

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DESEMPENHO, PARAMETROS DIGESTIVOS E CINÉTICA RUMINAL
DE VACAS JERSEY SUPLEMENTADAS COM QUITOSANA**

VINICIUS MONTEIRO DE CARVALHO

SALVADOR - BAHIA
JUNHO - 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DESEMPENHO, PARAMETROS DIGESTIVOS E CINÉTICA RUMINAL
DE VACAS JERSEY SUPLEMENTADAS COM QUITOSANA**

VINICIUS MONTEIRO DE CARVALHO

Zootecnista

SALVADOR - BAHIA
JUNHO - 2023

VINICIUS MONTEIRO DE CARVALHO

**DESEMPENHO, PARAMETROS DIGESTIVOS E CINÉTICA
RUMINAL DE VACAS JERSEY SUPLEMENTADAS COM
QUITOSANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de Animal

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro

**SALVADOR – BAHIA
JUNHO – 2023**

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

Carvalho, Vinicius Monteiro de.

Desempenho, parâmetros digestivos e cinética ruminal de vacas Jersey suplementadas com quitosana / Vinicius Monteiro de Carvalho. - 2023.

61 f.: il.

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

Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2023.

1. Zootecnia. 2. Nutrição animal. 3. Ruminantes - Alimentação e ração. 4. Ruminantes - Metabolismo. 5. Quitosana. I. Freitas Junior, José Esler de. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.2


CDU - 636.2

Parecer de Defesa do Trabalho de Dissertação


VINICIUS MONTEIRO DE CARVALHO

DESEMPENHO, PARAMETROS DIGESTIVOS E CINÉTICA RUMINAL
DE VACAS JERSEY SUPLEMENTADAS COM QUITOSANA


Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 16 de junho de 2023.

Documento assinado digitalmente
 JOSE ESLER DE FREITAS JUNIOR
Data: 19/07/2023 09:56:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior
UFBA

Documento assinado digitalmente
 MARIA LEONOR GARCIA MELO LOPES DE A
Data: 19/07/2023 11:24:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a Maria Leonor G. M. L de Araújo
Pesquisadora visitante

Documento assinado digitalmente
 DOUGLAS DOS SANTOS PINA
Data: 25/07/2023 12:04:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Douglas dos Santos Pina
UFBA

SALVADOR – BAHIA
JUNHO – 2023

BIOGRAFIA DO AUTOR

VINICIUS MONTEIRO DE CARVALHO, filho de Antônio Cesar Rocha de Carvalho e Magali Pinto Monteiro de Carvalho, nasceu em Salvador, estado da Bahia, no dia 09 de agosto de 1992. Em 2011, iniciou o curso de Zootecnia na Escola De Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia - UFBA, finalizando-o no ano de 2020. Em 2020 iniciou e finalizou a Especialização em Nutrição Animal pela Unyleya. Em 2021, ingressou no Programa Pós-Graduação em Zootecnia na mesma Instituição, sob orientação do professor Dr. José Esler de Freitas Júnior. Em junho de 2023, submeteu-se à banca examinadora para defesa da dissertação e conclusão do Mestrado.

“Há três caminhos para o fracasso: não ensinar o que se sabe, não praticar o que se ensina, não perguntar o que se ignora.” (São Beda)

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas.

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus que me deu condições para que eu pudesse realizar este trabalho. À minha família, que sempre esteve ao meu lado me apoiando em todas as minhas decisões. A meus pais Magali Carvalho e Cesar Carvalho que sempre foram a minha sustentação, ao meu irmão Vitor Carvalho pelo companheirismo, à minha namorada Olga Cedro que sempre se fez presente em todos os momentos com seu apoio e ao meu grupo de amigos que sempre estivemos no limite.

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

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

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFBA pelo ensino, por todo conhecimento transmitido. A Universidade Federal da Bahia pela disponibilidade dos setores de Fazenda experimental de entre rios e laboratórios do EMEVZ.

Por último, mas não menos importante, a todos meus amigos que ajudaram no decorrer desse mestrado, Victor Hugo, Quésia Costa, Camilla Rezende, Maria Leonor, Sarah Nogueira, Layse Gordiano, Filipe Queiroz, Lucas Bulcão, Renato Passos, Isaac Peixoto, Maria Clara e aos meus familiares (tios/as, primos/as, avós), cada um de vocês foi importante nessa caminhada.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos meu muitíssimo obrigado!

LISTA DE FIGURAS
REVISÃO DE LITERATURA

	Página
Figura 1. Vias do metabolismo ruminal de 18:3n-3 (baseado em Ferlay et al., 2017).....	21
_____2. Estrutura química da quitina (A) e da quitosana (B)	22
_____3. Desenho esquemático do ensaio de infusão de bolus (300 g de óleo de soja) realizado para avaliar a taxa de biohidrogenação do ácido linoleico pelo modelo de perturbação com o objetivo manter condições ruminais próximas do estado estacionário (Baldin et al., 2018).....	33

LISTA DE TABELAS
REVISÃO DE LITERATURA

	Página
Tabela 1. Principais achados científicos do efeito da inclusão de diferentes níveis de quitosana e associação a fontes de ácidos graxos em dietas para bovinos.....	25
_____2. Composição químico-bromatológica obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca	30
_____3. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química dos concentrados utilizados nas dietas experimentais	31
_____4. Porcentagem de inclusão dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	32
_____5. Consumo de matéria seca e nutrientes em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	42
_____6. Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	43
_____7. Produção e composição do leite em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	45
_____8. Concentrações de ácidos graxos do leite em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos	47
_____9. Caracterização ruminal e fluxo omasal em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	48
_____10. Dinâmica ruminal em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	49
_____11. Balanço de energia em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AG -	Ácidos Graxos
AGCC -	Ácido Graxo de Cadeia Curta
AGI	Ácido Graxo Insaturado
AGPI	Ácido Graxo Poli-insaturados
AGS	Ácido graxo saturado
AGV	Ácidos graxos volateis
AOAC -	Association of Official Analytical Chemists
CA-	Caroço de algodão
CD -	Coefficiente de Digestibilidade
CED -	Consumo energia digestível
CEL -	Consumo energia líquida
CMS -	Consumo de matéria seca
CHA ₄ -	Metano
CLA -	Ácido Linoleico Conjugado
CNF -	Carboidratos Não-Fibrosos
CNFd -	Carboidratos Não-Fibrosos Digestíveis
CON -	Controle
CT -	Carboidratos Totais
EL -	Energia Líquida
EE -	Extrato Etéreo
EEd -	Extrato Etéreo Digestível
ELL -	Energia Líquida de Lactação
EST-	Extrato seco total
ESD-	Extrato seco desengordurado
ECC-	Escore de condição corporal
FDA -	Fibra em Detergente Ácido
FDN -	Fibra em Detergente Neutro
FDNd -	Fibra em Detergente Neutro Digestível
FDNi -	Fibra em Detergente Neutro Indigestível
FDNpd -	Fibra em Detergente Neutro Potencialmente Disponível
GS-	Grão de soja
H ⁺	Hidrogênio
Kp-	Taxa de passagem
LCE-	Leite corrigido para energia
LIN-	Linhaça
MM -	Matéria Mineral
MO -	Matéria Orgânica
MON-	Monesina
MS -	Matéria Seca
N -	Nitrogênio
NDT -	Nutrientes Digestíveis Totais
NEL-	Energia líquida de lactação
NIDA -	Nitrogênio Indigestível em Detergente Ácido
NIDN -	Nitrogênio Indigestível em Detergente Neutro
N-NH ₃ -	Nitrogênio Amoniacal
NRC -	National Research Council
OL -	Óleo de linhaça
OE -	Óleo essencial
OP-	Óleo protegido
OS -	Óleo de Soja
PB -	Proteína Bruta

PBd -	Proteína Bruta Digestível
PC	Peso Corporal
PLC-	Leite corrigido para gordura
pH -	Potencial Hidrogeniônico
QT -	Quitosana
SCAG -	Sais de Cálcio de Ácidos Graxos
TMR-	Ração em mistura completa

SUMÁRIO

Desempenho, parâmetros digestivos e cinética ruminal de vacas Jersey
suplementadas com quitosana

	Página
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 HIPÓTESE.....	17
3 OBJETIVOS.....	17
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
4.1 Uso de aditivos na alimentação de ruminantes e seus efeitos no metabolismo ruminal	18
4.2 Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes.....	22
5 MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1 Comitê de ética e local de realização.....	28
5.2 Animais, delineamento experimental e dietas	28
5.3 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total de nutrientes.....	34
5.4 Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite	36
5.5 Amostragem e análises laboratoriais	37
5.6 Fluxo omasal de nutrientes	37
5.7 Cinética ruminal.....	38
5.8 Indicadores para Reconstituição da Digesta Verdadeira	39
5.9 Balanço de energia	40
6. Análises estatísticas	40
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
7.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes	42
7.2. Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite	44
7.3 Caracterização ruminal e fluxo omasal	48
7.4 Balanço de energia	50
8. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

DESEMPENHO, PARÂMETROS DIGESTIVOS E CINÉTICA RUMINAL DE VACAS JERSEY SUPLEMENTADAS COM QUITOSANA

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da quitosana no desempenho, parâmetros digestivos e cinética ruminal de vacas Jersey. Foram utilizadas quatro vacas Jersey, multíparas, canuladas no rúmen [média de dias de lactação = 150 ± 45 dias; e produção de $22,2 \pm 4,5$ kg/dia, peso corporal = 350 ± 25 kg], foram alimentadas com duas dietas, distribuídas em um delineamento em *crossover*. Cada período teve duração de 17 dias, sendo os 7 primeiros de adaptação às dietas e os demais para coleta de dados e amostras. As dietas experimentais foram aleatoriamente distribuídas nos animais, foram essas dietas: 1) Controle (CON), composta por ração basal sem a inclusão de quitosana; 2) Dieta basal com a inclusão de quitosana (0,02% da MS total ou 4g/kg de MS consumida). Não houve efeito das dietas nos consumos e digestibilidades dos nutrientes ($P > 0,05$). Da mesma forma, não foi observado efeito das dietas na produção de leite, produção de leite corrigida, assim como nos teores de gordura, proteína, lactose e extratos seco total e desengordurado ($P > 0,05$). Não houve efeito das dietas nas variáveis relacionadas ao desempenho dos animais ($P > 0,05$). De forma geral, a inclusão de quitosana não modificou o perfil de ácidos graxos no leite de vacas, com exceção das concentrações no leite de C18:1 cis-11 ($P = 0,025$) que foram reduzidas em vacas alimentadas com a dieta contendo este aditivo. Devido à ausência de efeito no consumo dos animais, não foram verificados resultados significativos nas variáveis relacionadas com o balanço de energia (consumos de energia líquida e digestível, energias líquidas para ganho e lactação, balanço de energia, assim como nas eficiências ($P > 0,05$)). Não houve efeito das dietas nas variáveis da caracterização ruminal e fluxo omasal de nutrientes ($P > 0,05$). Similarmente, não foi observado efeito das dietas em nenhuma das variáveis utilizadas para avaliar a dinâmica ruminal de vacas Jersey em lactação, tais como a taxa da digestão da matéria seca (MS), renovação ruminal de MS, matéria orgânica e fibra em detergente neutro (FDN) indigestível, assim como nas taxas de passagem da MS e FDN potencialmente digestível ($P > 0,05$). A inclusão de quitosana não promoveu mudanças na produção e composição do leite, nos parâmetros de dinâmica ruminal e no balanço de energia de vacas Jersey.

Palavras-chave: aditivo, consumo, bovinos, fontes de gordura, metabolismo

PERFORMANCE, DIGESTIVE PARAMETERS AND RUMINAL KINETICS OF JERSEY COWS SUPPLEMENTED WITH CHITOSAN

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of chitosan on the performance, digestive parameters and ruminal kinetics of Jersey cows. Four Jersey cows, multiparous, cannulated in the rumen [mean days of lactation = 150 ± 45 days; and production of 22.2 ± 4.5 kg/day, body weight = 350 ± 25 kg], were fed two diets, distributed in a crossover design. Each period lasted 17 days, the first 7 of which were for adaptation to the diets and the others for data collection and Exception. The experimental diets were randomly distributed to the animals, these diets were: 1) Control (CON), consisting of basal ration without the inclusion of chitosan; 2) Basal diet with the inclusion of chitosan (0.02% of total DM or 4g/kg of DM consumed). There was no effect of diets on nutrient intake and digestibility ($P>0.05$). Likewise, no effect of diets was observed on milk production, corrected milk production, as well as on fat, protein, lactose and total and non-fat dry extracts ($P>0.05$). There was no effect of diets on variables related to animal performance ($P>0.05$). In general, the inclusion of chitosan did not change the profile of dietary recipes in cows' milk, with the exception of milk concentrations of C18:1 cis-11 ($P = 0.025$) which were reduced in cows fed the diet containing this additive. . Due to the lack of effect on animal intake, no significant results were found for variables related to energy balance (net and digestible energy intake, net energy for gain and lactation, energy balance, as well as efficiencies ($P>0$ Likewise, there was no effect of the diets on the variables of ruminal characterization and omasal flow of nutrients ($P>0.05$). , such as dry matter (DM) digestion rate, ruminal DM formula, organic matter and fiber in indigestible neutral detergent (NDF), as well as in passage rates of DM and potentially digestible NDF ($P>0.05$) The inclusion of chitosan did not promote changes in milk production and composition, in parameters of rumen dynamics and in balance of Jersey vacation energy.

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

1 INTRODUÇÃO

Vacas leiteiras de alta produção têm necessidades energéticas relativamente altas, que muitas vezes excedem a capacidade de ingestão de nutrientes e, conseqüentemente, limitam sua produção de leite (ZANFERARI et al., 2018). O aumento da produtividade deve estar ligado à melhoria da qualidade do leite, que tem um impacto significativo na qualidade dos produtos lácteos industrializados. Dessa maneira, uma tendência entre os microbiologistas do rúmen e nutricionistas é manipular o ecossistema microbiano ruminal com aditivos que alterem a população microbiana, com o intuito de melhorar a eficiência da conversão alimentar para a produção de produtos para atenderem as demandas nutricionais dos seres humanos (JACAUNA, 2016).

A manipulação da fermentação ruminal pode ser feita com o uso de aditivos, a exemplo dos antibióticos ionóforos que apresentaram como alternativas promissoras desde a década de 70 (NRC, 2001). Porém, o uso de ionóforos enfrenta uma aceitação reduzida devido aos possíveis resíduos em produtos de origem animal e ao desenvolvimento de cepas resistentes de bactérias (SANTOS et al., 2019). Além disso, sua utilização na alimentação animal foi proibida na União Europeia desde janeiro de 2006 (diretiva 1831/2003/CEE, COMISSÃO EUROPEIA, 2003), fazendo com que essa ação seja utilizada nos países de produção. Dessa forma o uso de aditivos não antibióticos, passou a ser objeto de pesquisa, como alternativa aos ionóforos, tendo a quitosana despontado com grandes perspectivas em função de suas características semelhantes aos dos ionóforos (RENNÓ et al., 2011).

A quitosana (QT) é considerada um biopolímero atóxico e biodegradável, tem aplicação em várias áreas, como medicina e preservação de alimentos, principalmente por causa de suas propriedades antimicrobianas (KONG et al., 2010). Conforme descrito por Goiri et al. (2009a, b) e corroborado por Harahap et al. (2020; 2022), o uso da quitosana despertou o interesse dos nutricionistas, porque mostrou atividade semelhante à dos ionóforos como modulador ruminal. Estes estudos corroboraram com o que foi descrito por Gandra et al. (2016), que enfatizaram a importância do uso da quitosana por sua atividade antimicrobiana para melhorar o

desempenho de novilhas, pois promove fermentação ruminal em uma via mais favorável energeticamente, modificando as proporções de ácidos graxos.

Estudos com vacas leiteiras e bovinos de corte foram realizados ao longo dos anos sendo observado que a inclusão de quitosana promoveu mudanças nos parâmetros de fermentação ruminal como, modificações no padrão de produção de ácidos graxos voláteis (AGV) de ácido acético para ácido propiônico, diminuindo assim a proporção de ácido acético para ácido propiônico (ARAÚJO et al., 2015; PAIVA et al., 2016). Além disso, de acordo com Haryati et al. (2019) vem sendo descrito na literatura sobre o potencial para alterar a fermentação ruminal e afetar a produção de metano (CH₄).

Embora o mecanismo de ação da quitosana ainda não tenha sido totalmente elucidado, algumas pesquisas como Helander et al. (2001) e Kong et al. (2010) mencionaram que a teoria de permeabilidade celular devido as interações entre a quitosana policatiônica e as cargas eletronegativas na célula bacteriana. A atividade antimicrobiana da quitosana é reconhecida contra diversas bactérias e fungos e é influenciada por diversos fatores como o tipo de quitosana, o grau de polimerização, peso molecular, tipo de bactéria e outras propriedades químicas e físicas (NO et al., 2002; SENEL et al., 2004). Contudo, nos últimos anos houveram alguns avanços sobre os efeitos da quitosana em dietas de ruminantes, especialmente sobre a fermentação ruminal. Estudos estes conduzidos com vacas leiteiras avaliando os efeitos sobre o metabolismo digestivo e desempenho produtivo (MINGOTI et al., 2016; PAIVA et al., 2016; VENDRAMINI et al., 2016; DEL VALLE et al., 2017; ZANFERARI et al., 2018; SEANKAMSORN et al., 2021; ZHENG et al., 2021).

Algumas estratégias são utilizadas para reduzir a biohidrogenação ruminal e melhorar o perfil de ácidos incorporados aos tecidos animal. Levando em consideração que esse processo varia de acordo com vários fatores, principalmente com a quantidade de ácidos graxos insaturados que chega ao rúmen, da fonte lipídica fornecida, do pH ruminal, a modulação desses fatores pode ser feita a fim de reduzir o processo de saturação dos ácidos graxos. De acordo com Gandra et al. (2016a, 2016b) e Gardinal et al. (2018a, 2018b), os ácidos graxos poliinsaturados são uma fonte eficiente de energia e têm sido utilizados como ferramenta para modular o metabolismo, a reprodução e o sistema imunológico de vacas leiteiras.

Diante deste cenário, nossa hipótese é que a inclusão de quitosana em dietas para vacas Jersey em lactação, altera o perfil de ácidos graxos do leite, aumenta a eficiência energética ruminal sem alterar a cinética ruminal, o consumo e digestibilidade de nutrientes, melhorando a utilização dos nutrientes e diminuindo as perdas energéticas. Dessa forma, esse estudo avaliou a ação da quitosana no consumo, desempenho, produção e perfil de ácidos graxos do leite e sobre a composição física e química das fases sólida e líquida da digesta ruminal.

2 HIPÓTESE

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

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão da quitosana sobre os metabolismos ruminal, omasal, assim como na produção e composição do leite em vacas Jersey em lactação.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Consumo e digestibilidade aparente do trato total dos nutrientes
- ✓ Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite
- ✓ Caracterização ruminal e fluxo omasal de nutrientes
- ✓ Cinética ruminal
- ✓ Balanço de energia

4 REVISÃO DE LITERATURA

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

Uma estratégia relevante na alimentação animal, que é capaz de controlar ou mudar o padrão de fermentação ruminal de forma a se obter maior teor de produção e/ou manter a saúde animal é a utilização de aditivos (LI et al., 2021).

De acordo com o MAPA (2004) os aditivos podem ser classificados de diversas formas e agrupados na alimentação animal em cinco categorias referentes à sua função: aditivos tecnológicos (conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, adsorventes, aglomerantes, antiaglomerantes, antiumectantes, umectantes, gelificantes e espessantes); aditivos sensoriais (corantes, flavorizantes, aromatizantes e palatilizantes); aditivos nutricionais (vitaminas, micro minerais, aminoácidos e ureia); aditivos zootécnicos (melhoradores da digestibilidade – enzimas e ácidos orgânicos; equilibradores de florintestinal – probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, nutracêuticos, melhoradores de desempenho – antibióticos, ionóforos, repartidores de nutrientes, hormônios; botânicos – ervas, especiarias, extratos vegetais e óleos essenciais) e aditivos anticoccidianos ou coccidiostáticos.

Alguns aditivos alimentares agem de forma a proporcionar o aumento da eficiência na utilização de alimentos, melhorar a fermentação, e modular a população ruminal (COBELLIS et al., 2016). Outras vantagens da utilização dos aditivos na alimentação de ruminantes são relacionadas ao aumento da produção de propionato, que conseqüentemente ajuda na redução de metano, a melhora na eficiência de utilização do nitrogênio e redução do risco de doenças metabólicas como acidose ruminal (JOUANY e MORGAVI, 2007).

Entre os aditivos mais utilizados na produção intensiva de bovinos estão os ionofóros, que compreendem um tipo de antibiótico, produzido principalmente por linhagens de bactérias do gênero *Streptomyces* (COSTA, 2015). Entretanto, no Brasil apenas três possuem o registro com a devida autorização do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) para sua utilização no Brasil: a monensina sódica,

lasalocida e salinomycinásódica. Sendo a monensina o mais estudado e utilizado no território nacional como um promotor de crescimento para animais confinados.

A ação dos ionóforos ocorre devido à sensibilidade dos microrganismos à translocação do gradiente de concentração de íons através da membrana celular. No ambiente ruminal, o sódio (Na^+) é o cátion extracelular predominante, enquanto o cátion potássio (K^+) é predominante no meio intracelular dos microrganismos (RUSSEL e STROBEL, 1989) e a concentração tende a ser alterada na presença da monensina. Russel (1987) ao avaliar a ação da monensina no ambiente ruminal relatou que o meio intracelular de bactérias *Streptococcus bovis* foi alterado, com redução do pH e da concentração de K^+ e, aumento da concentração de Na^+ . Além disso, nesse mesmo estudo a monensina promoveu a inibição do crescimento da população de bactérias dessa espécie.

Outras estratégias podem ser utilizadas como substituição ou complementação de mecanismos, como os diversos tipos de lipídios podem ser usados em dietas para ruminantes, como aditivos alimentares, variando em relação à composição e disponibilidade de ácidos graxos. Dentre estas fontes é possível mencionar a inclusão de óleos vegetais, sementes de oleaginosas e sais de cálcio de ácidos graxos que se apresentam na forma de fonte de gordura não-protégida, parcialmente protegidas e totalmente protegidas da ação microbiana, respectivamente (SANTANA et al., 2017).

A utilização de lipídios como aditivos ocorre principalmente com animais em lactação e alta produtividade, uma vez que os benefícios são atribuídos pela grande disponibilidade de fontes de gordura insaturada como pode-se observar em estudos (GANDRA et al., 2016; ZANFERARI et al., 2018). Em virtude disso, ocorre o aumento da eficiência do uso da energia bruta (aumento da ingestão de energia líquida quando a ingestão de MS é reduzida). Dessa maneira, segundo Palmquist e Mattos (2006) quando se adiciona fontes de gorduras na dieta, ocorre a substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis por lipídeos possibilitando o melhor consumo de forragem e fermentação ruminal (partição de nutrientes para secreção do leite e qualidade da carne).

Em ruminantes, os lipídios passam por processos que modificam sua composição antes de serem absorvidos no intestino, são eles a lipólise e a

biohidrogenação. Esses processos ocorrem no compartimento ruminal e são realizados por bactérias específicas através da liberação de enzimas que fazem o processo de lipase (BUCCIONI et al., 2012). Essas bactérias específicas são divididas em dois grupos, o primeiro que tem como principais bactérias a *B. fibrisolvans*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavifaciens*, que forma como intermediário, o ácido rumênico, e como produto final, o ácido vacênico e o segundo grupo as bactérias *Fusocillus ssp.* e *Butyrivibrio proteoclasticus*, que convertem AGPI a ácido esteárico (BUCCIONI et al., 2012).

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

Alguns fatores podem alterar as rotas usuais da biohidrogenação, como os valores de pH mais baixos que podem alterar a população microbiana, resultando na formação de isômeros do ácido linoleico (C18:2 *cis*-9 *trans*-11, e C18:2 *trans*-10 *cis*-12, por exemplo) e intermediários (C18:1 *trans*-11 e C18:1 *trans*-10), que são os ácidos que não sofrem biohidrogenação completa (BAUMAN e GRIINARI, 2003; SHINGFIELD et al., 2010). De acordo com Chilliard et al. (2007), o pH baixo limita tanto a lipólise de triglicérides, quanto a isomerização e redução do C18:2, favorecendo o aumento na concentração de ácido vacênico.

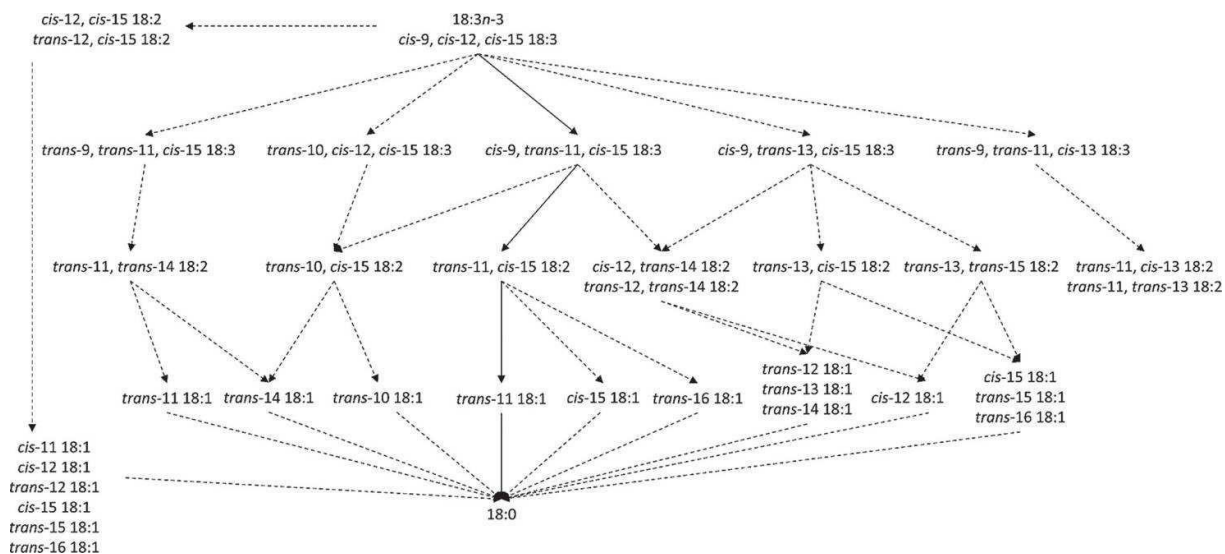


Figura 1. Vias do metabolismo ruminal de 18:3n-3 (baseado em Ferlay et al., 2017). As setas com linhas sólidas destacam a principal via de biohidrogenação, e as setas com linhas tracejadas descrevem a formação de intermediários menores, sob condições fisiologicamente normais no rúmen.

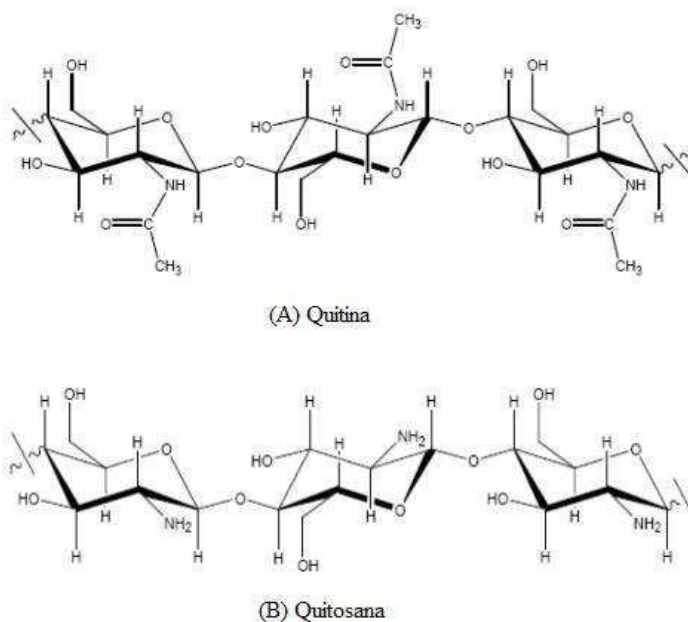
O uso de fonte protegida de ácidos graxos, como sementes oleaginosas tem sido relatado como boa alternativa para minimizar a ação das bactérias sobre os lipídios. Devido aos lipídios estarem armazenados no gérmen ou ligados à matriz proteica, a liberação das moléculas ocorre mais lentamente, de forma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

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

4.2 Quitosana como aditivo na alimentação de ruminantes

A quitosana (QT) é o segundo biopolímero natural mais abundante na Terra depois da celulose e é comumente encontrada nas conchas de crustáceos marinhos e paredes celulares de fungos (HARAHAP et al., 2022). A quitosana pode ser obtida a partir da desacetilação da quitina (Figura 2), presente no exoesqueleto de crustáceos como caranguejos e camarões (HARAHAP et al., 2020). A diferença entre a quitina e a quitosana é feita pela porcentagem de unidades GlcNAc (N- acetilglicosamina) e GlcN (Glucosamina), sendo o grau médio de acetilação, um parâmetro estrutural importante para suas propriedades físico-químicas e aplicações (SINGLA e CHAWLA, 2001).

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



Fonte: Adaptado de Antonino (2007).

A quitosana tem recebido atenção devido ao seu potencial de aplicação em humanos, na medicina veterinária e na conservação de alimentos, notadamente por suas propriedades contra bactérias, fungos e leveduras (KONG et al., 2010). Ela foi

isolado pela primeira vez em 1811, pelo francês Henri Braconnot, extraída de fungos superiores e por isso denominada “fungina” (SKAUGRUD e SARGENT, 1990).

Em 1979 Allan e Hardwinger propuseram pela primeira vez a atividade antibacteriana da quitosana, eles testaram os efeitos da quitosana e quitina sobre diferentes gêneros de fungos, apresentando a quitosana um efeito mais sensível a grande maioria dos fungos utilizados. Tang et al. (2010), afirmaram que esse polissacarídeo possui amplo espectro de ação com doses mínimas inibitórias contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Essa ação pode ser justificada pelo fato da quitosana interagir com a superfície lipopolissacarídea das bactérias gram- negativas e da mesma forma com a fração peptidoglicana das bactérias gram- positivas, ambas aniônicas. Contudo, determinados estudos apontam que bactérias gram-positivas são mais susceptíveis a quitosana do que as bactérias gram- negativas (WANG, 1992; NO et al., 2002; SENEL et al., 2004; KUMAR et al., 2005).

Essa interação ocorre em virtude da quitosana pode causar escape de componentes intracelulares. Dessa forma, isso conseqüentemente promove a morte celular devido a quitosana carregada positivamente se ligar à superfície carregada negativamente das bactérias, alterando assim a permeabilidade da membrana (hidrólise de peptidoglicano) (HELANDER et al., 2001). Além disso, a quitosana possui grupos ativos diferentes, dois destes são do grupo hidroxil, sendo primário e secundário e o grupo amino presente nas posições C-2, C-3 e C-6. O grupo amina é de suma importância, pois possui relação com a solubilidade da quitosana, onde uma característica muito importante é o grau de desacetilação, pois atribui o rótulo de polímero quitinico ou quitosânico. Assim, quanto maior o grau de desacetilação maior será a solubilidade em meio aquoso, conferindo carga positiva para quitosana o que melhora conseqüentemente as reações com carga negativas e polímeros aniônicos (TORRES, 2009).

A ligação da quitosana aos polímeros da parede celular causam efeitos secundários celulares por desestabilização e posterior interrupção da membrana. Além disso, quando ligada à membrana, a quitosana afeta as vias de geração de energia, provavelmente devido ao comprometimento da organização funcional da cadeia de transporte de elétrons, causando redução da oxigenação adequada e forçando as células à anaerobiose Raafat et al. (2009).

Primeiramente, a quitosana foi estudada como uma alternativa de fonte de nitrogênio para animais ruminantes, no entanto Fadel El-Seed et al. (2003), relataram que a quitosana não é degradada no rúmen indicando possível ação protetora contra a ação ruminal, possibilitando digestão no intestino delgado, conforme demonstrado por Hirano et al. (1990), em aves e coelhos.

Recentemente, a quitosana tem sido cogitada como possível moduladora da fermentação ruminal com finalidade de otimização da eficiência alimentar em ruminantes. Goiri et al. (2009) propuseram o uso da quitosana como modulador da fermentação ruminal e dos processos digestivos. A quitosana vem sendo utilizado em diversas aplicações na conservação de alimentos, principalmente por suas atividades antimicrobianas. Goiri et al. (2010a) mostraram que a quitosana inibe a biohidrogenação *in vitro* e aumenta a concentração de ácidos graxos insaturados no ensaio Rusitec®, enquanto em seu outro estudo Goiri et al. (2010b) verificaram que o propionato ruminal aumentou, o amônio diminuiu e nenhum efeito no consumo e na digestibilidade total do trato em ovinos.

Em complemento aos estudos anteriores, Souza et al. (2011), informaram que a quitosana apresenta baixa estabilidade quando exposta ao ambiente ruminal devido a sua estrutura ser similar a celulose, o que indica que ela pode ser degradada, porém, poucas bactérias foram identificadas como possíveis degradadoras de quitosana no rúmen (KOPECNY e HODROVA, 2000).

Haryati et al. (2019) revelaram que a quitosana pode ter uma influência mecânica semelhante à monensina, que está associada a mudanças nos perfis de ácidos graxos voláteis (AGV), reduzindo principalmente o acetato e melhorando o propionato, além de deprimir a emissão de CH₄. Além disso, Zanferari et al. (2018) explicaram que a quitosana pode inibir a permeabilidade das paredes celulares das bactérias metanogênicas e a interrupção direta do crescimento metanogênico.

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

Tabela 1 - Principais achados científicos do efeito da inclusão níveis de quitosana em dietas para bovinos.

Autor	Aditivo	Dieta Relação Vol:Con	Categoria Animal	Dose	Principais Resultados
Kirwan et al. (2021)	QT	Silagem de azevém: concentrado misto 50:50	Novilhas de corte Belga Blue x Holandês	0% e 10g kg/MS	<p>O nível de proteína bruta e a inclusão de quitosana não tiveram efeito sobre o CMS.</p> <p>A digestibilidade total aparente da MS, matéria orgânica (MO) e PB foram reduzidas com a inclusão de quitosana.</p> <p>Oferta das dietas alta proteína aumentou a digestibilidade total aparente da PB</p>
Seankamsorn et al. (2020)	QT	Palha de arroz: concentrado misto 30:70	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; Extrato QT: 2%; QT comercial: 2%.	<p>Não foram observadas diferenças significativas na MS ou ingestão energética estimada quando as vacas receberam diferentes fontes de quitosana</p> <p>A digestibilidade dos nutrientes não foi influenciada por suplementos de quitosana à base de extração ou comerciais.</p> <p>Não houve diferenças significativas na produção de leite, composição do leite ou nitrogênio ureico do leite quando as vacas receberam diferentes fontes de quitosana.</p>
Magalhães et al. (2019)	QT CA	Feno de tifton 85: concentrado à base de milho e caroço de algodão 50:50	Cordeiro Santa inês	CAI: 0%; CAI + 136mg de QT kg/PC; CAM: 0% CAM + 136mg de QT kg/PC.	<p>A digestibilidade aparente de matéria seca e matéria orgânica do extrato etéreo foi maior nos animais alimentados com a dieta contendo quitosana.</p> <p>Houve efeito de interação na digestibilidade aparente de matéria seca e matéria orgânica da fibra detergente neutro, que aumentou com a inclusão de quitosana associada ao caroço de algodão inteiro.</p>

Zanferari et al. (2018)	QT GS	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0%; QT: 4 mg/kg; GS: 14% na MS QT + SG: 4 mg/kg + 14% GS na MS.	Aumento no consumo de EE e redução da digestibilidade da PB com inclusão de GS. Redução da digestibilidade de nutrientes com associação de GS e QT.
Del Valle et al. (2017)	QT; OS.	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0 g/kg; QT: 4 g/kg; OS: 33 g/kg; QT+OS: 4 g/kg + 33 g/kg.	Redução do consumo de MS e aumento da digestibilidade da MS e PB com inclusão de QT.
Mingoti et al. (2016)	QT	Silagem de milho: concentrado à base de milho, farelo de soja e grão de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	0 mg/kg PC; 50 mg/kg PC; 100 mg/kg PC; 150 mg/kg PC.	Sem efeitos inclusão de QT no consumo de MS. Aumento da digestibilidade a MS, MO e PB com inclusão de QT.
Gandra et al. (2016a)	QT; GS.	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 50:50	Novilhas Jersey	CON: 0 g/kg; QT: 2 g/kg; GS: 163 g/kg; QT+GS: 2 g/kg + 163 g/kg.	Redução no consumo de MS e FDN e da digestibilidade da MS com inclusão de QT; Redução do consumo de CNF com inclusão de GS.

Paiva et al. (2016)	QT	Silagem de milho: concentrado à base de milho e farelo de soja 60:40	Vacas Holandesas em lactação	0 mg/kg de PC; 75 mg/kg de PC; 150 mg/kg de PC; 225 mg/kg de PC.	Sem efeitos da inclusão de QT no consumo de MS; Aumento da digestibilidade da PB com inclusão de QT.
Vendramini et al. (2016)	QT; OE; MON.	Silagem de milho: concentrado à base de milho, farelo de soja e grão de soja 50:50	Vacas Holandesas em lactação	CON: 0mg/kg; OE: 1 g/dia; QT: 150 mg/kg PC; MON: 24 mg/kg MS.	Sem efeito dos aditivos no consumo de MS e nutrientes. Aumento da digestibilidade da MS com inclusão de QT em relação a OE e da digestibilidade da PB com inclusão de QT e MON.

QT: Quitosana; CA: Carvão de algodão; GS: Grão de Soja; OS: Óleo de Soja; OE: Óleo Essencial; MON: Monensina; MS: matéria Seca; EE: Extrato Etéreo; PB: Proteína Bruta; FDN: Fibra em Detergente Neutro; MO: Matéria Orgânica; CMS: consumo de matéria seca; CNF: carboidratos não-fibrosos;

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Comitê de ética e local de realização

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

Todos os protocolos para a utilização de animais nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA), da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (número de protocolo: 63/2019).

5.2 Animais, delineamento experimental e dietas

Foram utilizadas quatro vacas da raça Jersey em lactação, multíparas, portadoras de cânulas ruminais (Kehl® 4" silicone; Kehl®, São Carlos, Brasil) (média de dias de lactação = 150 produção \pm 45 dias e produção de leite = 22,2 \pm 4,5kg/dia, e peso corporal= 350 \pm 25kg). O experimento consistiu em um delineamento em *crossover*, com dois períodos de 17 dias, em que os 7 primeiros dias foram adaptação, e os demais dias foram utilizados para a coleta de dados e entre um período e outro teve um *washout* (período tampão) de cinco dias. De acordo com Machado et al. (2016) a comunidade bacteriana na fase líquida estabiliza entre 3-9 dias após a mudança da dieta e que experimentos de curto prazo, como o *crossover*, são utilizados amplamente em ensaios de digestão, uma vez que diminui o número de animais e não compromete o número de unidades experimentais.

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

Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber as dietas experimentais, com ingredientes posteriormente analisados (Tabela 2) conforme descrito a seguir: dieta Controle: composta por ração basal sem a inclusão de quitosana, Quitosana: ração basal com a inclusão de quitosana (0,02% da dieta ou 4g/kg na matéria seca total consumida) (Tabela 3).

As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais de vacas da raça Jersey no terço médio de lactação e produção média de leite de 20 kg/dia, de acordo com as recomendações do National Research Council (NRC, 2001) (Tabela 4).

A quitosana foi fornecida de forma “*topdress*” antes do fornecimento da ração, no período matutino às 8h. Dessa forma, para reduzir a seleção pelos animais, foi misturada manualmente a uma porção de concentrado, de modo a estimular o consumo do aditivo.

Tabela 2 - Composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base na matéria seca

Item (%)	Silagem de milho	Farelo de soja	Farelo de trigo	Milho moído	Quitossana
Matéria seca	26,50	88,90	88,05	88,10	97,59
Matéria orgânica	93,20	93,40	92,81	98,60	35,46
Matéria mineral	6,80	6,60	5,73	1,40	64,54
Extrato etéreo	2,30	1,30	3,58	3,50	0,30
Proteína bruta	7,40	50,60	17,12	9,70	11,41
PIDN ¹ (%MS)	18,60	4,80	18,60	8,20	-
PIDA ² (%MS)	9,00	2,50	3,99	2,70	-
FDN ³	54,00	14,80	43,96	15,00	-
FDNi ⁴	21,10	2,20	9,32	1,80	-
FDA ⁵	29,50	8,50	13,03	2,40	-
Lignina	4,50	1,50	4,02	1,20	-
CT ⁶	83,50	43,55	70,76	83,91	-
CNF ⁷	29,50	28,75	26,80	68,91	-
NDT ⁸	64,01	81,38	75,50	90,88	-
EL ⁹ (Mcal/kg)	1,34	2,60	2,20	2,20	-

¹Proteína insolúvel em detergente neutro; ²Proteína Insolúvel em Detergente Ácido; ³Fibra em Detergente Neutro; ⁴Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁵Fibra em Detergente Ácido; ⁶Carboidratos totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁷Carboidratos não-fibrosos estimados com base na equação de Hall (2000); ⁸Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC (2001); ⁹Energia Líquida estimada pelas equações do NRC (2001).

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

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais	
	Controle	Quitosana
Milho moído	20,39	20,38
Farelo de soja	17,10	17,10
Farelo de trigo	9,00	9,00
Quitosana	-	0,42
Ureia	0,68	0,68
Sulfato de amônio	0,48	0,48
Calcário	1,20	1,20
Bicarbonato de sódio	1,40	1,40
Mineral ¹	3,02	3,02
Sal comum	0,24	0,24
Composição química (% da MS)		
Matéria seca	89,20	89,60
Matéria orgânica	88,86	89,00
Matéria mineral	10,88	11,15
Extrato etéreo	2,52	2,52
Proteína bruta	26,25	26,29
PIDN ² (%MS)	8,33	8,33
PIDA ³ (%MS)	2,67	2,67
FDN ⁴	19,09	19,09
FDNi ⁵	3,16	3,16
FDA ⁶	6,23	6,23
Lignina	1,73	1,73
CT ⁷	59,35	59,35
CNF ⁸	42,71	42,71
NDT ⁹	57,07	57,07
EL ¹⁰ (Mcal/kg)	2,40	2,40

¹Composição mineral por kg do produto: 190g de cálcio, 60g de fósforo, 70g de sódio, 20g de enxofre, 20g magnésio, 15mg de cobalto, 700mg de cobre, 10mg de cromo, 40mg de iodo, 1600mg de manganês, 19mg de selênio, 2500mg de zinco, 700mg de ferro e 600mg de flúor; ²Proteína insolúvel em detergente neutro; ³Proteína Insolúvel em Detergente Ácido; ⁴Fibra em Detergente Neutro; ⁵Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁶Fibra em Detergente Ácido; ⁷Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁸Carboidratos Não-Fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁹Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC (2001); ¹⁰Energia Líquida estimada pelas equações do NRC (2001).

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

Ingrediente (% MS)	Dietas experimentais	
	Controle	Quitosana
Silagem de milho	50,01	50,00
Milho moído	20,39	20,38
Farelo de soja	17,10	17,10
Farelo de trigo	9,00	9,00
Quitosana	-	0,21
Ureia	0,34	0,34
Sulfato de amônio	0,24	0,24
Calcário	0,60	0,60
Bicarbonato de sódio	0,70	0,70
Mineral ¹	1,51	1,51
Sal comum	0,12	0,12
Composição química (% da MS)		
Matéria seca	57,85	58,05
Matéria orgânica	91,04	91,11
Matéria mineral	8,84	8,97
Extrato etéreo	2,41	2,41
Proteína bruta	16,83	16,85
PIDN ² (%MS)	13,47	13,47
PIDA ³ (%MS)	5,84	5,84
FDN ⁴	36,55	36,55
FDNi ⁵	12,13	12,13
FDA ⁶	17,87	17,87
Lignina	3,11	3,11
CT ⁷	71,43	71,43
CNF ⁸	36,11	36,11
NDT ⁹	69,69	69,69
EL ¹⁰ (Mcal/kg)	1,81	1,81

¹Composição mineral por kg do produto: 190g de cálcio, 60g de fósforo, 70g de sódio, 20g de enxofre, 20g magnésio, 15mg de cobalto, 700mg de cobre, 10mg de cromo, 40mg de iodo, 1600mg de manganês, 19mg de selênio, 2500mg de zinco, 700mg de ferro e 600mg de flúor; ²Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; ³Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido; ⁴Fibra em Detergente Neutro; ⁵Fibra em Detergente Neutro indigestível; ⁶Fibra em Detergente Ácido; ⁷Carboidratos Totais estimados com base nas equações de Sniffen et al. (1992); ⁸Carboidratos Não-Fibrosos estimados com base nas equações de Hall (2000); ⁹Nutrientes digestíveis totais estimados pelas equações do NRC (2001); ¹⁰Energia Líquida estimada pelas equações do NRC (2001).

No dia 17 desse experimento, o ensaio de infusão de bolus (300 g de óleo de soja) foi realizado para avaliar a taxa de biohidrogenação do ácido linoleico. O

modelo de perturbação requer equilíbrio dinâmico e, portanto, um cronograma de alimentação frequente foi implementado e teve como objetivo manter condições ruminais próximas do estado estacionário, conforme descrito na metodologia proposta por Baldin et al. (2018) (Figura 3).

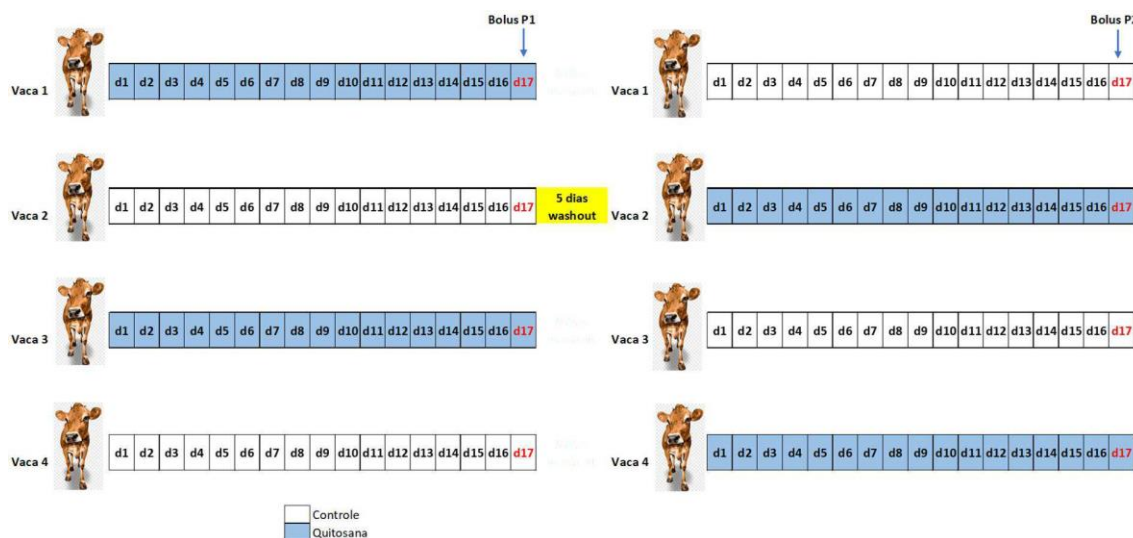


Figura 3. Desenho esquemático do ensaio de infusão de bolus (300 g de óleo de soja) realizado para avaliar a taxa de biohidrogenação do ácido linoleico pelo modelo de perturbação com o objetivo manter condições ruminais próximas do estado estacionário, adaptado de (Baldin et al., 2018).

No dia 15 do período experimental, as vacas foram alimentadas com refeições iguais a cada 6 h. No 16º dia, as vacas foram alimentadas com refeições iguais a cada 2 h; e, no dia da infusão de bolus (300 g de óleo de soja), as vacas foram alimentadas a cada 1 hora a 4,2% / h (1 / 24th) do consumo diário estimado de matéria seca (CMS). No 17º dia foram alimentadas com 90% do consumo estimado de matéria seca. As sobras foram pesadas e recolhidas uma vez por dia às 7:30 h (BALDIN et al., 2018).

A digesta do rúmen foi coletada nos tempos -1, -0.25, 0.08, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, e 6 h em relação à infusão do óleo. As primeiras 2 amostras (-1 e -0,25 h) foram usadas para caracterizar os níveis de ácido linoleico no rúmen. Em cada amostragem, foi coletada toda a digesta de cinco locais diferentes no rúmen (dorso-cranial, ventro-cranial, ventral, dorso-caudal e ventro-caudal), misturados em um

balde e uma subamostra composta de aproximadamente 200 g coletada e imediatamente colocada em gelo seco a -78°C . Uma segunda subamostra foi submetida a uma filtragem através de malha de plástico de 0,5 mm e o pH foi mensurado usando um medidor de pH manual (ORP 8651, AZ Instrument Corp., Tanzi District, Taichung City, Taiwan). A realização deste procedimento teve por objetivo mensurar as taxas de desaparecimento dos ácidos oleico, linoleico e linolênico pela equação de Orskov e McDonald (1979), e as taxas de biohidrogenação dos intermediários (CLA e ácidos trans-octadecenóicos) por modelo multicompartimental de cinética de primeira ordem (RIBEIRO et al., 2007) através do software SAAM II (SAAM, 1997).

A quitosana utilizada neste estudo apresentou as seguintes especificações técnicas: taxa de acetilação de 86,30% e 721 g/mL de densidade aparente; pH de 6,35 e viscosidade <200 cPs a 20°C (Polymar Indústria, Comércio Importação e Exportação Ltd., Fortaleza, CE). A dosagem foi selecionada para fornecer aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal ingerido, com base em estudo anterior com bovinos de corte (ARAÚJO et al., 2015) e ainda apoiado por experimentos com vacas em lactação (MINGOTI et al., 2016; ZANFERARI et al., 2018).

5.3 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente do trato total de nutrientes

As vacas foram alimentadas duas vezes ao dia, às 8h00 e 14h00, em quantidades iguais, visando sobras entre 5 e 10% de matéria natural, com base na alimentação do dia anterior. As quantidades de forragem e concentrado fornecidas e as sobras de cada vaca foram pesadas diariamente para calcular o consumo de ração. Amostras de forragem e ingredientes foram coletadas semanalmente e congeladas a -20°C . As amostras de sobras de cada vaca foram coletadas diariamente durante o período de coleta para gerar uma amostra composta e armazenadas a -20°C para posteriores análises laboratoriais.

Nos dias 10, 11 e 12 de cada período experimental, amostras fecais foram coletadas diretamente do reto três vezes ao dia (intervalos de 9 horas), começando as 9h (HAVARTINE e ALLEN, 2006), e congeladas a -20°C . Ao final de cada período

experimental, amostras de cada vaca/período foram homogeneizadas para gerar uma amostra composta por período por vaca. Durante este período, amostras de volumoso e ingredientes foram coletadas (~300g) e armazenadas a -20°C .

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

A excreção fecal total de cada animal foi determinada com base na concentração de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) usada como marcador interno. Amostras de ingredientes, sobras e fezes foram moídas em moinho tipo Willey para passar por uma peneira de 2- mm e, em seguida, colocadas em sacos de tecido- não tecido (TNT) (4×5 cm, tamanho de poro $50\ \mu\text{m}$, $100\ \text{g}/\text{m}^2$) seguindo a recomendação de no máximo $100\ \text{g}$ de MS/m^2 (CASALI et al., 2008) para estimar a excreção fecal e a digestibilidade aparente do trato total.

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

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

Os coeficientes de digestibilidade foram calculados usando a seguinte equação: $CD = \{[\text{ingestão (kg/dia)} - \text{produção fecal (kg/dia)}] \div \text{ingestão (kg/dia)}\} \times 100$.

5.4 Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite

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

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

Nos dias 14, 15 e 16 de cada período experimental, amostras de leite foram coletadas diretamente do medidor e transferidas para frascos plásticos e analisadas pelo LACTOSCAN (Entelbras®, São Paulo, Brasil) quanto à composição do leite através dos teores de gordura, proteína, lactose segundo Campanile et al. (2003). O cálculo extrato seco total (EST) foi obtido a partir do Disco de Ackermann, e o extrato seco desengordurado (ESD) pela subtração do valor do EST e o teor de gordura (BRASIL, 2006). Além disso, as amostras foram coletadas e, em seguida, liofilizadas a -43°C por 96 h para posteriores análises do perfil de ácidos graxos do leite.

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

Prep, Inc.). O resultado foi obtido pela normalização das áreas e expresso em mg / 100 mg de ácidos graxos.

5.5 Amostragem e análises laboratoriais

A silagem, os ingredientes e as amostras de sobras foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72h), moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1- mm e avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS; ID 920,15), cinzas (MM; ID 942.05), proteína bruta (PB = N × 6,25; ID 984.13), extrato etéreo (EE; ID 920.39) e fibra em detergente ácido e lignina (FDA e LIG; ID 973,18) de acordo com os métodos propostos pela AOAC (2000). As amostras foram ainda analisadas quanto aos teores de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Mertens (2002), com o auxílio de uma autoclave usando termoestável alfa-amilase e nenhuma adição de sulfito de sódio no detergente. Os teores de nitrogênio insolúveis em detergente neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foram determinados de acordo com Licitra et al. (1996).

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

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

5.6 Fluxo omasal de nutrientes

Nos dias 10, 11 e 12 de cada período experimental, foram coletadas amostras das digestas omasal e de fezes a cada 9 horas, começando as 9h, totalizando 8 amostras por vaca em um intervalo de 72 horas, com o objetivo de representar o fluxo real da digesta. Dessa forma, foi obtido um total de oito amostras representativas, representando um período de 24 horas em 3 dias, por animal, por período experimental, de acordo com Krizsan et al. (2010).

A amostragem de digesta omasal foi realizada por meio de sucção, com auxílio de bomba de vácuo. Dessa forma uma mangueira acoplada à bomba de vácuo, foi inserida no omaso pela cânula ruminal e então foram succionados 750 mL de digesta por cada horário de coleta, utilizando a técnica de amostragem desenvolvida por Huhtanen et al. (1997) e modificada por Ahvenjärvi et al. (2000). As amostras foram acondicionadas em garrafas plásticas e congeladas a -20°C para posteriores análises. As fezes foram coletadas direto da ampola retal, acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a -20°C para análises laboratoriais.

Após o período experimental, todas as amostras da digesta omasal e das fezes foram descongeladas e as oito amostras de cada material coletado foram homogeneizadas formando uma amostra composta por animal e por período. Posteriormente, foram pesadas e em seguida, foi separada em fase sólida e fase líquida, utilizando uma malha de 1-mm de porosidade. As amostras de cada fase foram também pesadas e, assim como as fezes, secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 horas). Então, foram moídas em moinhos tipo Willey providos de peneiras de crivo de 1 e 2-mm. Após a moagem, foram acondicionadas para posteriores análises de MS, MO, MM, FDN e FDNi, conforme metodologias da AOAC (2000) anteriormente mencionadas.

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

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

5.7 Cinética ruminal

Para determinação da cinética ruminal, todo o conteúdo do rúmen foi retirado manualmente através de cânula ruminal 4 horas e meia após a alimentação no 8º dia, de cada período experimental (HARVATINE e ALLEN, 2006). O conteúdo ruminal total foi quantificado em relação ao peso e o volume em tambores graduados.

Durante a retirada do conteúdo ruminal, alíquotas de 10% da digesta foram separadas para permitir amostragem acurada da composição ruminal. As alíquotas foram filtradas com auxílio de malha (1,0 mm de porosidade) com o objetivo de separar o conteúdo sólido do líquido, para determinação do tamanho médio de

partícula. Ambas as frações (sólida e líquida) foram pré-secas (55°C por 72h) e corrigidas para matéria seca original, sendo realizadas posteriores análises de MS, MO, MM, FDN e FDNi, conforme metodologias da AOAC (2000) anteriormente mencionadas.

As taxas de renovação ruminal, passagem ruminal, e digestão ruminal de cada nutriente foram calculadas de acordo com as equações propostas por Oba e Allen (2003):

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

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

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

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

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

5.8 Indicadores para Reconstituição da Digesta Verdadeira

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

seja verdadeiramente representativa do fluxo da digesta que passa pelo local da amostragem.

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

O Cobalto-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Uden et al. (1980), o qual foi diluído em água para infusão, totalizando uma solução de 120 mL com 16 g de Co-EDTA (4 mg/kg/PV de Co) (KRIZSAN et al., 2010). A administração, via fistula ruminal, foi realizada cinco dias antes do início da coleta da digesta omasal até o seu término, em quatro doses iguais de 30 mL as 0h00; 6h00; 12h00 e 18h00, conforme Krizsan et al. (2010).

5.9 Balanço de energia

Para os cálculos do balanço de energia, Energia líquida;

Energia de lactação disponível para manutenção = EL (ingestão) - EL (Ganho de PV) - EL (leite); (produção de leite EL + ganho de peso corporal EL) / ingestão de energia digestível foram usadas as equações do NRC (2001).

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

Eficiência produção de leite = $\frac{EL \text{ produção de leite}}{EL \text{ consumo} - EL \text{ (ganho PV) - EL(leite)}}$; Eficiência de lactação = $\frac{EL \text{ produção de leite} + EL \text{ ganho de PV}}{Consumo de ED}$.

6. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados pelo procedimento PROC MIXED do pacote estatístico SAS (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, NC, 2004), utilizando um modelo misto em sistema em *crossover* em que os animais foram alimentados com

duas dietas experimentais, conforme anteriormente mencionado. As médias foram ajustadas pelo comando LSMEANS. A significância foi declarada a 5%.

$$Y_{ijkl} = \mu + \delta_l + \beta_i(l) + \alpha_j + \gamma_k + \alpha\gamma_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Com as seguintes premissas:

1. Y_{ijkl} é o efeito do animal i , tratamento j , período k e da sequência l ($i = 4, j = 2, k = 2$ e $l = 2$).
2. μ é a média geral.
3. δ_l é o efeito fixo da sequência l ; $\sum \delta_l = 0$.
4. $\beta_i(l)$ é o efeito aleatório do animal i dentro da sequência l ; $\beta_i(l) \sim N(0, \sigma_\beta^2)$.
5. $\beta_i(l)$ são independentes.
6. α_j é o efeito fixo devido ao tratamento j ; $\sum \alpha_j = 0$.
7. γ_k é o efeito fixo do período k ; $\sum \gamma_k = 0$.
8. $\alpha\gamma_{jk}$ é o efeito fixo da interação do tratamento j com o período k ; $\sum \alpha\gamma_{jk} = 0$.
9. ε_{ijkl} é o erro aleatório (variação não explicada pelo modelo); $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma_\varepsilon^2)$.
10. Os ε_{ijkl} são independentes.
11. Os componentes aleatórios $\beta_i(l)$ e ε_{ijkl} são independentes

Embora ainda não tenha sido inseridos os resultados nesta dissertação, as curvas de biohidrogenação e dos ácidos graxos insaturados da dieta e do bolus serão avaliadas pelo procedimento PROC NLIN. As taxas de aparecimento e desaparecimento dos intermediários da biohidrogenação serão estimadas por um modelo multicompartimental de cinética de primeira ordem (RIBEIRO et al., 2007) pelo software SAAM II (SAAM, 1997) para cada unidade experimental e posteriormente, os parâmetros do modelo serão comparados de acordo com o delineamento em *crossover* utilizando o procedimento PROC MIXED.

O inverso do erro padrão da média de cada parâmetro do modelo (de cada unidade experimental) será utilizado como variável ponderadora dos dados através da linha de comando Weight. A significância será declarada a 5%.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Não foi observado efeito da quitosana ($P>0,05$) sobre os consumos de nutrientes em vacas Jersey em lactação expressos em Kg/dia ou em porcentagem (Tabela 5). Similarmente com este trabalho, Mingoti et al. (2016) verificaram que a suplementação de quitosana em 50 e 150 mg/kg PC não teve efeito sobre o consumo de ração em vacas. Apesar das atividades microbianas constatadas da quitosana, a ingestão de componentes nutricionais não foi influenciada pelos tratamentos, possivelmente porque as dietas foram semelhantes na composição nutricional, uma vez que é necessário para isolar o efeito quitosana. No entanto, vale ressaltar que essas atividades antimicrobianas dependem do seu grau de acetilação, da massa peso e nas propriedades microbianas.

Tabela 5 – Consumo de matéria seca e nutrientes em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item	Dietas ¹		EPM ²	Valor-P ³
	Controle	Quitosana		
kg/dia				
MS ⁴	16,50	16,26	0,79	0,910
MO ⁵	11,36	11,57	0,53	0,871
PB ⁶	1,21	1,22	0,07	0,927
EE ⁷	0,55	0,57	0,03	0,879
FDN ⁸	4,43	4,56	0,20	0,792
FDNi ⁹	2,10	2,15	0,10	0,843
FDNpd	5,62	4,96	0,67	0,683
CT ¹⁰	9,59	9,78	0,44	0,862
CNF ¹¹	5,81	5,89	0,29	0,914
NDT ¹²	9,94	10,08	0,47	0,906
(%)PC ¹³				
MS (%PC)	3,64	3,73	0,12	0,760
FDN (%PC)	1,28	1,33	0,05	0,647

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05. ⁴Matéria seca; ⁵ Matéria orgânica; ⁶Proteína bruta; ⁷Extrato etéreo; ⁸Fibra em detergente neutro; ⁹Fibra em detergente neutro indigestível; ¹⁰Carboidratos totais; ¹¹Carboidratos não-fibrosos; ¹²Nutrientes digestíveis totais; ¹³Porcentagem do peso corporal.

A quitosana utilizada apresentou as seguintes especificações técnicas: taxa de acetilação de 86,3%, 0,721 g / mL de densidade aparente; pH de 6,35 e viscosidade <200 cPs, enquanto nos estudos de Seankamsorn et al. (2021) a quitosana com extrato teve um grau de acetilação de 98,07% e 88,0% de solubilidade, e a quitosana comercial apresentou 90% de grau de acetilação e 99% de solubilidade. Semelhante ao grau de acetilação no estudo de Araújo et al. (2015), que utilizaram quitosana comercial com mais de 92% de grau de acetilação. Já Pereira et al. (2019), no entanto, usaram quitosana como aditivo com um grau de acetilação superior a 85%. A variação do grau de acetilação em cada estudo pode causar resultados inconsistentes dos estudos.

De forma similar ao consumo de nutrientes, também não foi observado neste estudo efeito da inclusão de quitosana na digestibilidade aparente da MS e demais frações nutricionais ($P>0,05$) (Tabela 6). De forma similar, nos níveis avaliados, a inclusão de quitosana não teve efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes quando ofertada em dietas para vacas em lactação, o que também foi verificado por Seankamsorn et al. (2020, 2021). Além disso, vacas Holandesas suplementadas com quitosana a 75 e 225 mg/kg PC não tiveram influência na digestibilidade da MS, MO, EE ou FDN, conforme verificado por Paiva et al. (2016).

Tabela 6 – Digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item (%)	Dietas ¹		EPM ³	Valor-P ³
	Controle	Quitosana		
Matéria Seca	60,03	60,79	1,38	0,759
Matéria Orgânica	62,23	63,31	1,33	0,635
Proteína Bruta	65,47	65,42	1,32	0,986
Extrato Etéreo	79,05	79,08	1,16	0,993
Fibra em detergente neutro	34,42	34,84	2,52	0,943
Carboidratos Totais	60,86	61,91	1,55	0,688
Carboidratos não-fibrosos	68,62	70,18	2,00	0,661
Nutrientes digestíveis totais	59,97	60,86	1,45	0,727

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida);

²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05.

Esses resultados indicam que a suplementação de quitosana não teve efeitos adversos ou proporcionou incrementos na ingestão e digestibilidade das frações

nutricionais em vacas que receberam TMR contendo uma dieta à base de silagem de milho, manejadas em condições tropicais. Outro fator que pode ter influenciado na ausência de efeito das dietas pode ter sido a semelhança no consumo de matéria seca que não diferiu entre os animais alimentados com a dieta controle e aqueles em que foi fornecida a quitosana na dieta.

7.2. Produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite

Não foi verificado efeito das dietas ($P>0,05$) na produção de leite, produção de leite corrigida, assim como nos teores de gordura, proteína, lactose e extratos seco total e desengordurado no leite de vacas Jersey em lactação, expressos em kg ou em porcentagem (Tabela 7).

Também não foram observados efeitos da inclusão de quitosana na produção e composição de leite em outros estudos conduzidos com bovinos (MINGOTI et al., 2016, DEL VALLE et al., 2017; SEANKAMSORN et al., 2021). De acordo com os Mingoti et al. (2016) a ausência de efeito das dietas na produção e composição do leite pode estar relacionada ao CMS que não foi modificado, o que possivelmente ocorreu nos demais estudos avaliados. Assim, esses resultados indicam que o fornecimento de nutrientes para vacas e especialmente para a glândula mamária não foi limitada.

Por outro lado, resultados contrários foram verificados por Paiva et al. (2016) e Zheng et al. (2021) avaliaram a inclusão de quitosana e verificaram efeito das dietas na produção e composição do leite. Paiva et al. (2016) observaram aumento da produção de leite, leite-corrigido para gordura, e produções de proteína e lactose de vacas lactantes alimentadas com dietas contendo níveis de quitosana (0, 75 mg/kg PC; (3) 150 mg/kg PC; e (4) 225 mg/kg PC). De acordo com os autores, os resultados verificados na produção de leite podem estar relacionados as melhorias na digestibilidade de nutrientes e fermentação ruminal, especialmente pelo aumento do propionato ruminal que levou a maior energia disponível para a produção de leite, o que não foi observado neste estudo, justificando assim a ausência de resultados significativos.

Tabela 7 - Produção e composição do leite em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item	Dietas ¹		EPM ²	Valor-P ³
	Controle	Quitosana		
Produção (kg)				
Produção de Leite	21,25	23,25	1,60	0,534
PLC (3,5 %) ⁴	21,25	23,25	1,60	0,535
Gordura	0,83	0,68	0,07	0,381
Proteína	0,77	0,77	0,09	0,980
Lactose	1,01	1,13	0,10	0,600
Extrato seco total	2,37	2,80	0,30	0,221
Extrato desengordurado	seco 1,77	1,83	0,14	0,836
Composição (%)				
Gordura	4,25	3,32	0,24	0,089
Proteína	3,57	3,37	0,19	0,647
Lactose	4,82	4,87	0,11	0,854
Extrato Seco Total	11,89	13,33	0,63	0,426
Extrato desengordurado	Seco 8,93	8,81	0,09	0,639
Desempenho				
Variação de Peso (kg) ⁵	349,50	343,50	14,31	0,866
ECC (unidade) ⁶	3,00	2,75	0,12	0,363
LCE ⁷	24,07	23,30	1,95	0,860

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05; ⁴Leite corrigido para gordura (PLC, 3,5%) foi calculado de acordo com Sklan et al. (1992): PLC = (0,432 + 0,165 × porcentagem de gordura no leite) × produção de leite (kg/dia); ⁵Peso Corporal, ⁶Escore de condição corporal, ⁷Leite corrigido para energia: LCE = 0,327 × produção de leite (kg/dia) + 12,86 × produção de gordura (kg/dia) + 7,65 × produção de proteína (kg/dia) foram calculados de acordo com o Dairy Records Management System (2014).

De forma similar, foi observado neste estudo a ausência de efeito das dietas nas variáveis de desempenho das vacas Jersey em lactação ($P > 0,05$) (Tabela 7). No presente estudo, não ocorreram alterações nos consumos e digestibilidade dos nutrientes, conseqüentemente não foram verificadas e esperadas mudanças na performance dos animais. Estudos anteriores com doses de QT relataram resultados semelhantes, em que também não houve mudança na performance de vacas em lactação (MINGOTI et al., 2016).

De forma geral, a inclusão de quitosana não modificou estatisticamente o perfil de ácidos graxos no leite de vacas, com exceção das concentrações no leite de C18:1 *cis*-11 (*cis*-vacênico) ($P = 0,025$) que foram reduzidas em vacas alimentadas com a dieta contendo este aditivo (Tabela 8). Ele é um intermediário do processo de biohidrogenação. Também se têm buscado aumentar a concentração do ácido vacênico (C18:1 *trans*-11). O ácido vacênico, originado da bio-hidrogenação parcial dos ácidos linoleico e α -linolênico livres no rúmen, após absorvido, pode ser captado pela glândula mamária e incorporado na gordura do leite ou sofrer ação da enzima acil-CoA $\Delta 9$ -desaturase para que ocorra a síntese do ácido rumênico. Esse fato permite que haja alta correlação entre os teores dos ácidos rumênicos e vacênico no leite sugerindo que, para que se maximize a síntese de ácido rumênico, deve-se prover o rúmen de ácidos graxos poli-insaturados (LOPES et al., 2020).

Apesar disso, não foi verificado efeito das dietas nas demais concentrações de ácidos graxos saturados, insaturados assim como na relação saturados:insaturados no leite das vacas Jersey. Assim como este estudo, outros pesquisadores avaliaram o efeito da inclusão de diferentes doses de quitosana no perfil de ácidos graxos no leite de vacas em diferentes categorias animais, como Mingoti et al. (2016) que não encontraram efeito da quitosana nos ácidos graxos saturados e insaturados totais da gordura do leite.

Tabela 8 - Concentrações de ácidos graxos do leite em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item (g/100AG)	Dietas ¹		EPM ²	Valor-P ³
	CO	QUIT		
C4:0	2,12	1,78	0,220	0,471
C6:0	2,08	1,99	0,104	0,730
C8:0	1,34	1,40	0,060	0,647
C10:0	3,13	3,32	0,207	0,708
C12:0	3,54	3,72	0,269	0,784
C14:0	12,14	12,68	0,185	0,194
C14:1	0,48	0,51	0,038	0,496
C16:0	32,83	31,30	1,045	0,542
C18:0	14,46	14,41	0,667	0,969
C18:1 <i>trans</i> -9	0,49	0,43	0,018	0,199
C18:1 <i>trans</i> -11	1,89	1,53	0,128	0,224
C18:1 <i>cis</i> -9	14,81	15,94	0,912	0,586
C18:1 <i>cis</i> -11	0,53	0,43	0,024	0,025
C18:2 <i>n6-cis</i>	2,19	2,29	0,053	0,415
C18:3 <i>n6</i>	0,20	0,20	0,007	0,869
C18:3 <i>n3</i>	0,26	0,30	0,013	0,209
CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,40	0,38	0,028	0,623
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,01	0,01	0,002	0,175
C20:4	0,10	0,11	0,008	0,470
Outros				
<C16	24,81	25,40	0,689	0,729
>C16	35,34	36,02	0,871	0,750
C16 total	32,83	31,30	1,045	0,542
C18				
Insaturados C18	20,77	21,50	0,903	0,723
Saturados C18	14,46	14,41	0,667	0,969
Total				
Saturados	71,62	70,59	1,215	0,698
Insaturados	21,35	22,13	0,928	0,709
Insaturados:Saturados ^e	0,30	0,32	0,018	0,630

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05.

Segundo Zanferari et al. (2018), a quitosana em vacas leiteiras alimentadas sem suplementação lipídica diminuiu espécies bacterianas como o gênero *Butyrivibrio* e *B. proteoclasticus* relacionadas à biohidrogenação ruminal e reduziu a produção de leite, embora tenha aumentado a concentração no leite de ácidos graxos insaturados (AGI) e *cis*-9,*trans*-11 CLA. Além disso, a suplementação de

quitosana e óleo de soja resultou em um antagonismo que afetou o desempenho produtivo. Há carência de informações em relação à população microbiana ruminal e suas modificações com o uso de diferentes concentrações de quitosana. Sendo assim, mais estudos a campo são necessários, pois podem levar a melhorias em nossa compreensão dos efeitos deste aditivo alimentar.

O perfil de ácidos graxos do leite é derivado quase que de duas fontes, a alimentação e a atividade microbiana no rúmen (PARODI, 2004). De acordo com Goiri et al. (2010b), a quitosana pode estar interagindo com cargas livres AG, impedindo o processo de biohidrogenação. Outra forma de atuação da quitosana é que poderia estar afetando o crescimento de certas populações microbianas, como as gram positivas.

7.3 Caracterização ruminal e fluxo omasal

Em virtude de não ter sido verificado efeito das dietas no consumo e digestibilidade dos nutrientes, também não foi observado efeito nas variáveis da caracterização ruminal e fluxo omasal de nutrientes ($P>0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9 – Caracterização ruminal e fluxo omasal em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item (%)	Dietas		FPM ²	Valor-P ³
	Controle	Quitosana		
Digesta ruminal (MN kg)	58,40	58,02	6,64	0,946
Volume ruminal (L)	65,00	65,00	10,69	0,999
Pool ruminal (kg)				
MS ⁴	7,86	7,36	1,05	0,524
MO ⁵	7,01	6,37	0,95	0,343
FDNi ⁷	1,95	1,78	0,27	0,313
Pool ruminal % MS				
MS	13,45	12,70	0,87	0,253
MO	89,32	86,62	2,92	0,253
FDNi	24,83	24,22	1,82	0,683
Digestibilidade ruminal (%)				
MS	39,46	39,62	3,13	0,950
MO	48,68	55,40	11,07	0,384
Fluxo omasal MS (kg/dia)	10,43	10,37	1,28	0,954

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05; ⁴Matéria seca;

⁵Matéria orgânica; ⁶Fibra em detergente neutro; ⁷Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸Fibra em detergente neutro potencialmente disponível.

Similarmente, não foi observado efeito das dietas em nenhuma das variáveis utilizadas para avaliar a dinâmica ruminal de vacas Jersey em lactação, tais como a taxa da digestão da MS, renovação ruminal de MS, MO e FDNi, assim como nas taxas de passagem da MS e FDNpd ($P>0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Dinâmica ruminal em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item (%)	Dietas ¹		EPM ²	Valor-P ³
	Controle	Quitosa ^a		
Taxa de digestão (%/hora)				
MS	2,16	2,24	0,46	0,830
Renovação ruminal (%/h)				
MS ⁴	5,43	5,64	0,98	0,789
MO ⁵	0,77	0,79	0,10	0,812
FDNi ⁶	0,40	0,42	0,06	0,705
Taxa de passagem (%/h)				
MS	3,28	3,40	0,56	0,771
FDNpd	0,18	0,19	0,03	0,834

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT – (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05; ⁴Matéria seca; ⁵Matéria orgânica; ⁶Fibra em detergente neutro indigestível; ⁷Fibra em detergente neutro potencialmente disponível; ⁸Fibra em detergente neutro.

Além disso, a ausência de efeito nas variáveis avaliadas também pode ser atribuída à composição das dietas e as doses de quitosana estudadas, que não foram suficientes para promover modificações no fluxo, ou digestibilidade de nutrientes. Assim, estes resultados corroboram com o que foi ressaltado por Dias et al. (2020) uma vez que os parâmetros dinâmicos do rúmen são influenciados, entre outros fatores, pelas características físicas da ração, e esses efeitos são mais pronunciados na fração efetivamente degradável.

Neste estudo foram ofertadas dietas compostas com níveis de inclusões similares de silagem de milho, milho moído, farelo de soja e farelo de trigo que em associação a quitosana não foram suficientes para modificar de forma significativa a densidade as dietas e partículas de digesta no rúmen. De acordo com Allen (1996),

a mastigação e a fermentação da ração no rúmen são as principais responsáveis pelo tamanho e densidade das partículas da digesta. Seu tamanho e densidade influenciam a taxa de passagem dessas partículas pelo rúmen. Assim, quanto menor o tamanho da partícula, mais rápido é o seu escape do rúmen. Portanto, não foram verificadas também diferentes taxas de digestão, passagem ou fluxo de nutrientes nas vacas alimentadas com as dietas com ou sem quitosana e, conseqüentemente, alterações nas digestibilidades ruminais dos nutrientes.

Conforme ressaltado por Forbes (1995), com o aumento da taxa de passagem, há um incremento no consumo pelos animais. No entanto, a digestibilidade aparente pode ser reduzida se a matéria seca tiver menor tempo de retenção no trato digestivo. Dessa forma, como não foi constatado efeito das dietas no consumo dos animais, a inclusão de quitosana nas doses avaliadas promoveu taxas de passagem similares, e igual permanência das dietas no trato digestivo das vacas.

Uma menor taxa de passagem pode estar associada ao maior tamanho das partículas de ração, uma vez que a redução das partículas grandes é um requisito para que a ração passe do retículo-rúmen (WELCH e SMITH, 1978), o que leva a uma maior retenção ruminal deste material. Assim, estimula um maior tempo de ação microbiana durante a degradação dos nutrientes, promovendo um aumento da digestibilidade ruminal aparente. Como anteriormente descrito, esse efeito não foi observado no presente estudo pois ambas as dietas promoveram taxas de passagem e foram retidas de forma similar no ambiente ruminal das vacas.

O fluxo de digesta através do trato gastrointestinal é determinado principalmente pela taxa de passagem do rúmen. Um aumento na taxa de passagem normalmente reduz a digestibilidade aparente dos componentes mais resistentes à degradação, como fibra e amido, que têm baixa degradabilidade ruminal (RUSSELL e WILSON, 1996).

7.4 Balanço de energia

Devido à ausência de efeito no consumo e digestibilidade dos animais, não foram verificados resultados significativos nas variáveis relacionadas com o balanço de energia, consumos de energia líquida e digestível, energias líquidas para ganho e lactação, balanço de energia, assim como nas eficiências ($P>0,05$) (Tabela 11). Isso

pode ser explicado pela semelhança dos tratamentos e os animais em mesma idade lactacional.

Tabela 11 – Balanço de energia em vacas Jersey em lactação média alimentadas com diferentes tratamentos

Item	Dietas ¹		EPM ²	Valor-P ³
	Controle	Quitosana		
CEL (Mcal /dia) ⁴	34,97	34,68	1,52	0,938
CED (Mcal /dia) ⁵	44,22	44,61	1,78	0,990
EL para ganho ⁶	12,64	12,70	0,40	0,934
EL de lactação	15,87	15,60	1,22	0,922
Balanço de energia ⁷	6,46	6,38	0,20	0,872
EL leite/CED ⁸	0,36	0,34	0,02	0,696
EL lactação/CED ⁹	0,65	0,63	0,01	0,519

¹CON - Controle, sem aditivo alimentar; QUIT — (0,02% da dieta ou 4g/kg de MS consumida); ²Erro padrão da média; ³Significância declarada em 0,05; ⁴Consumo energia líquida; ⁵Consumo energia digestível; ⁶Energia líquida; ⁷Energia de lactação disponível para manutenção = EL (ingestão) - EL (Ganho de PV) - EL (leite); ⁸(produção de leite EL + ganho de peso corporal EL) / ingestão de energia digestível. ⁹EL para desempenho de lactação (EL produção de leite + ELE ganho de PV)

8. CONCLUSÃO

A inclusão de quitosana não promove mudanças na produção e composição do leite de vacas Jersey em lactação. De forma semelhante, a quitosana no nível avaliado, não altera os parâmetros de dinâmica ruminal e o balanço de energia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C.; SANTOS, M. C. B.; GARDINAL, R.; CÔNSOLO, N. R. B.; CALOMENI, G. D.; FREITAS JUNIOR, J. E.; BARLETTA, R.V.;

- GANDRA, J. R.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F. P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 206, p. 114-118, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **Official Methods of Analysis**, 19th ed. AOAC International, Washington, DC, 2012.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **Official Methods of Analysis**, 17th ed. AOAC International, Arlington, VA. 2000.
- BALDIN, M.; ZANTON, G. I.; HARVATINE, K. J. Effect of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoate (HMTBa) on risk of biohydrogenation-induced milk fat depression. **Journal of dairy science**, v.101 n.1, p.376-385. (2018).
- BARLETTA, R. V.; GANDRA, J. R.; BETTERO, V. P.; ARAÚJO, C. E.; DEL VALLE, T. A.; DE ALMEIDA, G. F.; RENNÓ, F. P. Ruminal biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows: Oilseed provides ruminal protection for fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v.219, p.111-121, 2016a.
- BARLETTA, R.V.; GANDRA, J. R.; FREITAS JUNIOR J. E.; VERDURICO, L. C.; 1 , MINGOTI, R. D.; BETTERO, V. P.; BENEVENTO, B. C.; VILELA, F. G.; RENNO, F. P. High levels of whole raw soya beans in dairy cow diets: digestibility and animal performance. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 6, p. 1179-1190, 2016b.
- BAUMAN, Dale E.; GRIINARI, J. Mikko. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual review of nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203-227, 2003.
- BETTERO, V. P.; DEL VALLE, T. A.; BARLETTA, R. V.; ARAÚJO, C. E.; JESUS, E. F.; ALMEIDA, G. F.; TAKIYA, C. S.; ZANFERARI, F.; PAIVA, P. G.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P. Use of protected fat sources to reduce fatty acid biohydrogenation and improve abomasal flow in dry dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 30-38, 2017.
- BUCCIONI, A.; DECANDIA, M.; MINIERI, S.; MOLLE, G.; CABIDDU, A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, n.1-2, p.1-25, 2012.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. D. C.; PEREIRA, J. C.; CUNHA, M. D.; DETMANN, K. D. S. C.; PAULINO, M. F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.

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

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

COSTA, Thiago Brandão da. Uso de aditivos em suplementos para bovinos recriados em pastagem. 2015.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

GOIRI, I.; INDURAIN, G.; INSAUSTI, K.; SARRIES, V.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. Ruminant biohydrogenation of unsaturated fatty acids *in vitro* as affected by chitosan. **Anim. Feed Sci. Technol.** 159, 35–40, 2010^a.

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. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.151, p.215–227, 2009.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

JACAÚNA, A. G. Avaliação *in vitro* da quitosana como aditivo em dietas para ruminantes. (2016).

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

JOUANY, J.-P.; MORGAVI, D. P. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v. 1, n. 10, p. 1443-1466, 2007.

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

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

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

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

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

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

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

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

MAGALHAES, T. S.; CARVALHO, G. G. P.; SANTOS, E. M.; JÚNIOR, J. F.; PINA, D. S.; PINTO, L. F. B.; LEITE, L. C. Effect of cottonseed processing and chitosan

supplementation on lamb performance, digestibility and nitrogen digestion. **The Journal of Agricultural Science**, v.157, n.7-8, p.636-642, 2019.

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

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

MERTENS, Leonard. Competencia laboral: sistemas, surgimiento y modelos. 1996.

MINGOTI, R.D.; FREITAS, J. E.; GANDRA, J.R.; GARDINAL, R.; CALOMENI, G.D.; BARLETTA, R.V.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F.P. Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in Holstein dairy cows. **Livestock Science**, v. 187, p. 35-39, 2016.

National Research Council (US). Committee on the Nutrient Requirements of Small Ruminants, Board on Agriculture, Division on Earth, & Life Studies. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids.** (2007).

NRC 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7th rev. ed.), **Natl. Acad. Sci.**, Washington, DC (2001)

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

PAIVA, P. G.; JESUS, E. F.; DEL VALLE, T. A.; ALMEIDA, G. F.; COSTA, A. G. B. V. B.; CONSENTINI, C. E. C.; ZANFERARI, F.; TAKIYA, C. S.; BUENO, I. C. S.; RENNÓ, F. P. Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 301-307, 2016.

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

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

PEREIRA D.C.; GOES R.H.; DE TEB D.E.; MARTINEZ A.C.; GANDRA J.R.; PRESENDO E.; SANTOS M.V.D.; OLIVEIRA R.T.; SILVA N.G.D.; RIBEIRO M.G.; ALVEZ JLR. 2019. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut-shell liquid as additives for ruminants. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.20, p.01-12, 2019.

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

RENNÓ, F. P.; FREITAS JÚNIOR, J. E. D.; GANDRA, J. R.; VERDURICO, L. C.; SANTOS, M. V. D.; BARLETTA, R. V.; VILELA, F. G. Fatty acid profile and composition of milk protein fraction in dairy cows fed long-chain unsaturated fatty acids during the transition period. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v42, p.813-823, 2013.

RENNÓ, F. P.; ARAÚJO, A. P. C.; VENTURELLI, B. C. et al. Novos desafios da pesquisa Pirassununga: Editora 5D,. cap. 6, p. 117-139, 2011.

RIBEIRO, C. V. D. M.; EASTRIDGE, M. L. ; FIRKINS, J. L. ; ST-PIERRE, N. R. ; PALMQUIST, D. L. . Kinetics of Fatty Acid Biohydrogenation In Vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1405-1416, 2007.

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

ROSSI, L. G. FIORENTINI, G.; VIEIRA, B. R.; NETO, A. J.; MESSANA, J. D.; MALHEIROS, E. B.; BERCHIELLI, T. T. Effect of ground soybean and starch on intake, digestibility, performance, and methane production of Nelore bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 226, p. 39-47, 2017.

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

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

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

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

SHINGFIELD, K. J.; BERNARD, L.; LEROUX, C.; CHILLIARD, Y. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. **Animal**, v.4, n.7, 1140-1166, 2010.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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