem sejam ofertadas para essa fase da recria. Portanto, grãos ou alimentos concentrados de boa qualidade devem estar inclusos na dieta de novilhas jovens para maiores taxas de crescimento (NRC, 2001).

De um modo geral, a alimentação de novilhas jovens é contida de dietas com 40 a 80% de alimento volumoso. Conforme o animal cresce, a concentração energética e proteica

da dieta diminui, enquanto a concentração da fração fibrosa aumenta. Dietas de novilhas entre três e seis meses de idade, o alimento volumoso de baixa qualidade deve ser evitado. Para novilhas com mais de seis meses e até a cobertura, podem ser utilizadas forragens de pior qualidade, mas a suplementação com alimento concentrado e fontes minerais deve existir.

Os animais desta categoria devem ter fornecimento de água a vontade. Dietas providas de nitrogênio não proteico como a ureia, podem ser utilizadas de vinte a trinta por cento do total de proteína bruta fornecida. Porém, o fornecimento de ureia antes dos quatro meses de idade não é recomendado. A quantidade de fibra (FDN e FDA) deve ser mínima, apenas o suficiente para garantir o funcionamento apropriado dos movimentos reticulo-ruminais.

O objetivo principal de um programa nutricional e de boas práticas de manejo de animais para reposição é a produção de vacas superiores. Portanto, o sucesso deste programa não deve ser medido em termos de ganho de peso diário ou da eficiência alimentar, mas na forma de produção potencial de leite da novilha quando vaca.

## ***2.2 - Fontes de lipídeos para bovinos***

O uso de fontes de lipídeos nas dietas de bovinos vem se tornando cada vez mais comum, visto que anteriormente essa dieta era baseada apenas em pastagens, hoje recebe suplementos variados, buscando atingir alto desempenho produtivo. Sendo o caso de bovinos leiteiros que a cada geração estão se tornando mais produtivos e conseqüentemente mais exigentes em nutrição (Van Soest, 1994).

Sua utilização nas rações se dá pelos motivos de aumentar a capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis, fornecer importantes ácidos graxos essenciais para as membranas de tecidos e, principalmente, atuar como precursores para a regulação do metabolismo. Além de aumentar a eficiência produtiva dos animais.

Os lipídeos possuem um valor como combustível fisiológico ou mais comumente, um valor de energia, de 9,0 Mcal/kg, o que equivale a cerca de 2,25 mais energia que a provinda dos carboidratos e proteína, além de produzir menos calor durante a digestão e utilização pelo corpo. Portanto, a utilização de lipídeos nas dietas de ruminantes pode gerar algumas vantagens como o aumento da densidade calórica ou energética da dieta, diminui a necessidade de concentrados ricos em carboidratos, aumento da eficiência do uso da energia devido ao menor incremento calórico, reduzindo assim o estresse térmico dos animais. Outro

grande motivo para a inclusão de fontes de lipídios na dieta de ruminantes é a melhoria na eficiência da conversão de alimentos, podendo haver um menor consumo de matéria seca (NRC, 2001).

A quantidade de lipídeos na dieta não deve exceder de 6 a 8 %, pois o excesso deste poderá trazer efeitos negativos como a diminuição da ingestão pelo animal, a produção e a composição de gordura do leite. Como fontes de lipídeos nas dietas de ruminantes podemos citar óleos vegetais e sementes de oleaginosas como as principais fontes de energia de baixo custo. Para o sucesso do uso de lipídeos na dieta, o período de adaptação dos animais torna-se essencial (Wattiaux, 1996).

Assim, o uso de fontes de lipídeos torna-se uma alternativa viável e interessante para suprir a demanda energética de ruminantes, principalmente para bovinos leiteiros em períodos críticos do ciclo produtivo.

### **2.3 - Grão de soja**

Diante de uma pecuária cada vez mais competitiva, onde as eficiências produtivas e econômicas andam sempre juntas, devemos sempre buscar alternativas para que o produtor possa reduzir custos de produção alterando o mínimo possível ou não alterando a eficiência produtiva do rebanho. Uma alternativa importante e que tem grande impacto nos custos de produção, é a redução dos custos com alimentação, e o grão de soja torna-se um importante ingrediente na dieta de ruminantes, visto que além de ser um alimento de excelente qualidade é também mais barato quando comparado com outros ingredientes, como por exemplo, o farelo de soja.

Dentre os alimentos proteicos de origem vegetal como fonte alternativa de proteína e energia, a soja recebe grande destaque, e é considerada a semente de oleaginosa mais rica e disponível no mundo, fazendo dela uma excelente fonte na alimentação de ruminantes na sua forma original (crua) ou processada (Corrêa, 2007). No Brasil, o grão de soja tem destaque pela grande disponibilidade e custo compatível com sua alta qualidade em nutrientes, visto que atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja.

Existe uma crescente demanda pelo grão de soja tanto no mercado nacional quanto no mercado internacional, que buscam o grão e os subprodutos, seja para extração de óleo para o uso doméstico e produção de biodiesel ou para a fabricação de rações animais. A utilização do grão de soja na alimentação de ruminantes não é recente, contudo, apresenta

composição de aproximadamente 39,2% de proteína bruta, 19,2% de extrato etéreo e 84,5% de nutrientes digestíveis totais (NRC, 2001; Valadares Filho et. al, 2006), e por isso tem sido utilizado na alimentação de ruminantes com o propósito de ser fonte de proteína, devido a alta concentração e adequado valor biológico deste nutriente, e também pelo elevado teor de extrato etéreo, que pode ser utilizado como fonte de gordura para ruminantes. Além disso, o grão de soja integral tem destaque pelo elevado teor de ácidos graxos insaturados e pela grande aceitação pelos animais (Palmquist, 1978; Palmquist, 1991; Rabello et al., 1996; Palmquist; Mattos 2006).

Devido ao seu elevado valor energético, o uso do grão de soja nas dietas de vacas de alta produção vem crescendo por elevar a densidade energética das dietas (Palmquist, 1991), assim, possibilita um aumento da relação volumoso e concentrado da ração, diminuindo problemas metabólicos relacionados com a excessiva ingestão de amido. O incremento calórico dos animais e a produção de metano podem ser reduzidos com a utilização do grão de soja, aumentando a eficiência do uso da energia dos alimentos para a produção.

Como vantagem do uso do grão de soja integral como fonte de gordura, pode ser citada a lenta liberação de lipídeos no rúmen, onde a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais não é superada, o que impede a possível perda de digestibilidade de fibra pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (Coppock; Wilks, 1991; Palmquist, 1991). Isso ocorre em sementes de oleaginosas porque a maioria dos lipídeos está presente no germe e, portanto, há necessidade da degradação da parede celular para que a hidrólise se inicie.

Contudo, devido à presença de substâncias tóxicas, estimulantes ou inibitórias, incluindo fatores alergênicos e anticoagulantes, o uso do grão de soja cru na alimentação animal vem sendo evitado (McDonald et al., 2002). Para ruminantes, a maioria destas substâncias não apresentam problemas, pois são desativadas ou metabolizadas durante o processo de digestão, onde a maior preocupação para a utilização do grão de soja na alimentação de ruminantes está na presença de fatores inibidores da atividade da tripsina e/ou quimo tripsina, que podem reduzir a digestibilidade da proteína da dieta e aumentar a excreção de nitrogênio (Church & Kellems, 1998).

Como alternativa para trazer benefícios em relação à qualidade da proteína e a inativação de substâncias indesejáveis presentes que poderiam alterar o aproveitamento de nutrientes, a tostagem ou aquecimento do grão de soja pode vir a ser feito. A alta quantidade



de proteína degradável no rúmen pode ser convertida em proteína não degradável no rúmen por meio de tratamentos térmicos, onde é mais comum à utilização da extrusão ou tostagem (Bateman & Clark, 2000). Da mesma forma, as substâncias anti nutricionais presentes seriam desativadas com o aquecimento ou tostagem do grão de soja (McDonald et al., 2002).

Em relação à viabilidade econômica do grão de soja utilizado na alimentação de ruminantes, verifica-se que ele é de 10 a 15% mais barato que o farelo de soja, o que o torna muito interessante, visto que o farelo é um coproduto da extração do óleo de soja. Assim, o grão de soja, que é o produto principal, é mais barato que o farelo de soja, que é seu coproduto.

#### ***2.4 - Quitosana na alimentação de bovinos***

Nos últimos anos, diversas tecnologias vêm sendo desenvolvidas com o intuito de aumentar a produtividade animal. Como ferramentas, o melhoramento genético, o aprimoramento das técnicas de manejo e o desenvolvimento de diferentes estratégias nutricionais vêm sendo utilizadas para atender as exigências de animais cada vez mais produtivos. Na bovinocultura, pouco ainda tem sido feito com o objetivo de melhorar a eficiência de aproveitamento dos alimentos por meio do melhoramento genético. A capacidade dos animais de converter alimentos de baixo valor nutricional em alimentos de alta qualidade, com eficiência, tem sido um dos objetivos da nutrição de ruminantes.

Uma das estratégias mais utilizadas é a inclusão de aditivos na dieta com o objetivo de modular a fermentação ruminal e otimizar o processo digestivo. No entanto, os aditivos mais utilizados atualmente, são em sua maioria, substâncias com atividade antimicrobiana, tendo destaque os antimicrobianos ionóforos. Visto que a resistência de humanos a antibióticos poderia ser influenciada pelo uso rotineiro de antimicrobianos na alimentação animal, e pela sustentabilidade social e ambiental poder ser comprometida, em 2006, após 30 anos de uso, a União Europeia banuiu os antimicrobianos como promotores de crescimento animal, estando os ionóforos incluídos na lista.

Considerando o efeito benéfico da utilização destes aditivos, não somente sob o ponto de vista das vantagens sanitárias e nutricionais, mas também sob o ponto de vista econômico, diferentes aditivos foram e têm sido desenvolvidos pela comunidade acadêmica e pela indústria relacionada à alimentação animal para promover efeitos similares aos ionóforos. Diante disto, diversos aditivos vêm sendo utilizados com este propósito, como os

óleos essenciais, taninos e as leveduras. Recentemente, Goiri et al. (2009a) propôs a utilização de quitosana como modulador da fermentação ruminal e dos processos digestivos, obtendo resultados promissores.

A quitosana é um biopolímero natural atóxico e biodegradável e devido principalmente às suas atividades antimicrobianas, tem ganhado diversas aplicações na medicina e conservação de alimentos. Obtida pela deacetilação da quitina, biopolímero mais abundante da natureza após a celulose, sendo polissacarídeo mundialmente distribuído como componente principal do exoesqueleto de crustáceos, moluscos e insetos, assim como da parede celular de algumas bactérias, fungos e algas (Senel et al., 2004). Além disso, a quitosana apresenta baixo custo por ser subproduto da indústria pesqueira, o que a torna um atrativo para a indústria de diversos segmentos (Assis & Silva, 2003).

A atividade antimicrobiana da quitosana é bem reconhecida contra diversas bactérias, fungos e leveduras, sendo influenciado por diversos fatores como o tipo de quitosana, o grau de polimerização, peso molecular, tipo de bactéria e outras propriedades químicas e físicas (Senel et al., 2004). A atividade antibacteriana da quitosana foi proposta pela primeira vez por Allan & Hardwiger (1979). Segundo Tang et al 2010, esse polissacarídeo possui um amplo espectro de ação com doses mínimas inibitórias contra ambas bactérias, gram positivas e gram negativas.

A quitosana interage com a superfície lipopolissacarídea das bactérias gram negativas e da mesma forma com a fração peptidoglicana das bactérias gram positivas, ambas aniônicas. Com esta interação, ocorre um escapamento de eletrólitos e constituintes proteicos intracelulares (Young et al., 1982; Chien et al., 1998). Determinados estudos apontam que bactérias gram positivas são mais susceptíveis do que as bactérias gram negativas (Kumar et al., 2005), mecanismo desejado na utilização do composto como modulador de fermentação ruminal.

Até o presente, a utilização de quitosana como aditivo na alimentação animal é pouco estudada, estando mais desenvolvidos os estudos em monogástricos. Em ruminantes, a quitosana foi estudada como uma nova fonte alternativa de nitrogênio e recentemente como possível moduladora da fermentação ruminal a fim de otimizar a eficiência alimentar em ruminantes (Goiri et al., 2009a).

Goiri et al., (2009a) avaliaram a utilização de diferentes especificações de quitosana sobre a digestão ruminal *in vitro*, utilizando a silagem de milho como volumoso. Observou-se que a quitosana com mais de 95% de desacetilação alterou a digestão ruminal *in vitro*, reduzindo a digestibilidade da matéria orgânica e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta. Em relação à proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta, foi observada uma redução da concentração de acetato e aumento na concentração de propionato.

Posteriormente, Goiri et al., (2009b), em estudo dose-resposta *in vitro* avaliaram a digestão e fermentação ruminal em substratos com diferentes relações volumoso: concentrado, adicionados de doses crescentes de quitosanas com diferentes graus de desacetilação. Na avaliação como substrato dietas com alta proporção de forragem (80%), estes autores não observaram alterações na concentração total de ácidos graxos de cadeia curta e na proporção molar de acetato, porém houve redução da digestibilidade da matéria orgânica e da concentração de butirato. Em relação ao propionato, houve marcante aumento de sua concentração com o aumento da dose de quitosana, e redução na relação acetato: propionato. Os resultados de Goiri et al., 2009b, demonstraram que a dose de quitosana utilizada no estudo *in vitro* influencia a fermentação microbiana ruminal, e que a dose ótima a ser utilizada depende da natureza do substrato utilizado para incubação e da especificação da quitosana utilizada.

De acordo com Goiri et al., (2009c), a adição de quitosana exerce efeito nos processos fermentativos no rúmen, o que pode melhorar a eficiência de utilização de energia *in vitro*, e este efeito foi mantido durante todo o período experimental sem nenhuma adaptação aparente dos microrganismos presentes. O estudo de Goiri et al., (2010), foi o primeiro experimento que utilizou animais e quitosana como aditivo para avaliar se há alteração na fermentação ruminal. Segundo os autores, a quitosana altera a fermentação ruminal favorecendo o uso mais eficiente da energia, no entanto, sem reduzir a digestibilidade da matéria orgânica.

Araújo (2011), trabalhando com novilhos Nelores canulados no rúmen, também observou redução da proporção molar de acetato, com aumento da proporção de propionato, indicando que o uso da quitosana altera a fermentação ruminal, priorizando rotas energéticas mais eficientes.

Mingoti (2013), avaliou a inclusão de diferentes doses de quitosana na dieta de vacas leiteiras, com produção média de 30 kg de leite por dia, no terço médio de lactação e observou

aumento linear na digestibilidade da matéria seca e nutrientes, com melhoria da eficiência do uso de nitrogênio, apesar de não ter sido observado diferença na produção de leite.

Analisando os estudos que avaliaram a quitosana e seus efeitos sobre a fermentação ruminal e digestão, observa-se que existe grande potencial a ser explorado na utilização de quitosana na alimentação de ruminantes.

### ***2.5 - Síntese de proteína microbiana***

A proteína da dieta que não é degradada no rúmen e a sintetizada no rúmen é utilizada para a formação de tecidos, leite, enzimas e hormônios, este processo depende do consumo de proteínas e outros compostos que contem nitrogênio, servindo de substrato para os microrganismos presentes no rúmen. Entre 65 a 85% da proteína e 100% do nitrogênio não proteico presentes nas dietas que são consumidos pelos animais são degradados no rúmen a compostos mais simples, como aminoácidos, amônia, ácidos graxos voláteis e dióxido de carbono. Estes compostos são utilizados para a síntese de proteína microbiana, processo dependente da disponibilidade da energia proveniente da fermentação de matéria orgânica no rúmen, podendo ser prejudicada pela falta de energia e/ou pela falta de nitrogênio.

Quando os níveis de amônia excedem a capacidade de síntese da microflora ruminal, esta é absorvida pelo epitélio ruminal e transportada através do sangue ate o fígado, onde é possível afirmar que, em curto prazo, os ruminantes poderiam sobreviver consumindo dietas sem proteína em função da reciclagem de amônia e se nessa dieta existir uma forma de nitrogênio adequada para a produção de amônia. Em longo prazo, os ruminantes necessitam de proteína dietética para fornecer os aminoácidos que maximizam a digestão da fibra e a síntese de proteína microbiana.

Os ruminantes possuem expressiva atividade fermentativa devido à relação simbiótica com os microrganismos ruminais, onde os animais contribuem com o alimento e o habitat, enquanto os microrganismos fornecem ácidos graxos voláteis e aminoácidos formados a partir de substratos que não seriam aproveitados pelo animal hospedeiro, como a fibra e o nitrogênio não proteico (Kozloski, 2002).

A proteína microbiana sintetizada no rúmen é responsável pela maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes. A composição de aminoácidos da proteína microbiana é semelhante ao da proteína dos tecidos do próprio animal, bem como da proteína encontrada no leite. Quando comparado à composição da proteína de concentrados proteicos

de origem vegetal, a proteína microbiana possui maior proporção de metionina e lisina, e com a proibição da utilização de alimentos de origem animal em dietas para ruminantes, a proteína microbiana é a que melhor atende aos requerimentos de aminoácidos do animal, Verbic, 2002.

Com o intuito de aumentar a eficiência produtiva, tem sido objetivo da nutrição de ruminantes, maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado. Para isso, torna-se necessário quantificar a contribuição da síntese ruminal de proteína microbiana para melhor entender o processo de conversão dos componentes da dieta em proteína microbiana e dos fatores que a afetam. Contudo, a mensuração da produção de proteína microbiana é dificultada por envolver três populações distintas, bactérias, protozoários e fungos, que constantemente são expostas à pressão de seleção em seu habitat, sendo alteradas frequentemente.

Para o metabolismo proteico dos ruminantes é fundamental o suprimento de aminoácidos a partir da proteína microbiana, visto que a maior parte dos aminoácidos absorvidos no intestino delgado é proveniente dela. A eficiência de produção microbiana e o fluxo microbiano são fatores determinantes da quantidade de proteína microbiana que alcança o intestino delgado. Segundo o NRC (2001), a proteína sintetizada a partir dos microrganismos ruminais possui excelente perfil de aminoácidos com pouca variação em sua composição. Portanto, é de grande importância o estudo dos mecanismos de síntese de proteína microbiana e dos fatores relacionados.

A mensuração da síntese e/ou fluxo de proteína microbiana pode ser dividida em três técnicas principais, a determinação direta através da contagem de microrganismos, a determinação indireta com o uso de indicadores presentes nos microrganismos, como o RNA e algumas substâncias próprias destes organismos, e a determinação indireta, através da incorporação pelos microrganismos de substâncias externas, como os elementos  $^{15}\text{N}$  e  $^{35}\text{S}$ .

De acordo com Moscardini et al., (1998), a partir da excreção urinária de derivados de purina, principalmente alantoína e ácido úrico, o fluxo de nitrogênio microbiano para o duodeno pode ser estimado, sendo que a quantidade de ácido nucleico microbiano e como consequência a síntese microbiana ruminal são proximamente correlacionadas à excreção urinária de derivados de purina.

Métodos para medir a produção de compostos nitrogenados microbianos incluem a utilização de marcadores internos, com bases de purinas e ácido 2,6 diaminopimélico

(DAPA), e externos, como 15N e 35S. Por estes métodos necessitarem da utilização de animais fistulados e da determinação do fluxo da matéria seca no abomaso, há um desenvolvimento de técnicas não invasivas para estimar a produção microbiana.

Pessoa et al., (2009), objetivando avaliar o efeito da associação de palma forrageira ao bagaço de cana-de-açúcar e à ureia sobre o balanço de compostos nitrogenados e a produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras recebendo ou não suplemento, utilizou 25 novilhas da raça Girolando, com peso vivo médio inicial de 227 kg, confinadas, distribuídas em delineamento experimental de blocos ao acaso, estabelecidos de acordo com o peso dos animais, verificaram que a associação da palma forrageira ao bagaço de cana-de-açúcar e à ureia, sem o uso de suplementos, permite eficiência de síntese microbiana de 105 gPBmic/kg de NDT consumido. A suplementação com caroço de algodão proporciona maior excreção urinária de alantoína e derivados de purina e melhor eficiência de síntese microbiana, portanto, é a mais indicada nestas condições.

Carvalho et al., (2011), avaliando o balanço de nitrogênio, as concentrações de ureia na urina e no plasma e a síntese de proteína microbiana em novilhas alimentadas com dietas contendo cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio, utilizando 20 novilhas mestiças Holandês-Zebu com peso corporal médio inicial de 200 kg distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições, verificaram que o uso de óxido de cálcio em níveis de até 2,25% no tratamento da cana-de-açúcar não afeta as concentrações de ureia na urina e no plasma nem a excreção de ureia na urina e a síntese de proteína microbiana em novilhas.

Teixeira et al., (2007), avaliando o efeito da substituição da silagem de milho pela casca de café em dietas para novilhas leiteiras sobre as variáveis ruminais, o balanço de compostos nitrogenados e a produção de proteína microbiana, utilizando 24 novilhas leiteiras da raça Holandesa, puras e mestiças, distribuídas em um delineamento em blocos ao acaso, com quatro tratamentos e seis blocos, formados de acordo com o peso inicial dos animais, verificaram que as excreções de ácido úrico, alantoína e de derivados de purina, as purinas absorvidas, o N microbiano (Nmic) e a eficiência microbiana (Efic M) reduziram linearmente com a substituição parcial da silagem de milho pela casca de café, com redução de 1,08 g/dia Nmic e de 1,96 gPB/kg NDT de Efic M por unidade de casca de café adicionada à dieta. A inclusão de casca de café em níveis de até 21% MS em dietas para novilhas leiteiras reduz a

produção de nitrogênio microbiano e a eficiência microbiana, o que pode prejudicar o desempenho animal.

## **2.6 - Balanço de nitrogênio**

O balanço de nitrogênio no animal, assim como a síntese de proteína microbiana, é uma análise de grande importância para avaliar a qualidade das dietas fornecidas aos animais, sendo o nitrogênio consumido menos o nitrogênio encontrado nas fezes e urina, fornece uma quantificação do metabolismo proteico, revelando ganhos ou perdas proteicas, sendo importante para evitar prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais, devido ao fornecimento de grandes quantidades de proteína ou da inadequada sincronia energia-proteína no rúmen. Dessa forma a determinação dos compostos nitrogenados torna-se importante para a avaliação do estado nutricional dos animais, buscando uma melhor compreensão de seu metabolismo.

O nitrogênio presente no rúmen pode ser oriundo de duas fontes, o de origem endógena, derivado da reciclagem de ureia, das células epiteliais de descamação e do processo de lise das células microbianas, e o de origem dietética, composto pela proteína verdadeira e pelo nitrogênio não proteico (Cavalcante et al., 2006).

De acordo com Clark et al., (1992), os principais fatores que limitam o crescimento microbiano são a disponibilidade de nitrogênio e de energia no rúmen. Segundo Cavalcante et al., 2006, a disponibilidade de carboidratos, pelo fato de ser responsável pelo aporte de energia, também pode afetar a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados.

Segundo Magalhães et al., (2005), a maioria dos microrganismos do rúmen, especialmente os celulolíticos, utilizam a amônia como fonte de nitrogênio para realizar a produção de proteína microbiana. Para o crescimento microbiano, é primordial a presença do nitrogênio amoniacal no rúmen, desde que associada a uma fonte de energia adequada. Assim, de acordo com Russell et al., (1992), e Hristov et al., (2005), havendo uma produção excessiva de amônia e sua consequente absorção ruminal, ocorrerá o aumento da excreção urinária de compostos nitrogenados, o que contribui para o aumento da produção de ureia, com gasto energético e perda de nitrogênio.

A amônia ruminal resultante do processo de proteólise bacteriana, que é encontrada livre e em excesso no rúmen, é absorvida pela parede posterior do rúmen e reaproveitada pelo organismo sob a forma de ureia (Russell et al., 1992). Para isso, através do ciclo da ureia, a

amônia é levada pela corrente sanguínea até o fígado. Assim, de acordo com Harmeyer & Martens (1980), existe uma relação direta de proporcionalidade entre a amônia produzida no rúmen e a quantidade de ureia formada pelo fígado.

Também está diretamente relacionada ao aporte proteico e à relação proteína/energia da dieta a concentração de ureia plasmática. Segundo Van Soest (1994), está positivamente correlacionada com as concentrações de nitrogênio no plasma e com a ingestão de nitrogênio a concentração de ureia encontrada na urina, tendo um caráter de indicativo de eficiência de utilização do nitrogênio ruminal.

Com isso, torna-se perfeitamente possível avaliar o estado nutricional dos animais com a concretização do balanço nutricional por meio dos produtos absorvidos e da extensão das perdas excretadas. De acordo com Chen & Gomes (1992), este estado pode ter efeito direto na resposta produtiva. Para esta avaliação, é possível optar por métodos como a coleta spot, que consiste numa coleta única realizada aproximadamente quatro horas após o fornecimento de alimento aos animais em uma única amostragem representativa. Nessa metodologia, o volume urinário é calculado dividindo-se a excreção diária de creatinina por sua concentração na amostra de urina, onde esta excreção é constante e não é influenciada por tratamentos experimentais (Valadares et al., 1999).

Teixeira et al., (2007), objetivando avaliar o efeito da substituição da silagem de milho pela casca de café em dietas para novilhas leiteiras sobre as variáveis ruminais, o balanço de compostos nitrogenados e a produção de proteína microbiana, utilizaram 24 novilhas leiteiras da raça Holandesa, puras e mestiças, distribuídas em um delineamento em blocos ao acaso, com quatro tratamentos e seis blocos, formados de acordo com o peso inicial dos animais, verificaram que o consumo de compostos nitrogenados (N) e a excreção de N fecal e urinário aumentaram linearmente com a substituição da silagem de milho pela casca de café, o que resultou em balanço de N positivo, com média de 22,31 g/dia para todas as dietas, porém, a porcentagem de N absorvido em relação ao consumido reduziu linearmente. A concentração de amônia ruminal e a concentração de ureia no plasma (NUS), média de 11,03 e 10,08 mg/dL, respectivamente, não foram afetadas pela inclusão da casca de café na dieta.

Pessoa et al., (2009), avaliaram o efeito da associação de palma forrageira ao bagaço de cana-de-açúcar e à ureia sobre o balanço de compostos nitrogenados e a produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras recebendo ou não suplemento, utilizando 25 novilhas da raça Girolando, com peso vivo médio inicial de 227 kg, confinadas, distribuídas



em delineamento experimental de blocos ao acaso, estabelecidos de acordo com o peso dos animais, verificaram que o balanço de nitrogênio não foi influenciado pelas dietas e apresentou valor médio de 49,3 g/dia. A suplementação com farelo de algodão ou com farelo de soja aumentou a excreção de nitrogênio na urina, a concentração de ureia e nitrogênio ureico no plasma e a excreção urinária de ureia e nitrogênio ureico.

Santos et al., 2010, avaliaram a influencia do fornecimento de concentrados à base de farelo de soja ou farelo de algodão em dietas com silagem de milho sobre o balanço de nitrogênio e a produção de proteína microbiana em fêmeas leiteiras em crescimento. As dietas foram constituídas da combinação de dois níveis de concentrado (1 ou 2 kg) e duas fontes proteicas (farelo de soja ou farelo de algodão). Os animais que consumiram concentrado na quantidade de 2 kg/dia apresentaram maior consumo de nitrogênio total, entretanto não houve efeito significativo sobre o N<sub>fecal</sub>, N<sub>urinário</sub> e o balanço de nitrogênio. A interação entre o nível de concentrado e a fonte proteica influenciou o nitrogênio ureico na urina (N<sub>urina</sub>), mas não alterou os níveis de nitrogênio ureico no plasma. Os níveis de concentrado e as fontes proteicas não afetaram as concentrações de purinas totais e alantoína na urina, a porcentagem de alantoína em relação às purinas totais, os níveis de ácido úrico na urina e nitrogênio microbiano nem a eficiência microbiana. O fornecimento de 1 ou 2 kg de concentrado contendo farelo de soja ou farelo de algodão como fontes proteicas para novilhas leiteiras em crescimento não afeta a eficiência microbiana, entretanto o fornecimento de 2 kg de concentrado aumenta a excreção de nitrogênio nas fezes.

Carvalho et al., 2011, avaliaram o balanço de nitrogênio, as concentrações de ureia na urina e no plasma e a síntese de proteína microbiana em novilhas alimentadas com dietas contendo cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio. Utilizaram-se 20 novilhas mestiças Holandês-Zebu com peso corporal médio inicial de 200 kg, distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições. O tratamento da cana-de-açúcar com óxido de cálcio influenciou o balanço de nitrogênio, pois ocasionou redução tanto no consumo como na quantidade de nitrogênio digerido e retido. O nitrogênio retido (em % do N ingerido e do N digerido) também reduziu linearmente conforme aumentaram os níveis de óxido de cálcio na cana-de-açúcar. O uso de óxido de cálcio em níveis de até 2,25% no tratamento da cana-de-açúcar não afeta as concentrações de ureia na urina e no plasma nem a excreção de ureia na urina e a síntese de proteína microbiana em novilhas.

### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Animais e dietas

O experimento foi conduzido no setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada nas coordenadas 22°11'43.49'' de Latitude Sul e 54°55'77'' de Longitude Oeste, com período experimental total de 100 dias.

Foram utilizadas 8 novilhas da raça Jersey, com idade de 6±0,5 meses, com peso médio de 139,50±25,56 kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 quadrados latinos 4X4, balanceados e contemporâneos, em arranjo fatorial 2X2. O período experimental foi de 20 dias sendo que 14 para a adaptação das dietas experimentais e 6 para a colheita de dados.

Tabela 1 – Dietas experimentais

Item	Controle	Grão de Soja	Quitosana	Quit+GS
<b>Ingredientes (%)</b>				
Silagem de Milho	50,04	50,04	50,04	50,04
Milho	24,84	19,50	24,84	19,50
Farelo de Soja	20,01	9,05	20,01	9,05
Grão de Soja	-	16,30	-	16,30
Premix mineral <sup>1</sup>	5,11	5,11	5,11	5,11
Quitosana (g/kgMS)	-	-	2,00	2,00
<b>Nutrientes</b>				
Matéria seca (%)	57,30	57,55	57,30	57,55
	<b>% Matéria seca</b>			
Matéria orgânica	95,03	94,82	95,03	94,82
Proteína bruta	14,95	14,90	14,95	14,90
Extrato etéreo	2,48	7,20	2,48	7,20
Fibra em detergente neutro	37,83	38,38	37,83	38,38
Carboidrato não fibroso	39,77	33,69	39,77	33,69
Cinzas	4,93	5,14	4,93	5,14
Nutrientes digestíveis totais	71,00	77,43	71,00	77,43
	<b>Mcal/kg MS</b>			
Energia líquida	1,62	1,78	1,62	1,78
Energia líquida de ganho	1,20	1,39	1,20	1,39

<sup>1</sup> Níveis de garantia (Kg/produto): Cálcio: 120,00 g, Fósforo: 88,00 g, Iodo: 75,00 mg, Manganês: 1300,00 mg, Sódio: 126,00 g, Selênio: 15,00 mg, Enxofre: 12,00 mg, Zinco: 3630,00 mg, Cobalto: 55,50 mg, Cobre: 1530,00 mg e Ferro: 1800,00 mg.

As dietas experimentais foram: 1- Controle (CONT); 2 – Quitosana (QUIT) (inclusão de 2g/kgMS) 3- Grão de soja (GS) (7.2% de EE); 4- CHIGS (inclusão de quitosana + grão de soja). As dietas experimentais foram formuladas de acordo com o NRC, 2001 visando ganho de peso de 700 gramas por dia, sendo isonitrogenadas (Tabela 01). A dieta

possuía uma relação de 50% de volumoso e 50% de concentrado. O volumoso utilizado foi silagem de milho. A quitosana utilizada em todo o experimento apresentou as seguintes especificações técnicas: densidade aparente 0,64 g/ml, cinzas totais 2,0% máximo, pH 7,0-9,0, viscosidade <200 cPs e grau de desacetilação 95%. (Polymar Indústria e Cia. Imp. e Exp. LTDA, Brasil).

### **3.2 - Análises bromatológicas**

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento, para estimativa do consumo. Os animais foram arraçoados duas vezes ao dia, às 6:30 e às 13:00 horas, de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, de forma a ser mantido um percentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10% do fornecido para não haver limitação de consumo. As duas porções constituintes da ração, concentrado e volumoso, foram misturadas no cocho e fornecidas na forma de dieta completa. Após o preparo da mistura no cocho, as amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20°C.

As amostras de silagem, ingredientes do concentrado e sobras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e Cinzas (CZ), conforme técnicas descritas por Silva & Queiroz (2009). Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram calculados segundo Hall, (1998) onde:  $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Ureia} + \% \text{ Ureia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$ . Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações do NRC (2001), em que:  $NDT = CNFd + PBd + (EEd * 2,25) + FDNd - 7$ , onde PBd, CNFd, FDNd e EEd representam o total destes nutrientes digestíveis. O cálculo de Energia líquida e Energia líquida de ganho, foram realizadas de acordo como o (NRC, 2001).

### **3.3 - Síntese de proteína microbiana**

A colheita de urina foi realizada no 14º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação. Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de 50 ml urina pura acrescida a 1 ml de ácido sulfúrico PA foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de ureia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da equação  $EC = 32,27 - 0,01093 \times PV$  em que: EC = excreção diária de creatinina (mg/kg PV); e PV = peso vivo (kg) (Rennó et al., 2000). Os níveis de alantoína na urina e os de ácido úrico na urina e alantoína do foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação  $Pabs = (DP - 0,236 \cdot PV^{0,75}) / 0,84$ , em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e  $0,236 \cdot PV^{0,75}$ , a excreção endógena de derivados de purina (Orellana Boero et al., 2001). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen & Gomes, 1992):  $Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,134 \cdot 1.000)$ , em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

### **3.4 - Balanço de nitrogênio**

O consumo de nitrogênio foi determinado retirando-se o valor de conversão de nitrogênio total das amostras para obtenção do valor de proteína bruta (6,25), obtendo-se quantidade em gramas de nitrogênio consumida. O mesmo cálculo foi realizado com os valores de proteína bruta das fezes obtendo-se a excreção total de nitrogênio em g/Kg MS.

A colheita de urina bem como o cálculo do volume urinário diário foi realizado de acordo como descrito no item “*Síntese de proteína microbiana*”. O nitrogênio total das amostras de urina foi determinado de acordo com as metodologias descritas por AOAC (2002), onde a quantidade em gramas de nitrogênio para cada 100 mL de urina foi obtido dividindo-se o valor de proteína bruta das amostras pelo fator 6,25 para as amostras de urina.

O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio em gramas consumido pelos valores de nitrogênio na urina e fezes, obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e em porcentagem de nitrogênio total.

### **3.5 - Clearance de ureia e creatinina**

O sangue foi coletado no 14º dia de cada período experimental através da punção da veia jugular antes da alimentação do período da manhã. O sangue foi imediatamente centrifugado a 2.000 rpm por 15 minutos, obtendo-se o plasma, que foi armazenado a -15°C. As concentrações de creatinina e ureia no sangue foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética. A concentração de N-ureico plasmático foi obtida por meio do produto da concentração de ureia no plasma por 0,466, correspondente ao teor de N na ureia. A concentração de N da creatinina plasmático foi obtida por meio do produto da concentração de creatinina no plasma por 0,3715, correspondente ao teor de N na creatinina.

As depurações plasmáticas ou clearance de creatinina e ureia foram obtidas pela relação entre a excreção urinária em 24 horas e a concentração plasmática de cada substância, enquanto a excreção fracional de ureia foi determinada por intermédio da relação entre as depurações plasmáticas de ureia e de creatinina, multiplicada por 100.

### **3.6 - Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + C_k + Q_l + G_m + Q_l(G_m) + e_{ijklm}$$

onde:  $Y_{ijk}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $j = 1$  a 8),  $P_j$  = efeito do período ( $y = 1$  a 4),  $C_k$  = efeito do quadrado ( $k = 1$  to 2),  $Q_l$  = efeito de quitosana ( $l = 1$  a 2),  $G_m$  = efeito de grão de soja ( $m = 1$  a 2),  $Q_l(G_m)$  = efeito de interação e  $e_{ijklm}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$  e  $P_j$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por  $DDFM = kr$ . Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

## 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Síntese de Proteína Microbiana

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados dos parâmetros da síntese de proteína microbiana. A concentração de alantoina (mmol/L) na urina e sua excreção (mmol/dia), não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pelas dietas. A concentração de ácido urico (mmol/L) na urina teve efeito sobre QUI+GS, aumentando ( $P<0,05$ ) a concentração de ácido urico. Já a excreção de ácido urico (mmol/dia) não foi influenciada pelas dietas. A concentração de ácido urico na urina (mmol/L) foi 44,41% maior para a dieta QUI+GS em relação à dieta QUI, e 28,75% maior em relação à dieta GS, em relação às dietas QUI+GS e CONT não houve diferença estatística.

Tabela 2 - Síntese de proteína microbiana

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valores de P <sup>3</sup>		
	CONT	QUI	GS	QUI+GS		QUI	GS	INT
	<i>mmol/L</i>							
Alantoina	5,81	5,01	4,67	4,58	0,43	0,540	0,285	0,626
Ácido Urico	2,82 <sup>a</sup>	1,74 <sup>c</sup>	2,23 <sup>b</sup>	3,13 <sup>a</sup>	0,27	0,863	0,446	0,045
Purinas totais	8,64	6,76	6,90	7,71	0,49	0,514	0,631	0,079
	<i>mmol/dia</i>							
Alantoina	84,09	64,23	84,78	59,19	7,56	0,075	0,858	0,815
Ácido Urico	38,24	20,28	44,71	39,88	4,28	0,186	0,133	0,439
Purinas totais	122,33	84,51	129,48	99,07	8,92	0,035	0,477	0,807
Purinas abs	137,70	93,10	145,97	110,28	10,56	0,027	0,434	0,787
	<i>g/dia</i>							
Nitrogênio	103,86	71,09	110,00	83,71	7,74	0,037	0,634	0,987
Proteína bruta	649,12	444,33	687,52	523,18	48,38	0,037	0,634	0,987

<sup>1</sup>CONT (dieta controle), QUI (quitosana 2g/kg de MS); GS (6,0% de EE), QUI+GS(quitosana 2g/kg de MS+6,0% de EE).<sup>2</sup>EPM (Erro padrão da média) <sup>3</sup>Efeito de QUI (quitosana), GS (adição de ácidos graxos), INT (interação). Médias seguidas de letras diferentes foram desdobradas pela interação através do pdiff pelo PROC MIXED do SAS,(2009).

Em relação à concentração de purinas totais (mmol/L) na urina, não foi influenciada pelas dietas. Já a excreção de purinas totais (mmol/dia), a QUI reduziu ( $P<0,05$ ) sua excreção, e isso se repetiu em relação à excreção de purinas abs (absorvíveis). Tanto a síntese de nitrogênio quanto a síntese de proteína bruta foram influenciadas pela dieta QUI, o que resultou em uma redução ( $P<0,05$ ) tanto na síntese de nitrogênio quanto na síntese de proteína bruta. A excreção de purinas totais (mmol/dia) foi 34,73% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS. A excreção de purinas abs (mmol/dia) foi 36,22% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS. Tanto a síntese de nitrogênio quanto a síntese de proteína bruta (g/dia) foi 35,37% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS.

Os resultados para síntese de proteína microbiana revelam que a quitosana reduziu a excreção de purinas totais e absorvíveis, resultando, conseqüentemente, em uma menor síntese de proteína de origem microbiana, efeito que influenciou diretamente a síntese de nitrogênio e proteína bruta, causando também redução. Segundo Russell et al. (1992), a síntese de proteína microbiana é de fundamental importância, e para que ela ocorra, é necessário ter proteína degradável no rúmen (PDR) em quantidade e qualidade, buscando atingir a máxima eficiência microbiana.

A utilização de certos moduladores de fermentação ruminal, como é o caso dos ionóforos, pode reduzir a produção de amônia no rúmen, limitando a disponibilidade de nitrogênio para a produção da proteína microbiana (Russel 1996), efeito que pode ter ocorrido com a utilização da quitosana como modulador de fermentação ruminal, ou ainda, quantidades substanciais de aminoácidos e peptídeos resultantes da proteólise ruminal podem ter sido deaminados e utilizados na produção de energia ao invés de serem incorporados na proteína microbiana. Com isso, uma parcela significativa da proteína é convertida a amônia, a qual pode difundir-se através do epitélio ruminal e ser excretada na urina como uréia.

Araújo (2011), trabalhando com novilhos Nelores canulados no rúmen, verificou que não houve efeito da quitosana sobre a síntese de proteína microbiana com a utilização da quitosana. Mingoti (2013), trabalhando com vacas em lactação, também observou o mesmo efeito.

#### **4.2 - Balanço de Nitrogênio**

Na Tabela 3, estão os resultados para balanço de nitrogênio. O consumo de nitrogênio não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelas dietas, não havendo diferença significativa entre elas para consumo de nitrogênio.

A excreção fecal de nitrogênio (g/dia) respondeu de forma aditiva a dieta QUI, reduzindo ( $P<0,05$ ) a excreção de nitrogênio nas fezes, possivelmente devido a melhor utilização do nitrogênio na forma de aminoácidos disponíveis em nível intestinal, decorrente das mudanças na fermentação ruminal provocada pela quitosana. Del Valle, 2014, trabalhando com vacas em lactação, verificou que tanto o óleo de soja quanto a quitosana também reduziram a excreção de nitrogênio nas fezes. Este efeito está relacionado com a melhoria da digestibilidade das dietas contendo quitosana.

A excreção fecal de nitrogênio (g/dia) foi 8,49% menor para a dieta QUI em relação à dieta CONT e 5,35% menor em relação à dieta GS. Porém, a excreção fecal (% NT) não foi influenciada ( $P>0,05$ ) pelas dietas. A excreção urinária de nitrogênio (g/dia e/ou % NT) respondeu de forma aditiva a QUI+GS. A dieta QUI+GS reduziu ( $P<0,05$ ) a excreção de nitrogênio na urina. A excreção urinária de nitrogênio (g/dia) foi 69,87% menor para a dieta QUI+GS em relação à dieta CONT, aumentando a absorção de nitrogênio, já a excreção de nitrogênio (% NT) foi 69,45% menor.

Este efeito está relacionado com o aporte proteico e energético da dieta, onde os principais fatores que limitam o crescimento microbiano são a disponibilidade de nitrogênio e de energia no rúmen (Clark et al., 1992). Assim, o aporte de energia associado ao aporte proteico afetou a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados, reduzindo a excreção de nitrogênio na urina.

Tabela 3 - Balanço de Nitrogênio

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valores de P <sup>3</sup>		
	CONT	QUI	GS	QUI+GS		QUI	GS	INT
	<i>Consumo (g/dia)</i>							
Nitrogenio	169,49	160,64	158,15	160,27	5,56	0,561	0,316	0,348
	<i>Excreção (g/dia)</i>							
Fezes	40,02	36,62	38,69	37,87	1,66	0,013	0,990	0,685
Urina	100,75 <sup>a</sup>	99,21 <sup>a</sup>	33,69 <sup>c</sup>	30,35 <sup>c</sup>	13,59	0,036	0,004	0,014
	<i>Balanço (g/dia)</i>							
N-absorvido	129,47	124,02	119,45	122,40	5,21	0,148	0,522	0,503
N-retido	28,71 <sup>b</sup>	24,80 <sup>b</sup>	85,76 <sup>a</sup>	92,03 <sup>a</sup>	15,24	0,005	0,026	0,042
	<i>Excreção (% NT)</i>							
Fezes	24,49	22,92	24,65	24,15	1,08	0,623	0,741	0,798
Urina	63,32 <sup>a</sup>	64,78 <sup>a</sup>	20,83 <sup>b</sup>	19,34 <sup>b</sup>	9,34	0,036	0,004	0,014
	<i>Balanço (% NT)</i>							
N-absorvido	75,5	77,08	75,34	75,84	1,08	0,404	0,341	0,573
N-retido	12,17 <sup>b</sup>	12,29 <sup>b</sup>	54,23 <sup>a</sup>	57,43 <sup>a</sup>	9,71	0,034	0,012	0,045

<sup>1</sup>CONT (dieta controle), QUI (quitosana 2g/kg de MS); GS (6,0% de EE), QUI+GS(quitosana 2g/kg de MS+6,0% de EE).<sup>2</sup>EPM (Erro padrão da média) <sup>3</sup>Efeito de QUI (quitosana), GS (adição de ácidos graxos), INT (interação). Médias seguidas de letras diferentes foram desdobradas pela interação através do pdiff pelo PROC MIXED do SAS,(2009).

Em relação ao nitrogênio absorvido (N-absorvido), tanto em g/dia quanto em % NT, não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelas dietas. O nitrogênio retido (N-retido), tanto em g/dia quanto em % NT, respondeu de forma aditiva a dieta QUI+GS, aumentando ( $P<0,05$ ) a quantidade de nitrogênio retido. O nitrogênio retido (g/dia) foi 68,80% maior para a dieta com QUI+GS em relação à dieta CONT e para o nitrogênio retido (% NT) foi 78,80% maior, aumentando significativamente a quantidade de nitrogênio retido.



### 4.3 - Clearance de ureia e creatinina

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados de clearance de ureia e creatinina. A concentração de ureia e creatinina na urina (mg/dL) não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pelas dietas. O nitrogênio provindo da ureia e também da creatinina não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelas dietas.

A concentração de ureia e creatinina no sangue (mg/dL) foram influenciadas ( $P<0,05$ ) pelas dietas que contiam QUI ou GS separadamente, onde a concentração de ureia foi menor para a dieta QUI e maior para a dieta GS. Já a concentração de creatinina foi maior para a dieta QUI e menor para a dieta GS. A concentração de ureia no sangue (mg/dL) foi 17,67% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS. Já a concentração de creatinina no sangue (mg/dL) foi 33,75% menor para a dieta GS em relação à dieta QUI.

Tabela 4 - Clearance de ureia e creatinina

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valores de P <sup>3</sup>			
	CONT	QUI	GS	QUI+GS		QUI	GS	INT	
<i>Urina (mg/dL)</i>									
Ureia	125,63	125,63	121,38	118,38	2,59	0,623	0,071	0,623	
Creatinina	4,23	3,98	3,35	5,00	0,36	0,236	0,914	0,114	
N-Ureico	58,54	58,54	56,56	55,16	1,21	0,623	0,071	0,623	
N- Creatinina	1,57	1,48	1,24	1,85	0,13	0,236	0,914	0,114	
<i>Sangue (mg/dL)</i>									
Ureia	40,37	35,50	43,12	42,37	2,30	0,048	0,002	0,155	
Creatinina	0,77	0,80	0,53	0,78	0,04	0,015	0,026	0,442	
N-Ureico	18,81	16,54	20,09	19,74	1,07	0,048	0,002	0,155	
N- Creatinina	0,28	0,29	0,20	0,29	0,01	0,017	0,026	0,639	
<i>Excreção (mg/kg PV)</i>									
Ureia	506,15	485,90	451,46	443,31	27,11	0,580	0,069	0,812	
Creatinina	30,52	30,56	30,52	30,52	0,07	0,212	0,267	0,332	
<i>Clearance (24 horas)</i>									
Ureia	14,18	15,32	11,35	11,16	1,11	0,604	0,001	0,470	
Creatinina	44,40	41,68	60,19	42,03	2,76	0,016	0,045	0,065	
<i>Excreção fracional (%)</i>									
Ureia	30,91	36,18	20,09	26,78	1,96	0,004	0,001	0,702	

<sup>1</sup>CONT (dieta controle), QUI (quitosana 2g/kg de MS); GS (6,0% de EE), QUI+GS(quitosana 2g/kg de MS+6,0% de EE).<sup>2</sup>EPM (Erro padrão da média) <sup>3</sup>Efeito de QUI (quitosana), GS (adição de ácidos graxos), INT (interação). Médias seguidas de letras diferentes foram desdobradas pela interação através do pdiff pelo PROC MIXED do SAS,(2009).

A concentração de nitrogênio provindo da ureia e da creatinina foram influenciados ( $P<0,05$ ) pelas dietas que contiam QUI ou GS separadamente. O nitrogênio ureico foi menor para a dieta QUI e maior para a dieta GS, já o nitrogênio provindo da creatinina foi maior para QUI e menor para GS. A concentração de nitrogênio provindo da ureia no sangue (mg/dL) foi

17,67% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS. Já a concentração de nitrogênio provindo da creatinina no sangue (mg/dL) foi 31,03% menor para a dieta GS em relação à dieta QUI.

Tanto a excreção de ureia quanto a de creatinina não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pelas dietas. O clearance da ureia foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pela dieta GS, o que resultou em um menor clearance. O clearance da creatinina foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelas dietas QUI ou GS, sendo menor para QUI e maior para GS. O clearance, que é a capacidade renal para depurar solutos a partir do plasma, da ureia foi 19,96% menor para a dieta GS em relação à dieta CONT, já o clearance da creatinina foi 30,75% menor para a dieta QUI em relação à dieta GS.

A excreção fracional da ureia, porcentagem de ureia excretada, foi influenciada ( $P < 0,05$ ) pelas dietas QUI ou GS, tendo uma maior excreção pela dieta QUI e uma menor excreção pela dieta GS. A excreção fracional da ureia (%) foi 44,47% menor para a dieta GS em relação à dieta QUI.

## **5 – CONCLUSÃO**

A associação entre quitosana e grão de soja influenciou positivamente o metabolismo proteico de novilhas Jersey.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, C.R.; HADWIGER, L.A. **The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying in cell wall composition.** *Exp Mycol.*, v.3, p.285-287, 1979.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis.** 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington., VA.

ARAÚJO, A.P.C. **Efeito de diferentes concentrações de quitosana na dieta de novilhos Nelore.** 2011. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

ASSIS, O.B.G.; SILVA, V.L. Filmes de quitosana processados em diversas concentrações: Polímeros. **Ciência e Tecnologia**, v.13, nº 4, p.223-228, 2003.

BATEMAN, H.G.; CLARK, J.H. Soybean based feeds for dairy cows, Illinois Dairy Nnet: The online resource for the dairy industry. **Dairynet papers**, 2000.

CARVALHO, G.G.P.; GARCIA, R.; PIRES, A.J.V.; DETMANN, E.; SILVA, R.R.; PEREIRA, M.L.A.; SANTOS, A.B.; PEREIRA, T.C.J. Metabolismo de nitrogênio em novilhas alimentadas com dietas contendo cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.622-629, 2011.

CAVALCANTE, M.A.B.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.203-210, 2006.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. 1992. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details.** (Occasional publication) International Feed Research Unit. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21p.

CHIEN, C.S.; LIAU, W.Y.; TSAI, G.J. Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. **J. Food Prot.**, v.61, p.1124-1128, 1998.

CHURCH, D.C.; KELLEMS, R.O. Supplemental protein sources. In: KELLEMS, R.O.; CHURCH, D.C. **Livestock Feeds and Feeding**. 1998. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall. 135-163p.

CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.8, p.2304-2323, 1992.

COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental Fat in High-Energy Rations for Lactating Cows: Effects on Intake, Digestion, Milk Yield, and Composition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.69, n.9, p.3826-3837, 1991.

CORRÊA, A.M.V. **Utilização de grão de soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007. 128 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal Viçosa, Minas Gerais, Viçosa, 2007.

DEL VALLE, T.A. **Quitosana associada a fonte de lipídeos na alimentação de vacas em lactação**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

FUJIHARA, T., ÆRSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agriculture. Science.**, 109:7-12.

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

GOIRI, I.; GARCIA-RODRIGUES, A.; OREGUI, L.M. Effect of chitosan on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v.152, p.92-102, 2009b.

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

GOIRI, I.; OREGUI, L.M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. **Journal of Animal Science**, v.88, n.2, p.749-755, 2010a.

HALL, M.B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrates. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, FL. **Proceedings**... Gainesville: Florida University, 1998. p.108-121.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.10, p.1707-1728, 1980.

HOLMES, C.W., WILSON, G.F. Produção de leite a pasto. Trad. Edgard Leone Caielli. Campinas: Instituto de Ensino Agrícola, 1990. 708p. p.108-131, cap. 6: **manejo e forrageamento de novilhas em reposição**.

HRISTOV, A.N.; ROPP, J.K.; GRANDEEN, K.L. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**. 83: 408–421, 2005.

KOZLOSKI, G.V. Bioquímica dos ruminantes. 1. ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.

KUMAR, A.B.V.; VARADARAJ, M.C.; GOWDA, L.R.; THARANATHAN, R.N. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosanolytic with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. **The Biochemical Journal**, v.391, p.167-175, 2005.

MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhos alimentados com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1400-1407, 2005.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. et al. *Animal Nutrition*. 2002. 6 ed. Gosport: Pearson Prentice Hall. 693p.

MINGOTI, R.D. **Desempenho produtivo, digestão e metabolismo em vacas leiteiras alimentadas com diferentes concentrações de quitosana nas dietas**. 2013. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

- MONTARDO, O.V. Alimentos e alimentação de rebanho leiteiro. Guaíba: Agropecuária, 1998. 209p. p.145-171, cap. 7.
- MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T.C.; LUIMES, P.H. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivate and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and protein system. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2421-2329, 1998.
- NEIVA, R.S. Produção de bovinos leiteiros. 2.ed. Lavras: UFLA : 2000. 514p. p.173-252, cap. 9.
- NRC-National Research Council. Nutrients requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington, D.C: National Academy Press, 2001.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; FILHO, S.C.V.; CECON, P.R.; RENNÓ, L.N.; QUEIROZ, A.C.; CHIZZOTTI, M.L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PALMQUIST, D.L.; CONRAD, H.R. High fat rations for dairy cows. effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. **J. Dairy Sci**, v.61, p.890-901, 1978.
- PALMQUIST, D.L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v.74, p.1354-1360, 1991.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v.61, p.561-565, 1978.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.287-310.
- PESSOA, R.A.S.; LEÃO, M.I.; FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; QUEIROZ, A.C. Balanço de compostos nitrogenados e produção de

proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e ureia associados a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.941-947, 2009.

PIRLO, G.; CAPELLETTI, M.; MARCHETTO, G. Effects of energy and protein allowances in the diets of prepubertal heifers on growth and milk production. **J. Dairy Sci.**, v.80, p.730-739, 1997.

RABELLO, T.G.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Grão de soja moído na alimentação de vacas lactantes. Digestão total e parcial dos nutrientes. **Rev. Bras. Zootec.**, v.25, p.142-151, 1996.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; PAULINO, M.F.; RENNO, F.P.; SILVA, P.A. Urea levels in diet for steers of four genetic groups: microbial protein production by the urinary purine derivatives, using two collection methodologies. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.546-555, 2008.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SANTOS, S.A.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Balanço de nitrogênio em fêmeas leiteiras em confinamento alimentadas com concentrado à base de farelo de soja ou farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, Viçosa, 2010.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's Guide. Raleigh, NC: SAS Institute, Inc., 2004.

SENEL, S.; McCLURE, S.J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.56, p.1467-1480, 2004.

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

TEIXEIRA, R.M.A.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas



com casca de café em substituição à silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1691-1698, 2007 (supl.).

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES K.A.; ROCHA JR, V.R. et al. Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 239p.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: Cornell University, p.476, 1994.

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

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 24 - 25. April 2002.

VIÉGAS, J. Manejo de novilhas leiteiras, em busca da eficiência técnica. **Bovinocultura leiteira : bases zootécnicas, fisiológicas e de produção** / SANTOS, G.T., et al. Maringá : Eduem, 2010. 381p. p.79-107.

WANG, G.H. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. **J. Food Protection** 55: 916–919, 1992.

WATTIAUX, M.A. Technical dairy guide: Raising dairy heifers. Madison, WI: University of Wisconsin System, 1996. 126p. Online. Disponível em: <http://babcock.cals.wisc.edu>.

YOUNG, D.H.; KOHLE, H.; KAUSS, H. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultures Glycine max and Phaseolus vulgaris cells. **Plant. Physiol.**, v.70, p.1449-1454, 1982.