



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

VICTOR GUIMARÃES OLIVEIRA LIMA

**QUITOSANA ASSOCIADA AO GRÃO DE SOJA CRU E INTEGRAL NA DIETA DE
BÚFALOS: PH E NITROGÊNIO AMONIAL DE DIGESTA RETICULAR**

Salvador - BA
2014

VICTOR GUIMARÃES OLIVEIRA LIMA

**QUITOSANA ASSOCIADA AO GRÃO DE SOJA CRU E INTEGRAL NA DIETA DE
BÚFALOS: PH E NITROGÊNIO AMONIAL DE DIGESTA RETICULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do Bacharelado em Zootecnia.

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

Salvador - BA
Semestre 2/ 2014

VICTOR GUIMARÃES OLIVEIRA LIMA

**QUITOSANA ASSOCIADA AO GRÃO DE SOJA CRU E INTEGRAL NA DIETA DE
BÚFALOS: PH E NITROGÊNIO AMONIAL DE DIGESTA RETICULAR**

DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Declaro, para todos os fins de direito e que se fizerem necessários, que isento completamente a Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, a coordenação da Disciplina MEVA 99 – Trabalho de Conclusão de Curso e os professores indicados para compor o ato de defesa presencial, de toda e qualquer responsabilidade pelo conteúdo e idéias expressas no presente Trabalho de Conclusão de Curso.

Estou ciente que poderei responder sob pena administrativa, civil e criminalmente em caso de plágio comprovado.

Salvador, 23 de Novembro de 2014.

Victor Guimarães Oliveira Lima

Victor Guimarães Oliveira Lima

TERMO DE APROVAÇÃO

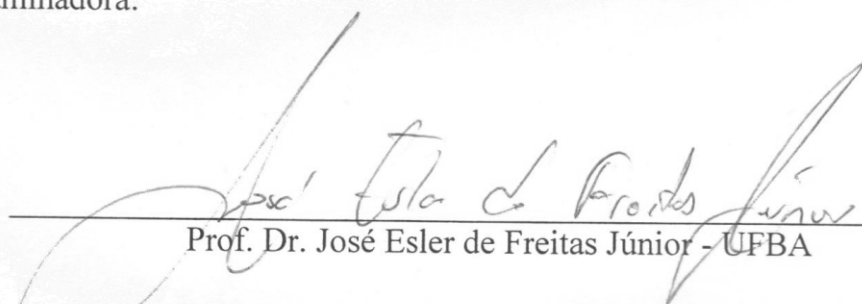
VICTOR GUIMARÃES OLIVEIRA LIMA

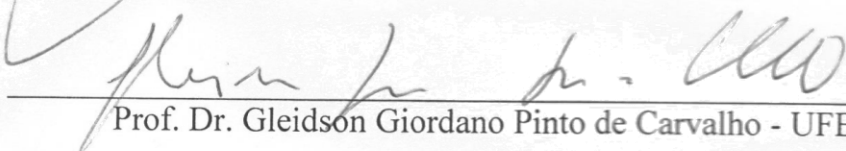
QUITOSANA ASSOCIADA AO GRÃO DE SOJA CRU E INTEGRAL NA DIETA DE BÚFALOS: PH E NITROGÊNIO AMONIAL DE DIGESTA RETICULAR

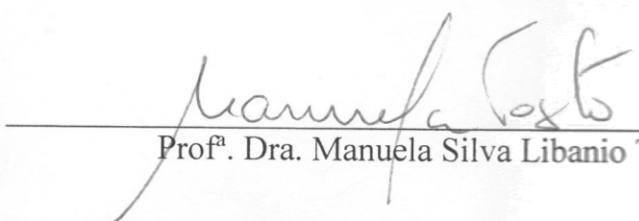
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia.

Aprovado em: 05 / 12 / 2024

Banca Examinadora:


Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior - UFBA


Prof. Dr. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho - UFBA


Prof^ª. Dra. Manuela Silva Libanio Tosto - UFBA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e minha família, principalmente meus pais, Giovane Oliveira Lima e Marta Cristina Guimarães Oliveira Lima, e minha avó, Maria das Mercês Guimarães Oliveira, pelo apoio incondicional nas minhas escolhas e conquistas durante essa caminhada.

À escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, na figura de todo seu corpo docente e funcionários por fazerem parte destes cinco anos de “labuta”. Especialmente os professores que proporcionaram conhecimento e boas histórias dentro e fora da sala de aula. Não posso me esquecer de agradecer aos professores Gleidson Giordano Pinto de Carvalho e Vagner Maximino Leite pelo apoio na pesquisa, Cláudio Ribeiro e Ossival Lolato Ribeiro por terem proporcionado minha introdução na pesquisa científica e terem acreditado no meu potencial.

Fica esse parágrafo em especial para agradecimento ao meu orientador José Esler de Freitas Júnior pelo apoio, paciência de “Jó” e entusiasmo para realização deste trabalho. Além da amizade, das risadas e das conversas que tivemos sobre a vida profissional e pessoal. Por ter me possibilitado a oportunidade de adquirir novos conhecimentos específicos e novas metodologias.

Aos Órgãos que financiaram a pesquisa, sendo eles: Capes, FAPESB, CNPq e UFBA.

À minha namorada, Liliane, pelo amor que tem por mim e pelo seu companheirismo incondicional durante todos os momentos.

À Jandrei, Maurício, Isabela, “Saroca”, “Molly”, Catarine, “Lili baixinha”, “Maria Bonita”, “Tonhão”, Dayane, Taís, “Paulinha”, “Mirivis”, Tamara, “Carai”, “Leo Pai de Santo”, “Jordas”, “Jaque Beiru”, a todo grupo silageiros, Aloisio, Alessandro, JB, toda galera da ACC de Reprodução e ao nosso motorista de honra seu Hudson “Deus Abençoa!”, Neide e Arinalva “A Dupla”, Patrícias Dutra e Cirqueira, João Paulo, Maria, Luciana e Laís. A todos, pelas resenhas e risadas que demos juntos durante estes cinco anos.

Não posso esquecer do meu “sócio” Prof. Guido Laércio pelas oportunidades que me proporcionou e por fazer o melhor hidromel do Brasil. Ao nosso repertório de imitações professores: Gleidson, Manuela, José Esler, Gusmão, Gustavo Machado, Vanessa e Analívia por não terem se importado e até terem dado boas risadas com nossos trotes e resenhas. Quanto

aos outros, ainda estamos tentando. Desde já, peço desculpa aos que sofreram com nossos trotes e perturbações.

Resumindo tudo, agradeço a todos que aturaram direta ou indiretamente a minha cara de “pau” e me tornaram o “Vitão da zootecnia”, “menino dos gráficos”, “Nerd”, “Vitorino” e “Coreano”.

Meu muito obrigado e um forte abraço a todos!

“Tudo é considerado impossível, até acontecer.”

Nelson Mandela

GUIMARÃES OLIVEIRA LIMA, VICTOR. **QUITOSANA ASSOCIADA AO GRÃO DE SOJA CRU E INTEGRAL NA DIETA DE BÚFALOS: PH E NITROGÊNIO AMONIAL DE DIGESTA RETICULAR.** Salvador, Bahia, 2014. 38 p. Trabalho de Conclusão de Curso do Curso de Zootecnia – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2014.

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar a digesta reticular de búfalos alimentados com dietas contendo quitosana associada ao grão de soja cru e integral, através da mensuração dos valores de pH e concentrações de nitrogênio amoniacal. Foram utilizados quatro búfalos, com peso corporal de 380 ± 18 kg de desvio padrão, com aproximadamente 24 meses, machos castrados da raça Murrah, canulados no rúmen, distribuídos em um quadrado latino 4 x 4, alimentados com as seguintes dietas: 1) Controle (CO), composta por uma dieta basal sem a inclusão de quitosana e sem inclusão de gordura; 2) Quitosana (Q), com a inclusão de 250 mg/ kg de peso corporal de quitosana sem inclusão de gordura; 3) Grão de soja (GS), com a inclusão de grão de soja e sem inclusão de quitosana; e 4) Quitosana – grão de soja (Q*GS), com a inclusão de quitosana e grão de soja. Não houve diferença para os valores de pH e para as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), reticular ($P > 0,01$) com a inclusão da quitosana e do grão de soja. De forma semelhante, não foi demonstrada diferença na interação entre o tratamento e aos horários de coleta para os valores de pH e concentrações de (N-NH₃) ($P > 0,01$). Os parâmetros estudados foram influenciados pelo tempo após alimentação ($P < 0,01$). A utilização de quitosana e grão de soja não altera os valores de pH e as concentrações de nitrogênio amoniacal das digestas durante os sete tempos de coleta.

Palavras chave: *bubalus bubalis*, digesta reticular, ácidos graxos, fermentação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais.....	24
Tabela 2 - Ingredientes e composição de nutrientes das dietas experimentais.....	24
Tabela 3 - Ingredientes e composição de nutrientes dos concentrados experimentais	25
Tabela 4 - Efeito das dietas sobre os valores de pH na digesta reticular.....	27
Tabela 5 - Efeito das dietas sobre os valores de pH no retículo.....	29
Tabela 6 - Efeito das dietas sobre os valores de pH no retículo.....	30
Tabela 7 - Efeito das dietas sobre as concentrações de N-NH ₃ no retículo.....	30
Tabela 8 - Efeito das dietas sobre as concentrações de N-NH ₃ no retículo.....	32

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Valores de pH observados na digesta do reticulo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja..... 28
- Figura 2 - Concentrações de nitrogênio amoniacal no reticulo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja..... 31
- Figura 3 - Comportamento das concentrações médias de nitrogênio amoniacal e valores de pH no reticulo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja..... 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

AG	ÁCIDOS GRAXOS
AGMI	ÁCIDOS GRAXOS MONOINSATURADOS
AGPI	ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
AGV	ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS
CE	COMISSÃO EUROPÉIA
CLA	ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO
CMS	CONSUMO DE MATÉRIA SECA
CNF	CARBOIDRATOS NÃO-FIBROSOS
CV	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
EE	EXTRATO ETÉREO
FDN	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO
FDNi	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO INDIGESTÍVEL
GSI	GRÃO DE SOJA INTEGRAL
KG	QUILO
MAPA	MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
MM	MATÉRIA MINERAL
MO	MATÉRIA ORGÂNICA
MS	MATÉRIA SECA
ORO	ORIFÍCIO RETÍCULO-OMASAL
PB	PROTEÍNA BRUTA
pH	POTENCIAL HIDROGENIONICO
PNDR	PROTEÍNA NÃO-DEGRADÁVEL NO RÚMEN
PDR	PROTEINA DEGRADÁVEL NO RÚMEN
TGI	TRATO GASTROINTESTINAL

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Uso de fontes de ácidos graxos em dietas de ruminantes.....	14
2.1.1. Grãos de soja cru e integral na dieta de ruminantes.....	15
2.2. Uso de aditivos para alteração na fermentação ruminal.....	17
2.2.1. Quitosana.....	18
2.3. Fermentação ruminal.....	19
2.4. Caracterização da digesta.....	20
2.4.1. Digesta Reticular.....	20
2.4.2. Digesta Omasal.....	21
2.4.3. Digesta Abomasal.....	22
3. METODOLOGIA EMPREGADA.....	22
3.1. Local, Instalações e Animais.....	22
3.2. Dietas experimentais e delineamento estatístico.....	23
3.3. Análise de alimentos.....	24
3.4. Coleta de amostras.....	25
3.5. Análises Estatísticas.....	26
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	27
4.1. Valores de pH.....	27
4.2. Concentrações de nitrogênio amoniacal.....	30
5. CONCLUSÕES.....	33
6. REFERÊNCIAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

A utilização de fontes de ácidos graxos na dieta de ruminantes era considerada apenas como uma forma de suprir a demanda energética dos animais, em situações os quais não era possível suprir a demanda por energia através do consumo de matéria seca, porém agora são consideradas ainda as modificações biológicas que estas fontes provocam sobre o metabolismo e a fisiologia dos ruminantes (HARVATINE e ALLEN, 2006b).

Outro ponto que deve ser levado em questão é que o aumento dos níveis destas fontes de AG é realizada através da inclusão no concentrado que compõe a dieta dos búfalos, e tem como o objetivo de suprir a demanda de nutrientes necessária de acordo com o potencial produtivo, estágio fisiológico e estágio de lactação que não poderia ser suprido apenas com alimentos volumosos.

Além disso, esta estratégia alimentar provoca modificações na fermentação ruminal que podem ser vantajosas e, através do aumento na densidade de nutrientes fornecidos o animal poderá expressar o seu potencial produtivo revertendo-os em aumento de produção de carne e leite, além de aumento da concentração de compostos nutracêuticos como o Ácido Linoleico Conjugado (CLA).

No entanto, desvantagens como redução no pH, aumento das perdas de nitrogênio endógeno, redução na digestibilidade da fibra e, em casos extremos, distúrbios metabólicos, podem ser observados através do não atendimento dos níveis de fibra efetiva requerida pelos ruminantes. A eficiência do uso de alimentos concentrados pode ser aumentada através do uso de aditivos alimentares.

Neste aspecto, a quitosana apresenta grande vantagem em relação a outros aditivos comerciais, por ser um biopolímero que atua em amplo espectro no controle principalmente de bactérias gram positivas que, comprovadamente, apresentam fermentação menos eficiente resultando em perdas de energia através da produção de metano. Outra vantagem é que a quitosana é um subproduto da indústria pesqueira e não apresenta nenhuma restrição imposta a sua utilização pela União Europeia.

Portanto, objetivou-se avaliar neste estudo a digesta reticular de búfalos alimentados com dietas contendo quitosana associada ao grão de soja cru e integral, através da mensuração dos valores de pH e das concentrações de nitrogênio amoniacal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Uso de fontes de ácidos graxos em dietas de ruminantes

Os ácidos graxos são compostos que possuem cadeia longa de hidrocarbonetos e carboxila como grupo terminal, estas substâncias são encontradas de forma abundante nos sistemas biológicos. No entanto, os ácidos graxos raramente são encontrados na forma livre, sendo as formas mais comuns as de monoácil, diácil e triácilglicerol de acordo com a quantidade de ácidos graxos que se ligam a molécula de glicerol (LEHNINGER, 2005).

Segundo o mesmo autor a maior parte dos ácidos graxos encontrados na natureza, possuem número de carbonos variando entre 14 e 24, e são classificados como saturados (possui apenas ligações simples na molécula), ou insaturados (possuem uma ou mais ligações duplas). Os AG que possuem ligação dupla única classificados como ácidos graxos monoinsaturado (AGMI) e caso apresentem mais de uma dupla recebe a classificação de ácido graxo poliinsaturado (AGPI) (LEHNINGER, 2005).

É sabido que, desde que seja absorvido e metabolizável, o ácido graxo apresenta 2,25 vezes mais energia que os carboidratos e proteínas. Fornecidos na forma livre (óleo) ou ligados a outras moléculas (lipídeos) possuem importante papel na regulação do metabolismo, através do aumento da ingestão de energia, redução do incremento calórico, aumento na capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis, fornecimento de ácidos graxos essenciais a formação de membranas e incorporação de gorduras nos produtos de origem animal, em destaque, no leite (PALMQUIST e MATTOS, 2011).

No entanto, PALMQUIST e JENKINS (1980) em ampla revisão sobre o uso de ácidos graxos na dieta de ruminantes descrevem que a inclusão em dietas acima de 5% da matéria seca total, pode reduzir a digestibilidade da fibra em bovinos e ovinos, devido às seguintes teorias: Constituição de uma barreira física na fibra comprometendo o ataque dos microrganismos; Efeito tóxico em certos microrganismos, podendo provocar uma alteração na população de microrganismos no rúmen; Inibição da atividade microbiana provocando interferência na permeabilidade da membrana celular em bactérias gram positivas e; Redução na disponibilidade de cátions pela formação de complexos insolúveis (sabões), efeito este que afeta o pH ruminal e/ou equilíbrio osmótico dos microrganismos.

Estes autores relataram que o uso de ácidos graxos na dieta de ruminantes é uma forma eficaz de aumentar a densidade energética da mesma, entretanto, mais estudos deveriam ser

realizados para compreender as interações dos ácidos graxos com a fibra, cátions, amônia e microbiota ruminal.

Portanto, o uso de fontes de ácidos graxos em dietas de ruminantes apresenta as seguintes vantagens: disponibilidade de fontes comerciais; aumento na densidade energética das dietas; redução do incremento calórico; aumento parcial na eficiência de produção de leite pela incorporação direta do ácido graxo da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos não fibrosos visando à otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal; aumento da flexibilidade na formulação da ração; modificação na composição da gordura do leite ou de tecidos para aceitação pelo consumidor e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC 2001; PALMQUIST e MATTOS, 2006).

2.1.1 Grão de soja cru e integral na dieta de ruminantes

A soja destaca-se entre os alimentos proteicos de origem vegetal como fonte alternativa de proteína e energia, sendo considerada semente de oleaginosa mais rica e disponível no mundo, podendo ser usada na alimentação dos ruminantes na sua forma original (crua) ou processada (CORRÊA, 2007).

Entre as características nutritivas da soja integral na nutrição de ruminantes destaca-se a alta quantidade de proteína degradável no rúmen (PDR), que pode ser convertida em proteína não degradada no rúmen (PNDR) por meio de tratamento térmico, e ao seu alto teor de energia devido ao elevado teor de extrato etéreo. De acordo com o NRC (2001) e CQBAL 3.0, a soja crua possui cerca de 19,05 % de extrato etéreo e 38,46 % de proteína bruta na matéria seca.

Entre outras vantagens a soja integral pode ser considerada uma fonte de gordura naturalmente protegida, já que a maioria dos lipídeos se encontram protegidos pela matriz proteica, necessitando que ocorra a degradação da parede celular para que ocorra ação das lipases microbianas sobre o conteúdo celular (SILVA, 2005). Essa característica permite que ocorra liberação lenta dos AG durante a fermentação ruminal, possibilitando, portanto, a biohidrogenação quase em sua totalidade à medida que o grão é triturado pela mastigação/ruminação. Em caso de escape deste processo mecânico de trituração, pouca ação exercerá sobre a microbiota ruminal, descartando-se possível redução na digestibilidade da fibra (FREITAS JÚNIOR, 2012).

Quando se avalia aspectos referentes à suplementação energética outra vantagem nutricional do grão de soja integral (GSI) consiste no fornecimento de 10% a mais de energia líquida por Kg de MS que o farelo de soja. Este fornecimento de energia a mais é justificado pelo conteúdo de extrato etéreo no grão ($19,05\% \pm 3,97$) em relação ao farelo (5,72%).

No entanto, RENNÓ et al. (2009) revisaram estudos realizados com o uso de grão de soja na alimentação de vacas leiteiras e concluíram que, o potencial de utilização do grão de soja cru em rações de vacas leiteiras ainda não foi adequadamente explorado em função da preocupação com a qualidade da dieta e a presença de fatores antinutricionais (inibidores de tripsina e/ou quimiotripsina) que teriam o potencial de reduzir o aproveitamento de nutrientes.

Apesar de esta preocupação existir, não está definido na literatura a partir de que nível nas dietas a presença do grão de soja cru poderia influenciar a eficiência de utilização do nitrogênio ou o aproveitamento de nutrientes dietéticos. PALMQUIST e MATTOS (2011) recomendam que a inclusão na dieta possa ser de até 15% na dieta total (MS), sem causar efeitos negativos no desempenho produtivo.

BARLETA (2010), concluiu em seu trabalho que o nível de 16% de inclusão de grão de soja integral na dieta de vacas em início de lactação e com produção de 31,21 kg/dia se mostrou mais adequado, pois não houve alteração no consumo de alimentos e na produção de leite, além de ter influenciado em alterações positivas na composição do leite, aumento numérico da porcentagem de gordura e no perfil de ácidos graxos do mesmo.

CÔNSOLO (2011) realizou um estudo avaliando a inclusão de três níveis de grão de soja integral na matéria seca total (8, 16 e 24%) na dieta de bovinos de corte em sistema de confinamento e concluiu que a inclusão até o nível máximo de GSI não comprometeu o desempenho produtivo, o metabolismo, a qualidade de carcaça e de carne.

VENTURELLI (2011) realizou estudo com três níveis de inclusão de grão de soja integral (9, 18 e 27% da matéria seca) na dieta de vacas leiteiras em terço final de lactação e verificou que a inclusão de GSI na dieta de vacas em terço final de lactação produzindo 23,99 kg/dia se mostrou viável, uma vez que pouco alterou o desempenho produtivo e metabolismo dos animais.

FREITAS JÚNIOR, (2012) avaliou a biohidrogenação de três fontes de gordura dietéticas (óleo de soja refinado, grão de soja *in natura* e sais de cálcio de ácidos graxos insaturados) em vacas holandesas em terço médio de lactação canuladas no rúmem e abomaso e con-

cluiu que a utilização de grão de soja e sais de cálcio reduziram a biohidrogenação ruminal e aumentaram o fluxo de ácidos graxos insaturados no abomaso das vacas, sem alterar os processos digestórios e o metabolismo ruminal de ácidos graxos. Sendo que o grão de soja por ser um produto não beneficiado desponta como opção econômica e prática na suplementação de vacas em terço médio de lactação.

É importante salientar que poucos trabalhos que descrevem a suplementação de ácidos graxos na dieta de búfalos (*bubalus bubalis*) em condições brasileiras são encontrados na literatura científica. Neste quesito o presente trabalho visa contribuir com esta lacuna de trabalhos científicos, sendo necessário esclarecer a inclusão de GSI em dietas de búfalos de corte e búfalas leiteiras no período de transição e em diferentes estágios de lactação.

2.2 Uso de aditivos e a fermentação ruminal

O Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento (MAPA) define aditivos, como substâncias intencionalmente adicionadas aos alimentos com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não haja decréscimo no valor nutritivo.

É fundamental que a formulação das rações e o manejo alimentar sejam corretos para a obtenção de benefícios com o uso de aditivos. No momento em que alternativas nutricionais no manejo da ração se esgotam, recorrer ao uso de aditivos visando melhorar a eficiência produtiva e a redução das perdas energéticas metabólicas representa uma das alternativas viáveis ao sistema de produção (BERCHIELLI e BERTIPAGLIA, 2010).

Segundo ZEOULA et al. (2008) o processo de intensificação da fermentação ruminal pode ser obtido através da razão entre maximização e minimização de reações ruminais, que dependem do tipo e do teor da dieta, do desempenho animal e dos compostos utilizados na modulação da fermentação ruminal. Os processos que devem ser maximizados são: A produção de proteína microbiana; a fermentação da fibra a ácidos graxos voláteis e minimizados; a produção de metano; a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados; e em parte, a fermentação do amido.

No entanto, foi aprovada pela Comissão Europeia (CE) a proposta diretiva 1831/2003/EC, que visa controlar o uso de aditivos na alimentação animal e estabelece proibição do uso de antibióticos como aditivos, dentre a classe dos antibióticos proibidos se encontra um dos aditivos alimentares mais populares utilizados na nutrição de ruminantes a montesina sódica.

Portanto, atualmente a exploração pecuária passa por um momento de mudança em sua conjuntura no que se trata da questão uso de aditivos, sendo necessárias alternativas rentáveis, que respeitem as normas de bem-estar animal e que não acarretem risco ao consumidor e ao meio ambiente. Uma estratégia para a manutenção e aumento da eficiência de produção sem reduzir a lucratividade é o uso de produtos naturais, desde que com permissão legal de uso, e cuja eficiência seja representativa na resposta fisiológica e produtiva dos animais (CAJA et al., 2003).

2.2.1 Quitosana

Como alternativa aos antibióticos ionóforos usados desde a década de 1970, e hoje em dia proibidos na União Europeia, recentemente foi proposta a utilização de quitosana para modular a fermentação e digestão ruminal, com resultados promissores (GOIRI et al., 2009, a,b,c., WENCELOVÁ et al., 2014). A quitosana, segundo os mesmos autores, é um biopolímero biodegradável, atóxico, derivado da deacetilação da quitina, que é, por sua vez, o biopolímero mais abundante da natureza após a celulose, sendo componente principal do exoesqueleto de crustáceos e insetos.

Benefícios foram observados por GOIRI et al (2009 a) que tinha por objetivo comparar três doses de quitosana, com diferentes caracterizações químicas, sobre a fermentação, digestão in vitro e produção de gás de três misturas diferentes de forragem-concentrado. Esses autores observaram resultados promissores particularmente no incremento da produção de propionato e na redução da produção de metano, demonstrando um aumento na eficiência de fermentação.

Em experimento utilizando a quitosana para modular a fermentação ruminal de ovinos alimentados com dietas na proporção volumoso:concentrado de 50:50, GOIRI et al. (2010) constataram que a utilização de quitosana modulou a fermentação ruminal, reduzindo as concentrações de amônia ruminal, a digestibilidade da FDN e MO. Além disso, a observação da produção de gás e da fermentação cecal sugeriu que a quitosana modifica o ecossistema ruminal, exercendo efeito particularmente negativo nas bactérias celulolíticas, modulando a fermentação ruminal e a atividade cecal.

Por ser um produto abundante na natureza, a quitosana pode apresentar custo competitivo frente aos ionóforos e por ser um antimicrobiano de amplo espectro, é possível que este

influencie na biohidrogenação e aumente o aporte de ácidos graxos insaturados e compostos nutracêuticos, como o CLA, no duodeno.

No entanto, ainda são escassos trabalhos na literatura *in vivo* com búfalos, o que demonstra uma carência de grande interesse a ser sanada, principalmente para nações pecuárias, como o Brasil.

2.3 Uso de fontes de ácidos graxos e a fermentação ruminal

Segundo JENKINS (1993), a fermentação ruminal pode ser alterada através suplementação de fontes de ácidos graxos, e a forma com que estes componentes atuam no ambiente ruminal está relacionada à sua estrutura. O grau de insaturação dos ácidos graxos pode ser considerado característica essencial quando se pretende utilizar esse tipo de nutriente na dieta de ruminantes. Tendo em vista que ácidos graxos insaturados possuem maior potencial de inibição da fermentação ruminal em relação a ácidos graxos saturados. Haja vista que, ácidos graxos parcialmente na forma não esterificada são tóxicos aos microrganismos ruminais e podem reduzir a degradação de fibra (PALMQUIST e JENKINS, 1980; CHALUPA et al., 1984; JENKINS, 1993).

Portanto, quando há a adição de lipídios na dieta de ruminantes é possível que haja alteração na fermentação ruminal, resultando em redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta. Dentre os exemplos de redução da digestibilidade se encontra os carboidratos não fibrosos que pode ter reduzida a digestão em 50% quando menos de 10% de AG são adicionados nas rações. Esta redução na digestão promove correlação positiva com a redução na produção de metano, hidrogênio, e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa razão acetato: propionato (JENKINS, 1993).

A minimização do efeito provocado pelos ácidos graxos pode ser obtida através da alta proporção de alimentos volumosos na dieta, prerrogativa essa que pode ser comprovada através da capacidade que a forragem tem em manter o funcionamento normal do rúmen (PALMQUIST, 1988). Deste modo, os efeitos provocados pelos ácidos graxos insaturados sobre a fermentação ruminal, pode sofrer resposta variável de acordo com tipo de volumoso suplementado, sendo considerado fator preponderante para que esta resposta ocorra (UEDA et al. 2003). Entretanto, deve ser enfatizado, além da combinação suplementação de gordura e alta quantidade de volumoso na dieta, o estágio em que se iniciou a suplementação que pode interferir nas mudanças de fermentação ruminal (FREITAS JUNIOR, 2012).

Certas fontes de ácidos graxos, especialmente as que possuem proteção natural, como sementes de oleaginosas inteiras ou parcialmente quebradas, apresentam efeito inerte sobre a população microbiana, não apresentando toxicidade da gordura sobre os processos de degradação ruminal de nutrientes, especialmente da fibra (ALLEN, 2000; PALMQUIST e MATTOS, 2011).

2.4 Caracterização da digesta

Os ruminantes possuem trato gastrointestinal (TGI) compartimentado em rúmen, retículo, omaso, abomaso, duodeno, jejuno, íleo, ceco e cólon. A digesta do TGI é constituída de partículas, microrganismos e água, nos quais estão dissolvidos compostos orgânicos e inorgânicos oriundos das dietas e da fermentação dos microrganismos, além de secreções endógenas (DIJKSTRA et al., 2005). Cada compartimento estudado apresenta particularidades no que se refere à digesta, principalmente na composição da mesma, no que se refere a componentes orgânicos (nutrientes, enzimas e água), inorgânicos e no tamanho das partículas.

Estudar a característica da digesta tem por objetivo compreender os mecanismos sucessivos da digestão nos compartimentos. Para isso, existem diversas técnicas descritas a seguir.

2.4.1 Digesta Reticular

A digesta reticular é constituída por efluentes ruminais, sendo caracterizada por pequenas partículas que podem ser prontamente transferidas para o omaso (DARDILLAT e BAUMONT, 1992) e pela fração de grandes partículas, que não são prontamente transferidas e podem ser retidas devido aos mecanismos responsáveis pela passagem seletiva.

A maior densidade das pequenas partículas em detrimento às grandes, é responsável pelo seu acúmulo na parte ventral do retículo durante o processo de contrações do TGI, e, conseqüentemente, o seu escape pelo orifício retículo omasal (KING e MOORE, 1957). Entretanto, a dieta ou os estágios da digestão podem sofrer influência do trânsito de grandes partículas (DARDILLAT e BAUMONT, 1988).

Visando analisar de forma mais acurada a dinâmica da digestão e o comportamento das diferentes frações de partículas (pequenas, médias e grandes) nos compartimentos digestivos, KRIZSAN et al. (2010), propuseram uma técnica para coleta e amostragem reticular que consiste na introdução via fístula ruminal, de um recipiente fechado até o retículo, no qual, o mesmo é aberto e após o seu enchimento, é tampado para que não haja contaminação com

digesta ruminal, durante a retirada do recipiente via fístula. HUHTANEN et al. (1997) e AHVENJÄRVI et al. (2000) utilizaram a técnica que visa a introdução de uma mangueira via fístula ruminal até o retículo, onde o conteúdo do mesmo é aspirado por um aparelho constituidor de vácuo.

A coleta reticular pode ser considerada bem promissora em detrimento as coletas omasal/duodenal, no entanto ainda existem limitações nesta técnica como: Amostragem não representativa da digesta reticular, contaminação com digesta ruminal e carência de estudos atuais (FACIOLA, 2014).

2.4.2 Digesta Omasal

A digesta omasal é caracterizada por apresentar baixa quantidade de líquidos em relação às digestas ruminais e reticulares pela capacidade que o omaso tem de absorver água, sais minerais e ácidos graxos diluídos no líquido da sua digesta, e, a localização do sitio de amostragem é realizada através da sua característica anatômica de disposição do epitélio em folhas (DIJKSTRA et al., 2005; BERCHIELLI et al., 2011)

A presença de mecanorreceptores no retículo detectam o enchimento e promovem a dilatação do mesmo, garantindo a passagem da digesta reticular para omaso, através do orifício retículo-omasal (ORO), mecanismo este que só é possível pelo surgimento de uma pressão positiva entre estes compartimentos (FRADSON et al., 2003).

A abertura do ORO, possibilita o escape de partículas localizadas na parte ventral do retículo para o omaso, estas pequenas partículas apresentam maior densidade em relação as outras regiões deste compartimento, o que explica fluxo preferencial dessas partículas para o omaso (REID, 1984; WAGHORN et al., 1986; SUTHERLAND, 1988).

O fluxo da digesta de ruminantes tem sido estudado através do uso de técnicas, como fístulas abomasais e/ou duodenais, no entanto, segundo HUHTANEN et al. (1997) as maiores dificuldades encontradas através do uso destas técnicas foram: alterações nas amostras pela presença das secreções abomasais que podem influenciar na qualidade da digesta coletada a ser analisada; animais com fístulas ruminais são menos laboriosos que animais fistulados no abomaso/duodeno e; cânulas no abomaso/duodeno no que se refere aos cuidados de manutenção.

Como forma de propiciar a amostragem de digesta omasal, PUNIA et al. (1988) desenvolveram uma técnica que visava a inserção de uma mangueira via cânula ruminal, passando

pelo orifício retículo-omasal e realizando a aspiração da digesta através de aparelho constituidor de vácuo, a cada coleta. HUHTANEN et al. (1997) desenvolveram técnica que visa a inserção de um dispositivo via fístula ruminal e posteriormente um tubo é acoplado, sendo a digesta retirada através de um aparelho constituidor de vácuo, metodologia esta que foi aprimorada por AHVENJÄRJI et al. (2000), através da utilização de um tubo em maior diâmetro e uma válvula de três vias para controlar a pressão alternadamente do vácuo no omaso.

FACIOLA (2014) conclui que coletas omasais apresentam limitações relacionadas a técnica devido à necessidade de equipamentos modernos, mão de obra treinada, tamanho e comportamento dos animais. Entretanto, ainda se mostra uma técnica promissora por ser um tipo de coleta menos invasiva em relação as coletas abomasais/duodenais.

2.4.3 Digesta Abomasal

A digesta abomasal é caracterizada pela fase líquida provinda da pouca motilidade do omaso, pela fase sólida que foi selecionada através das folhas e parte da digesta que teve escape através da movimentação desse órgão (FRANDSON et al.; 2003).

Em revisão descrita por HARMON e RICHARDS (1997), a cirurgia abomasal, pode ser muito invasiva e as dificuldades de manter as fístulas, fez com que houvesse redução na utilização de animais fistulados no abomaso, gerando um desafio de seguimento desta técnica. Outra dificuldade, foi a manutenção do material da fístula abomasal devido ao pH ácido do abomaso, dobras de tecidos e a motilidade do mesmo, que dificultava a retenção da fístula, fazendo com que ao decorrer do tempo, houvesse prolapso da mesma.

Com essas limitações cirúrgicas, o uso de poucos animais nos experimentos aumentou a propensão de erros amostrais nas coletas abomasais em função do tipo de dieta experimental ou ainda pela contaminação da digesta com as secreções abomasais (IPHARRAGUERRE et al., 2006).

Entre outros, com as dificuldades nas coletas da amostragem homogênea, essa técnica resultou em pouca utilização na avaliação do processo de digestão de ruminantes (VALADARES FILHO et al., 2011).

3. METODOLOGIA EMPREGADA

3.1 Local, instalações e animais

Foram utilizados quatro búfalos, com peso corporal de 380 ± 18 kg de desvio padrão, com aproximadamente 24 meses, machos castrados da raça Murrah, canulados no rúmen. Os animais foram alojados em baias individuais para aferição do consumo e a correta administração das dietas experimentais de forma a garantir o controle individual do consumo diário de matéria seca. Imediatamente antes do início do experimento o peso de corpo vazio dos animais foi determinado removendo todo o conteúdo ruminal. Os animais selecionados apresentaram características semelhantes entre si, para melhor distribuição nos tratamentos avaliados. As variáveis utilizadas para a seleção dos animais foram: peso corporal; e escore de condição corporal e idade.

3.2 Dietas experimentais e delineamento estatístico

O experimento foi constituído por um quadrado latino 4x4, com períodos de duração de 21 dias cada um, sendo os 14 primeiros de adaptação às dietas e os demais para avaliar as variáveis mensuradas. Os animais foram alimentados com quatro dietas durante o período experimental, formuladas para serem isonitrogenadas: 1) Controle (CL), composta por ração basal sem a inclusão de quitosana e sem inclusão de gordura; 2) Quitosana (Q), com a inclusão de 250 mg/ kg de peso corporal de quitosana sem inclusão de gordura; 3) Grão de soja (GS), com a inclusão de grão de soja e sem inclusão de quitosana; e 4) Quitosana – grão de soja (Q*GS), com a inclusão de quitosana e grão de soja. A quitosana foi devidamente pesada e adicionada pela cânula ruminal duas vezes ao dia antes do ofertado.

As respectivas dietas e água foram fornecidas “ad libitum” durante todo período experimental. O volumoso utilizado durante o experimento foi à silagem de sorgo. Diariamente foram realizadas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada tratamento, para estimativa do consumo. As rações foram fornecidas de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, de forma que se mantivesse um percentual de sobras das dietas, entre 5 e 10% do fornecido para que não houvesse limitação de consumo. Após o preparo da mistura no cocho, as amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20° C. Posteriormente foram realizadas análises químico-bromatológicas nas amostras armazenadas.

3.3 Análise de alimentos

A composição química dos ingredientes, a proporção dos ingredientes na dieta total e concentrado estão descritas nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Composição química obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Item	Silagem de sorgo	Farelo de soja	Milho moído	Grão de soja
Matéria Seca ¹	31,17	90,01	91,35	91,65
Matéria Orgânica ²	94,56	93,60	98,36	94,92
Matéria Mineral ³	5,44	6,40	1,64	5,08
Proteína Bruta ⁴	6,69	48,70	9,06	38,46
Extrato Etéreo ⁵	2,28	1,79	4,02	19,05
Fibra em detergente neutro ⁶	61,41	12,90	13,92	19,40
Carboidratos não fibrosos ⁷	24,18	30,21	71,36	18,01

¹Matéria seca (%MN); ²Matéria orgânica (%MS); ³Matéria mineral (%MS); ⁴Proteína bruta (%MS); ⁵Extrato etéreo (%MS); ⁶Fibra em detergente neutro (%MS); ⁷Carboidratos não fibrosos (%MS); ⁸Fibra em detergente neutro indigestível (%MS). Valores obtidos por meio da Tabela brasileira de composição de alimentos para bovinos (CQBAL 3.0).

Tabela 2. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e química das dietas experimentais.

Ingredientes	Dietas ¹			
	CO	Q	GS	Q + GS
% da MS				
Silagem de sorgo	75,00	75,00	75,00	75,00
Milho moído	13,48	13,48	9,80	9,80
Farelo de soja	6,02	6,02	-	-
Grão de soja	-	-	10,00	10,00
Quitosana	-	0,01	-	0,01
Ureia	0,90	0,90	0,60	0,60
Sal comum	0,60	0,60	0,60	0,60
Mineral ¹	4,00	4,00	4,00	4,00
Componentes nutricionais				
Matéria seca	46,62	46,62	46,69	46,69
Matéria orgânica	90,71	90,71	90,65	90,65
Proteína Bruta	12,26	12,26	12,00	12,00
Extrato Etéreo	2,47	2,47	4,20	4,20
Fibra em detergente neutro	51,05	51,05	51,74	51,74
Carboidratos não fibrosos	31,13	31,13	28,23	28,23
Nutrientes digestíveis totais	64,12	64,12	64,90	64,90

¹Níveis de garantia (com base na matéria seca): Ca, 135 g/kg; P, 40 g/kg; Na, 183 g/kg; S, 12 mg/kg; Mg, 5000 mg/kg; Co, 50 mg/kg; Cu, 1000 mg/kg; I, 50 mg/kg; Mn, 520 mg/kg; Se, 12 mg/kg; Zn, 3150 mg/kg; Fe, 1120 mg/kg e F, 400 mg/kg.

Tabela 3. Porcentagem de inclusão de ingredientes e química no concentrado.

Item	Dietas ¹			
	CO	Q	GS	Q+GS
% da MS				
Milho moído	53,92	39,2	39,2	39,2
Farelo de soja	24,08	24,08	-	-
Grão de soja	-	-	40,0	40,0
Quitosana	-	0,01	-	0,01
Ureia	3,60	3,60	2,40	2,40
Sal comum	2,40	2,40	2,40	2,40
Mineral ¹	16,00	16,00	16,00	16,00
Componentes nutricionais				
Matéria seca	92,93	92,93	93,27	93,27
Matéria orgânica	79,17	79,17	78,92	78,92
Proteína Bruta	26,73	26,73	25,68	25,68
Extrato Etéreo	2,60	2,60	9,20	9,20
Fibra em detergente neutro	10,61	10,61	13,22	13,22
Carboidratos não fibrosos	45,75	45,75	35,18	35,18
Nutrientes digestíveis totais	65,62	65,62	69,81	69,81

¹Níveis de garantia por quilo do produto: Ca, 135 g/kg; P, 40 g/kg; Na, 183 g/kg; S, 12 mg/kg; Mg, 5000mg/kg; Co, 50 mg/kg; Cu, 1000 mg/kg; I, 50 mg/kg; Mn, 520 mg/kg; Se, 12 mg/kg; Zn, 3150 mg/kg; Fe, 1120 mg/kg e F, 400 mg/kg.

Após o período de adaptação, no final de cada período experimental, as amostras dos ingredientes foram coletadas formando um *pool* e congeladas para posteriores análises. Foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica, compostos nitrogenados totais, cinzas e extrato etéreo, de acordo com os métodos (AOAC, 1990). Os Teores e proteína bruta foram obtidos multiplicando o conteúdo de nitrogênio por 6,25 (AOAC, 1990). A fibra em detergente neutro (FDN) foi analisada de acordo com metodologia descrita por Van Soest e Mason (1991), usando α -amilase em adição de sulfite de sódio (AOAC, 1990).

3.4 Coletas de amostras

As amostras de líquido da digesta reticular foram obtidas pela combinação de 5 alíquotas coletadas por sonda utilizando a técnica descrita por HUHTANEN et al. (1997) e AHVENJÄRVI et al. (2000). Em sete tempos: 0 (antes da alimentação) e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a alimentação. O líquido da digesta reticular foi filtrado e utilizado para determinação dos valores de pH, concentração de nitrogênio amoniacal.

Imediatamente após a coleta as amostras de líquido da digesta reticular foi realizada a leitura do pH, utilizando-se potenciômetro. Após a leitura, as amostras foram centrifugadas a

3000 rpm, por 15 minutos. Em seguida, 2 ml do sobrenadante foi pipetado e adicionados a 1 ml de solução de H₂SO₄ 1N em tubos de vidro de 10 ml, para serem armazenadas em freezer à -20°C, até a realização das análises do nitrogênio amoniacal.

Após descongelamento foi adicionado um 1 ml de solução de Tungstato de sódio 10% e as amostras foram imediatamente centrifugadas (2000 rpm, 15 minutos). Posteriormente, 100 microlitros do sobrenadante foi pipetado e adicionado em tubo limpo e acrescentado 2 ml do reagente tampão referente ao kit comercial (K047, Belo Horizonte, BIOCLIN, Brasil). Os tubos foram arrolhados, depois agitados e colocados em banho Maria (37° C por 5 minutos). Em seguida a solução oxidante foi adicionada até as amostras apresentarem alteração de cor. Posteriormente após atingirem a temperatura ambiente as amostras foram levadas ao espectrofotômetro (ESPECTROFOTOMETRO MONO FEIXE SP-22, Curitiba, BIOSPECTRO, Brasil®) e a leitura foi realizada em absorvância (600nm) e transmitância (100), e tiveram sua absorvância anotada. Os dados obtidos na leitura foram calculados através de uma regressão de curva padrão utilizando um programa de regressão linear.

3.5 Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, sendo quatro tratamentos, quatro animais e quatro períodos experimentais. Foi realizada a verificação da homogeneidade de variância através do teste de Hartley. Tendo-se homogeneidade de variância, prosseguiu-se com a análise de variância, efetuada através do procedimento PROC MIXED do SAS empregado a metodologia de máxima verossimilhança restrita. Para efeito dos tratamentos foi utilizado um modelo fatorial 2 x 2, adotando-se nível de significância de 5%. A variáveis pH e concentrações de nitrogênio amoniacal foram analisadas como medidas repetidas no tempo, conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + P_k + W_{ij} + H_k + T_j \times H_k + e_{ijk},$$

Em que Y_{ijk} = variável dependente, sendo observação do animal j, no período k, submetida ao tratamento i; μ = efeito geral de média; T_i = efeito de tratamento i, sendo i = 1, 2, 3, 4; A_j ; (i = 1 a 4), efeito do animal j, sendo j = 1, 2, 3 e 4; P_k = efeito fixo de período (j = 1 a 4), sendo k = 1, 2,3 e 4; W_{ij} = resíduo associado a parcela; H_k = efeito da hora da coleta, sendo k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7; $T_j \times H_k$ = interação entre tratamento e hora de coleta; e_{ijk} = e o erro residual.

A relação aos dados de medidas repetidas no tempo, foi necessária a seleção da estrutura de covariância mais adequada a variação das medidas dentro do tratamento para cada característica. Essa escolha foi baseada nos valores do Critério de Akaike corrigido (AICC), e o critério Bayseano de Schwars (BIC), de forma que quanto menor os seus valores, melhor a matriz considerada. As características e respectivas estruturas de covariância escolhidas para modelagem das medidas repetidas que melhor se ajustaram ao conjunto de dados foram: auto regressiva de primeira ordem (AR1) para as variáveis avaliadas. As medias foram obtidas pelo comando LSMEANS.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Valores de pH

Não houve diferença entre os valores de pH da digesta reticular ($P>0,01$) com a inclusão da quitosana e grão de soja, sendo que o valor médio obtido para os tratamentos foi de 7,01 (Tabela 4). De forma semelhante, não foi observada efeito significativo na interação entre o tratamento e os tempos avaliados ($P>0,01$) que pode ser atribuída a baixa quantidade de concentrado na dieta, (Tabela 2), o que promoveu maior atividade fisiológica de tamponamento reticular. Os parâmetros estudados foram influenciados pelo tempo após alimentação ($P<0,01$). Os valores de pH, foram caracterizados pela redução no mesmo em todas as dietas experimentais após duas horas decorrida a alimentação (tempos 2 e 8) e posterior aumento nos demais tempos.

Tabela 4. Efeito das dietas sobre os valores de pH na digesta reticular

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de P ³					
	CO	Q	GS	Q+GS		Trat	Tempo	Inter*	Q	GS	Q*GS
pH	7,04	7,08	7,00	6,93	0,01	0,19	<0,01	0,84	0,91	0,42	0,65
N-NH ₃ , mg/dl	16,95	12,96	12,77	17,97	1,39	0,14	<0,01	0,89	0,83	0,78	0,14

¹ CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja. ²erro padrão da média; ³Valor de probabilidade obtidos para os efeitos de tratamento (Trat; efeito de quitosana ou grão de soja) efeito de horas após alimentação (tempo) e; interação tratamento e horas após alimentação (* Inter).

Esse padrão de resposta observado pelos valores de pH e nas concentrações de N-NH₃, ao longo dos 7 tempos avaliados, pode ser explicado fisiologicamente pelo aporte de nutrientes fornecido durante a alimentação e a consequente fermentação dos mesmos. Após a

alimentação ocorre aumento nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e, consequentemente, redução nos valores de pH que normalmente ocorre de 2 a 4 horas após a alimentação e posteriores períodos de ruminação que resultaram aumento da mastigação, salivação, tampouco e aumento do pH reticular (RSKOV, 1986; OWENS e GOETSCH, 1988; VAN SOEST, 1994).

Quando são analisados os efeitos das dietas sobre os valores de pH dentro de cada tempo avaliado, foram observados maiores valores de pH reticular para os animais alimentados com a dieta contendo quitosana quando comparada aos animais alimentados com a dieta contendo grão de soja (Q+GS; $**P<0,05$). De forma semelhante houve diferença entre os tempos avaliados entre as dietas CO e Q+GS ($*P<0,05$). Os valores de pH diferiram duas horas após alimentação entre as dietas Q e Q+GS ($***P<0,05$).

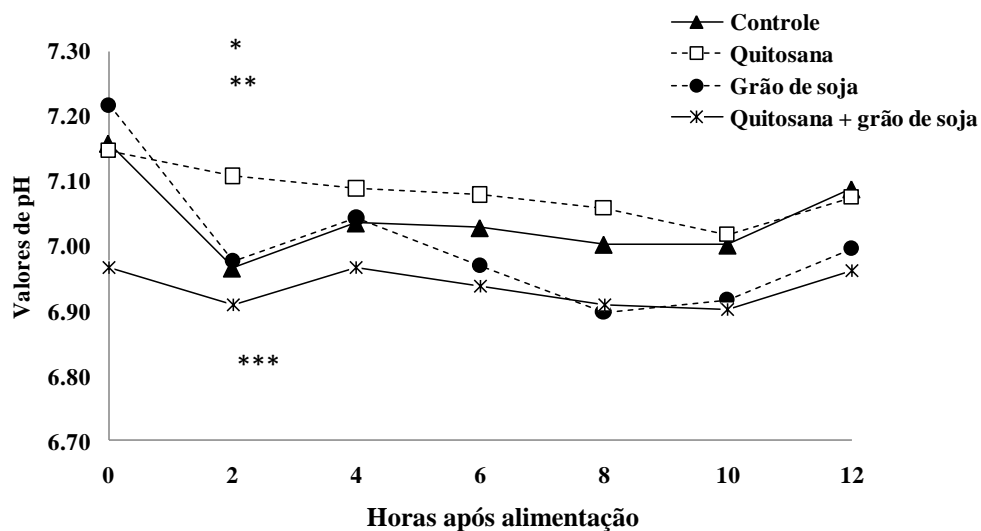


Figura 1. Valores de pH observados na digesta do retículo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja. Os valores de pH diferiram antes da alimentação entre as dietas CO e Q+GS ($*P<0,05$) e para as dietas GS versus a dieta Q+GS ($**P<0,05$). Os valores de pH diferiram duas horas após alimentação entre as dietas Q e Q+GS ($***P<0,05$).

Fonte: Arquivo pessoal.

Foram observados em todas as dietas valores de pH superiores a 6,9 (Tabela 5). Esses valores de pH possibilitaram condições de crescimento aos microrganismos celulolíticos e essa característica está diretamente ligada a digestibilidade da FDN, característica essa que tem relevante importância em dietas como a deste estudo, em que o volumoso representou 75% da dieta. Valores de pH inferiores a 6,2 resultam em inibição na taxa de digestão e au-

mento no tempo de colonização para a degradação dos componentes da parede celular, em consequência da deficiência de compostos que auxiliam na adesão, como o bicarbonato ou devido ao aumento dos inibidores de adesão, como o amido solúvel (OWENS e GOETSH,1993; VAN SOEST, 1994).

Como descrito na Figura 1, houve diferença ($P<0,05$) nos valores de pH, descritas na Tabela 5, antes da alimentação entre as dietas CO e Q+GS e para as dietas GS versus Q+GS. Possivelmente a interação da quitosana com o grão de soja provocou redução na excreção de metano, que se constitui uma importante rota para a excreção de íons de hidrogênio, estes acumularam no meio e provocaram a redução dos valores de pH antes da alimentação. Pois de acordo com KOZLOSKI (2009), o acúmulo de H_2 no meio desvia o metabolismo para a síntese de produtos mais reduzidos (propionato e butirato).

Segundo NAGARAJA et al. (1997), pode ocorrer aumento na produção de propionato em decorrência da seleção de bactérias produtoras deste substrato e redução na metanogênese atribuída a redução de seus percussores (H_2 e formato). GOIRI et al (2009. a, b, c) avaliaram ovinos e observaram resultados promissores proporcionados pela quitosana principalmente no aumento da concentração de propionato e redução na produção de metano em relação ao tratamento controle. Quanto aos valores de pH duas horas após alimentação entre as dietas Q e Q+GS ($***P<0,05$), possivelmente houve efeito sinérgico entre o grão de soja e quitosana, explicado pelo mesmo motivo anteriormente citado.

Tabela 5. Efeito das dietas sobre os valores de pH em cada horário de coleta no retículo

Tempos de coleta	Dietas ¹				Média	Máximo	Mínimo
	CO	Q	GS	Q+GS			
Antes da alimentação	7,16	7,15	7,22	6,97	7,04	7,22	6,97
2 horas	6,97	7,11	6,98	6,91	7,08	7,11	6,91
4 horas	7,04	7,09	7,04	6,97	7,00	7,09	6,97
6 horas	7,03	7,08	6,97	6,94	6,94	7,08	6,94
8 horas	7,00	7,06	6,90	6,91	7,01	7,06	6,90
10 horas	7,00	7,02	6,92	6,90	7,04	7,02	6,90
12 horas	7,09	7,08	7,00	6,96	7,08	7,09	6,96

¹ CO = controle; Q= quitosana; GS = grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja.

Tabela 6. Efeito das dietas sobre os valores de pH no retículo considerando as medidas de dispersão.

Item	Dietas ¹				Valor de P		
	CO	Q	GS	Q+GS	Q	GS	QxGS
Média	7,04	7,08	7,00	6,93	0,91	0,42	0,65
Máximo	7,18	7,23	7,23	7,04	0,68	0,70	0,48
Mínimo	6,92	6,97	6,84	6,82	0,88	0,19	0,72
Desvio padrão	0,08	0,09	0,13	0,08	0,47	0,61	0,43

¹ CO = controle; Q = quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja.

4.2 Concentrações de nitrogênio amoniacal

As concentrações de nitrogênio amoniacal foram alteradas pelo tempo após alimentação (P<0,01) Tabela 7. Comportamento este que pode ser observado na Figura 2, que demonstra a variação das concentrações durante os sete tempos de coleta, sendo caracterizada a ocorrência de picos de concentração de nitrogênio amoniacal duas horas após o ofertado (tempos 2 e 8) e posterior redução nos demais tempos.

Tabela 7. Efeito das dietas sobre as concentrações de N-NH₃ no retículo

Tempos de coleta	Dietas ¹				Média	Máximo	Mínimo
	CO	Q	GS	Q+GS			
	mg/dL						
Antes da alimentação	9,80	8,29	9,54	16,48	11,03	16,48	8,29
2 horas	20,28	13,30	17,31	23,58	18,62	23,58	13,30
4 horas	17,40	9,41	14,26	16,89	14,49	17,40	9,41
6 horas	14,50	11,16	12,16	18,12	13,98	18,12	11,16
8 horas	20,02	18,47	16,05	26,06	20,15	26,06	16,05
10 horas	15,63	14,72	14,44	18,06	15,71	18,06	14,44
12 horas	11,88	9,04	9,65	15,46	11,51	15,46	9,04

¹ CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soj

Esse padrão de resposta relacionado às concentrações de N-NH₃, pode ser explicado, fisiologicamente, pelo aporte de proteína degradável no rúmen (PDR) fornecida durante a alimentação. Após alimentação ocorre o processo de fermentação pela microbiota proteolítica, que promove aumento na concentração de nitrogênio amoniacal e consequente ocorrência de picos de amônia no retículo, já que a digesta reticular é composta por efluentes provindos do rúmen (DARDILLAT e BAUMONT, 1992).

A redução nas concentrações após 4 horas após alimentação pode ser explicada pela utilização da amônia pela microbiota na produção de proteína microbiana e pela reciclagem de

nitrogênio na forma de ureia. KOZLOSKI (2009) preconiza que a amônia utilizada pela célula bacteriana pode vir diretamente através de duas rotas (glutamina e glutamato) a depender da concentração da mesma no rúmen e indiretamente através da ureia que pode ser adicionado na dieta, mas que também entra no rúmen pela saliva ou diretamente pela via transepitelial da corrente sanguínea, ambos frutos da reciclagem de nitrogênio.

Como as dietas foram compostas por 75% de volumoso e ingredientes com PDR significativo como o farelo de soja (65,72 % da PB) e o grão de soja (74% da PB) foi observado aumento das concentrações de N-NH₃ duas horas após alimentação. SANTOS e MENDONÇA, (2011) explicam que forragens ensiladas podem apresentar a degradabilidade da PB aumentada em função da proteólise no silo pela ação dos microrganismos. Deste modo, grande parte da proteína verdadeira do alimento é convertida em NNP. E esta fração é degradada até duas horas após alimentação e pode ser considerada 100% degradável no rúmen.

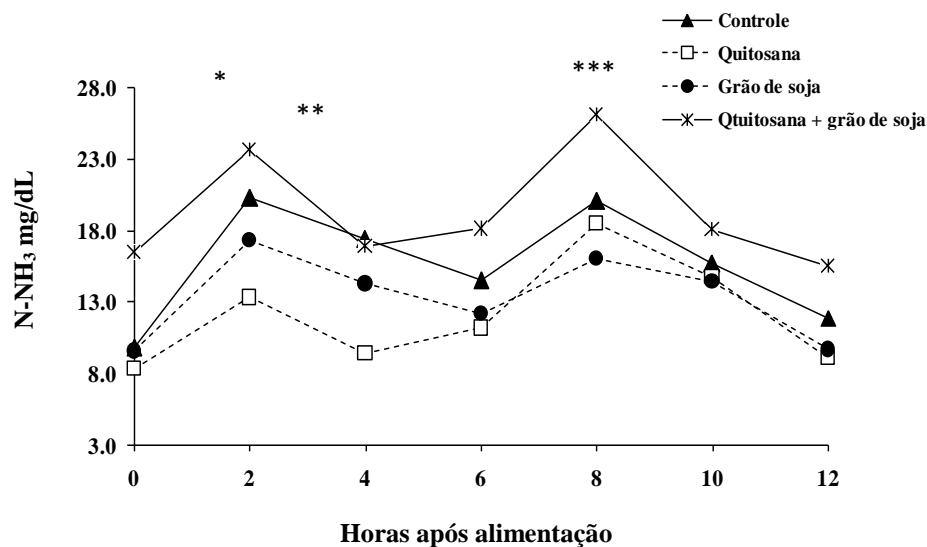


Figura 2. Concentrações de nitrogênio amoniacal no retículo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja. As concentrações de N-NH₃ diferiram antes e duas horas após a alimentação entre as dietas Q e Q+GS (*P<0,05 e **P<0,05) e para as dietas GS versus a dieta Q+GS (***P<0,05) oito horas após a alimentação.

Fonte: Arquivo pessoal.

Não houve diferença para as concentrações de nitrogênio amoniacal reticular ($P>0,01$) com a inclusão da quitosana e do grão de soja, sendo o valor médio obtido para as dietas experimentais foram de 15 e 16 mg/dL. Igualmente não foi demonstrada diferença na interação entre tratamento x tempo ($P>0,01$) (Tabela 4).

Tabela 8. Efeito das dietas sobre as concentrações de N-NH₃ no retículo

Item	Dietas ¹				Valor de P		
	CO	Q	GS	Q+GS	Q	GS	QxGS
Média	16,95	12,96	12,77	17,97	0,83	0,78	0,14
Máximo	28,58	18,56	19,56	22,86	0,37	0,46	0,08
Mínimo	9,29	8,57	6,14	11,74	0,34	0,99	0,22
Desvio padrão	6,75	3,77	4,41	3,96	0,10	0,29	0,22

¹ CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja.

Possivelmente o efeito antimicrobiano provocado pelos ácidos graxos podem ter sido minimizados pela alta proporção de alimentos volumosos na dieta (75:25), prerrogativa essa que pode ser comprovada através da capacidade que a forragem tem em manter o funcionamento normal do rúmen (PALMQUIST, 1988), além do fato da semente de oleaginosa, como o grão de soja, apresentar efeito inerte sobre a população microbiana ruminal pelo fato dos ácidos graxos estarem protegidos na matriz proteica da semente e apresentarem padrão de liberação lenta (ALLEN, 2000; PALMQUIST e MATTOS, 2006). Para avaliação dos efeitos do uso de quitosana em dietas de ruminantes são necessárias mais pesquisas para determinar seu potencial de ação em dietas que não tenham proporções volumoso concentrado de 50:50 como no estudo conduzido por GOIRI et al, (2010).

A Figura 3 demonstra o comportamento das concentrações médias de nitrogênio amoniacal e os valores de pH no reticulo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja. Tendo padrão apresentado em todos os tratamentos períodos de redução dos valores de pH e elevação das concentrações de nitrogênio amoniacal duas horas após os períodos de alimentação e posteriores elevações do pH pelo consumo dos ácidos graxos de cadeia curta e redução na concentração de N-NH₃ pela utilização pela microbiota na produção de proteína microbiana e em decorrência da percolação da amônia pelas paredes ruminais e sua transformação em ureia que pode ter sido excretada ou reciclada através da saliva para o ambiente ruminal.

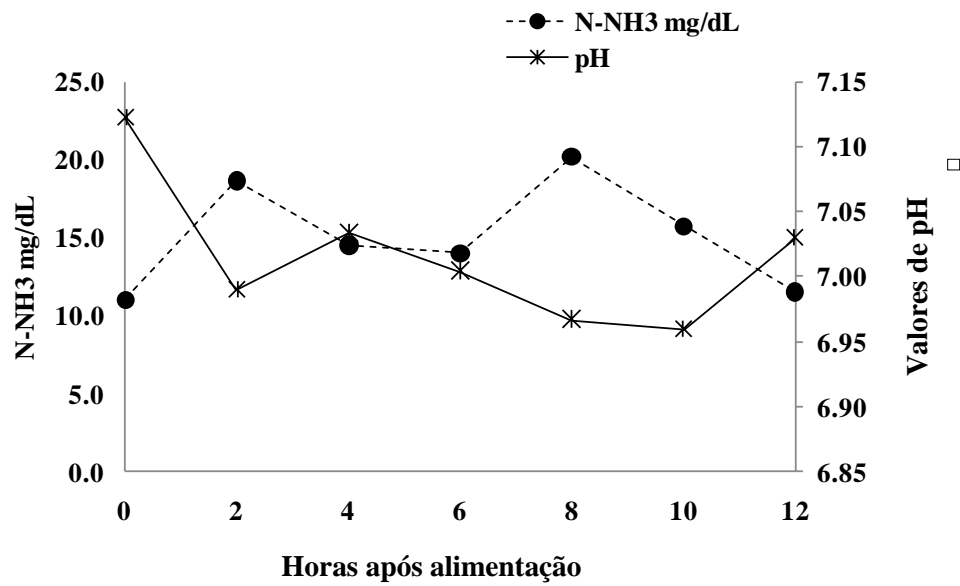


Figura 3. Comportamento das concentrações médias de nitrogênio amoniacal e pH no retículo de búfalos alimentados com as dietas CO = controle; Q= quitosana; GS= grão de soja; Q+GS = quitosana mais grão de soja. Fonte: Arquivo pessoal.

5. CONCLUSÕES

A utilização de quitosana e grão de soja não alterou os valores de pH e as concentrações de nitrogênio amoniacal das digestas reticulares.

6. REFERÊNCIAS

- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; VARVIKKO, T. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K. J.; HUHTANEN, P. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. **British Journal of Nutrition**, v. 90, p. 41-52, 2003.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- AMAZONAS, L. **Conjuntura soja**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Soja/18RO/App_Conab_conjuntura.pdf. Acesso em: 19 de setembro de 2014.
- A.O.A.C. **Association of analytical chemists**. Official methods of analysis. 12^o ed, Washington, D.C. 1994, p.1990.
- BARLETA, R. V. **Grão de soja cru e integral na dieta de vacas leiteiras**. 2010. 96 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia– Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP, 2010.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. 2^a edição, Jaboticabal: Funep, 2011, 616 p.
- BERCHIELLI, T. T.; BERTIPAGLIA, L.M.A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: PIRES, A.V. **Bovinocultura de corte**, Piracicaba: FEALQ, 2010, cap. 16, p. 295-323.
- CAJA, G. et al. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en ruminantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos (I). **Production Animal**, 193, 2, 2003.
- CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1439-1444, 1984.
- CÔNSOLO, N. R. B. **Utilização de grão de soja cru e integral na dieta de bovinos de corte confinados**. 2011. 121 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia– Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP, 2011.
- CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007, 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

DARDILLAT, C.; BAUMONT, R. Sur la retention des particules de grande taille dans le reticulum chez la vache. **Reproduction of Nutrition Development**, v. 28, p. 137-138, 1988.

DARDILLAT, C.; BAUMONT, R. Physical characteristic of reticular content in the bovine and consequences on reticular outflow. **Reproduction of Nutrition Development**, v. 32, p. 21-36, 1992.

DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2. ed., Washington, DC, USA, Library of Congress, 2005. ISBN 0-85199-814-3.

FACIOLA, A. Omasal and reticular sampling techniques for assessing ruminal digestion, nutrient, and microbial protein flow. **In: 4° International Symposium on Advances on Ruminant Nutrition Research Techniques**. Pirassunung, SP, Brazil, 2014.

FRADSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia do sistema digestório**. 6° ed., Guanabara Koogan, 2003, 454 p.

FREITAS JUNIOR, J. E. **Biohidrogenação e fluxo intestinal de ácidos graxos em vacas leiteiras**. 2012. 136 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal – SP, 2012.

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

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

GOIRI, I.; ORENGUI, L.M.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Dose respons effects of chitosan on “in vitro” rumen fermentation mixtures differing in forage to concentrate rations. **Animal Feed Science and Tecnology**, v.151, n.2, p. 215-227, 2009c.

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

HARMON, D. L.; RICHARDS, C. J. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2248-2255, 1997.

HARVATINE, K.J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Milk Yield and Energy Balance of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1081–1091, 2006b.

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

IPHARRAGUERRE, I. R.; REYNAL, S. M.; LIÑEIRO, M.; BRODERICK, G. A.; CLARK, J. H. A comparison of sampling sites, digesta and microbial markers, and microbial references for assessing the postruminal supply of nutrients in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1904-1919, 2006.

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

KING, K. W.; MOORE, W. E. C. Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. **Journal of Dairy Science**, v. 40, p. 528, 1957.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2ª edição. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2009, 216 p. ISBN 9788573910902.

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

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. 3. Ed. Barcelona: Saevier, 2005.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of rumenal fermentation. in: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.) **The Rumen Microbial Ecosystem**. Blackie Academic & professional, London. 1997. P.523-632.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC 2001, **Nutrient requirements of dairy cattle**, 7. ed., Washington, D.C., National Academic Press, 381p.

OWENS, F.N.; GOETSH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**. Inglewood Cliffs, New jersey, 1988, p. 269.

OWENS, F.N.; GOETSH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**, p. 145-171, 1993.

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: Orsov, E. R. **Feed Science**, Ed. Elsevier Science, Amsterdam – Netherlands, 1988, p. 293-311.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, 2ª edição, Jaboticabal: Funep, 2011, cap. 10, p. 299-321.

PIRES, A.V. **Bovinocultura de corte**, Piracicaba: FEALQ, 2010, v. I, 760 p.

PUNIA, B. S.; LEIBHOLZ, J.; FAICHNEY, G. J. Effects of level of intake and urea supplementation of alkali-treated straw on protozoal and bacterial nitrogen synthesis in the rumen and partition of digestion in cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 39, p. 1181, 1988.

REID, C. S. W. 1984. The progress of solid feed residues through the rumino-reticulum: the ins and outs of particles. In: **Ruminant Physiology Concepts and Consequences**, 1984, Wes-tern Australia, Proceedings Symp Western Australia, p. 79-84, 1984.

RENNÓ, F. P.; FREITAS JÚNIO, J. E.; GANDRA, J. F. R.; BARLETTA, R. V.; NAVES, A. B.; GAMERO, A. H.; VERDURICO, L. C. Grão de soja na alimentação de vacas leiteiras. In: SANTOS, M. V.; REÑÓ, F. P.; SILVA, L. F. P.; ALBURQUERQUE, R. **Novos Desafios da Pesquisa em Nutrição e produção Animal**. Pirassununga: Ed. 5D, 2009. v.1, p. 191-214.

ØRSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p.1624-1633, 1986.

SANTOS, F.A.P.; MENDONÇA, A. P. Metabolismo de Proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, 2ª edição, Jaboticabal: Funep, 2011, cap. 10, p. 299-321.

SAS Institute. 2004. SAS/STAT User's Guide. Version 8 ed. **SAS Institute Inc**, Cary, NC.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. ed., Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002, 235p. ISBN 85-7269-105-7.

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

SUTHERLAND, T. M. Particle separation in the forestomach of sheep. In: DOBSON, A.; DOBSON, M. J. **Aspects of digestive physiology in ruminants**. 1 ed., Ithaca, Ithaca Comstock Publishing Associates, 1988, p.43-47.

UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999-4007, 2003.

VALADARES FILHO, S. C.; ROTTA, P. P.; COSTA E SILVA, L. F. Técnicas de coleta duodenal, abomasal, omasal e reticular na avaliação do fluxo ruminal. In: RENNO, F. P. e PRADA E SILVA, L. F. **Simpósio Internacional Avanços em técnicas de pesquisa em nutrição de ruminantes**, 3. Pirassununga, São Paulo, p. 14-45, 2011.

VALADARES FILHO, S.C., MACHADO, P.A.S., CHIZZOTTI, M.L. et al. **CQBAL 3.0**. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. Disponível em www.ufv.br/cqbal. Acesso em: 19 de setembro de 2014

VAN SOEST, P. J.; MASON, V.C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds, **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VAN SOEST, P. J.; **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2.Ed. London. Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.

VENTURELLI, B. C. **Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras no terço final de lactação**. 2011. 103p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP, 2011.

WAGHORN, G. C.; REID, C. S. W.; ULYATT, M. J. et al. Feed comminution, particle composition and distribution between the four compartments of the stomach in sheep fed chopped lucerne hay at two feeding frequencies and intake level. **Journal Agricultural Science**, v. 106, p. 287-296, 1986.

WENCELOVÁ, M.; VÁRADYOVÁ, Z.; MIHALIKOVÁ, K.; KIŠIDAYOVÁ, S.; JALČ, D. Evaluating the effects of chitosan, plant oils, and different diets on rumen metabolism and protozoan population in sheep. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. v. 38, p. 26-33, 2014.

ZEOULA, L. M.; BELEZE, J. R. F.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; PRADO, I. N.; PAULA, M. C. Digestibilidade parcial e total de rações com inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.3, p.563-571, 2008.