

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ANDRESSA ALAINE MICHAIOFF

**ÓLEOS FUNCIONAIS A BASE DE MAMONA E DE CASCA DE CASTANHA
DE CAJU NA DIETA DE OVINOS**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2017

ANDRESSA ALAINE MICHAILOFF

**ÓLEOS FUNCIONAIS A BASE DE MAMONA E DE CASCA DE CASTANHA
DE CAJU NA DIETA DE OVINOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientador: Prof^ª Dr^ª. Magali Floriano da
Silveira

DOIS VIZINHOS

2017

M621o Michailoff, Andressa Alaine.

Óleos funcionais a base de mamona e de casca de castanha de caju na dieta de ovinos / Andressa Alaine Michailoff – Dois Vizinhos, 2017.
99f.:il.

Orientador: Magali Floriano da Silveira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Dois Vizinhos, 2017.
Bibliografia p.65-69

1. Ovinos – Nutrição 2. Ovinocultura – Criação
I. Silveira, Magali Floriano da, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos III. Título

CDD: 636.311



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° 082

Óleos funcionais a base de mamona e casca de castanha de caju na dieta de ovinos

Andressa Elaine Michailoff

Dissertação apresentada às oito horas e trinta minutos do dia vinte e três de fevereiro de dois mil e dezessete, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho

Banca examinadora:

Emilyn Midori Maeda
UTFPR-DV

Ana Carolina Fluck
UTFPR-DV

Jorge Schafhauser Junior
EMBRAPA

Prof. Dr. Douglas Sampaio Henrique
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

À Deus,

Que sempre iluminou meu caminho nesta jornada, pela força espiritual para a realização deste trabalho.

“Deem graças ao Senhor porque ele é bom, o seu amor dura para sempre” (Sl 107)

Graças a Deus por seu dom indescritível! (2 Coríntios 9:15)

Aos meus pais

Lenoir e Neiva Faé Michailoff

Meus exemplos de força, caráter e bondade, de quem recebi o aprendizado dos meus maiores valores. Seus ensinamentos e o amor de vocês me conduziram e me fortaleceram para que eu me tornasse a pessoa que hoje sou.

“ Ouça, meu filho, a instrução de seu pai e não despreze o ensino de sua mãe”

(Provérbios 1:8)

À minha avó

Virginia Michailoff (*in memoriam*)

Pelos exemplos de honestidade, persistência, e trabalho árduo.

“Não se morre quando se é amado, fica-se eternizado nas lembranças e nos ensinamentos, por que o amor tudo pode, e só ele é capaz de manter vivo quem amamos”.

Aos meus irmãos

Adriane Albani e André Michailoff

Pelo ombro amigo, pelo incentivo, apoio e por todo o amor que sempre me deram.

“Vocês são a melhor ponte com o meu passado e certamente, juntos seremos nosso maior elo de apoio no futuro”

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

À Deus, por iluminar o meu caminho marcando minha vida com realizações diárias, que às vezes não dou o devido valor, mas eu sei que a graça de Deus se faz presente em todos os momentos.

À minha família, pedra fundamental da minha escolaridade. Aos meus pais e irmãos, por todo o amor, carinho, incentivo e paciência. Sem vocês este caminho não teria sido trilhado. Obrigada por cada telefonema mãe, por cada mensagem de áudio pai, e por cada recado meus irmãos, me dando força e me lembrando que eu seria capaz. Vocês sempre serão minha base.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos através do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade concedida, por ter-me possibilitado somar tantos conhecimentos a minha carreira desenvolvendo esta pesquisa.

À Prof. Magali F. da Silveira, por ter aceitado o desafio de me orientar, pela firme conduta não só na elaboração desta dissertação, como também nos valores e princípios. Obrigada pelas direções, colocações, lições de vida e pela orientação, compreensão e tolerância.

A Dra. Roberta Farenzena pela grande ajuda contruindo em meu desempenho e em meu crescimento profissional, e por ser também uma grande amiga. Suas experiências compartilhadas e seu auxílio foram fundamentais para a realização deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia que de alguma forma contribuíram para minha formação. Meu obrigada, a estes professores que destinaram parte de seu precioso tempo para colaborarem com seus ensinamentos.

Aos amigos e colegas de mestrado pelo incentivo, apoio e conversas descontraídas durante esta longa trajetória. Especialmente Cassiano Lorensetti e Marcio Simionatto, pela ajuda no “start” do experimento e metodologias laboratoriais, e a Lucas Felipe Francisco, Bruno Damo, Patrícia Romani e Ana Carolini Sordi pelo trabalho árduo desempenhado na execução da pesquisa a campo.

Às minhas grandes companheiras neste percurso dos dois anos, Talita Cristina Tafarel, Francieli Sordi Lovatto e Ana Carolini Sordi. Além de dividirmos a mesma

moradia, dividimos momentos de aflições e conquistas. Vocês foram presentes que esta jornada me deu.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior) pela concessão de bolsa de estudos.

A empresa Natupremix pelo fornecimento do produto e auxílio prestado.

À todas as pessoas que de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente e estiveram presentes nesta caminhada.

Muito obrigada.

*É preciso amor pra poder pulsar,
É preciso paz pra poder sorrir,
É preciso a chuva para florir...
.... Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada eu vou
Estrada eu sou...
(Renato Teixeira)*

MICHAILOFF, Andressa Alaine. **Óleos funcionais a base de mamona e casca de castanha de caju na dieta de ovinos**. 2017. 99 folhas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de óleos funcionais extraídos da mamona (*Ricinus communis L.*) e da casca da castanha do caju (*Anacardium occidentale L.*) sobre consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana em ovinos. Foram utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida, fistulados no rúmen, com peso vivo médio de 49,1 kg em um delineamento experimental quadrado latino 4 x 4, sendo os tratamentos a inclusão de 2, 4 e 6 g/animal/dia de óleos funcionais e o tratamento testemunha sem a inclusão do óleo. Após 21 dias para adaptação dos animais, o experimento foi conduzido em quatro períodos de 20 dias, sendo 15 para adaptação a dieta e cinco para coletas de amostras e dados. A digestibilidade aparente dos componentes da dieta, e os parâmetros ruminais: amônia, açúcares totais, peptídeos e aminoácidos não foram influenciados pelos tratamentos. O pH apresentou efeito cúbico com maiores valores observados com suplementação de 4,7g/dia e o menor valor com 1,4 g/dia de óleos funcionais. Ao longo do dia, a concentração de açúcares apresentou efeito quadrático aumentando nas primeiras horas após a alimentação. Houve efeito linear ao longo do tempo para as concentrações de peptídeos no fluido ruminal de ovinos recebendo 2g/dia de óleos funcionais, para as concentrações de aminoácidos nos ovinos não suplementados com óleos funcionais e para amônia, neste mesmo tratamento com variação de 9,85 mg/dL à 25,29mg/dL. Da mesma forma, o pH ruminal também variou em função do tempo de forma linear após alimentação para todos níveis de suplementação, com aumento nas duas horas após arraçoamento seguindo de decréscimo por pelo menos 6 horas, e evidenciando menor valor de pH de 5,78. Não foi verificada alterações no consumo e balanço de nitrogênio, com valores médios de nitrogênio retido de 24,5 g/dia, correspondendo a 65,07% do nitrogênio ingerido. Os derivados de purina excretados corresponderam a proporção de 51% de alantoína e 48% de ácido úrico, xantina e hipoxantina e não evidenciaram alterações na síntese microbiana.

Palavras-chave: N-amoniaco. Óleo de rícino. Óleo de casca de castanha de caju. Síntese microbiana

MICHAILOFF, Andressa Elaine. **Functional oils based on castor bean and cashew nuts in the diet of sheep.** 2017. 99 sheets. Dissertation (Master in Animal Science). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of different levels of functional oils extracted from castor bean (*Ricinus communis L.*) and cashew nuts (*Anacardium occidentale L.*) on nutrient intake and digestibility, ruminal parameters and microbial protein synthesis in sheep. Four male, castrated, undefined, rumen fistulated sheep were used, with a mean live weight of 49,1 kg in a 4 x 4 Latin square experimental design, with treatments being included of 2, 4 and 6 g/animal/day of functional oils and the control treatment without the addition of the oil. After 21 days for adaptation of the animals, the experiment was conducted in four periods of 20 days, 15 for adaptation to diet and five for collection of samples and data. The apparent digestibility of dietary components and ruminal parameters: ammonia, total sugars, peptides and amino acids were not influenced by the treatments. The pH had a cubic effect with higher values observed with supplementation of 4,7 g/day and the lowest value with 1,4g/day of functional oils. Throughout the day, the concentration of sugars presented quadratic effect increasing in the first hours after the feeding. There was a linear effect over time for the concentrations of peptides in the ruminal fluid of sheep receiving 2g/day of functional oils, for amino acid concentrations in sheep not supplemented with functional oils and for ammonia, in this same treatment with a variation of 9,85mg/dL to 25,29mg/dL. In the same way, the ruminal pH also varied as a function of time in a linear way after feeding for all levels of supplementation, with increase in the two hours after feeding, followed by decreasing for at least 6 hours, and evidencing a lower pH value of 5,78. No changes were observed in nitrogen consumption and nitrogen balance, with mean values of nitrogen retained of 24,5g/day, corresponding to 65,07% of the ingested nitrogen. Excreted purine derivatives corresponded to the proportion of 51% allantoin and 48% uric acid, xanthine and hypoxanthine and did not show changes in microbial synthesis.

Keywords: N-ammoniacal. Castor oil. Oil of cashew nuts. Microbial synthesis

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - VARIAÇÃO DO PH RUMINAL EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS ALIMENTADOS COM FENO DE TIFTON 85 E CONCENTRADO..	54
FIGURA 2 - VALORES DE PH RUMINAL EM FUNÇÃO DO TEMPO DURANTE O PERÍODO DE 24H APÓS FORNECIMENTO DE ALIMENTAÇÃO PARA OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS.	54
FIGURA 3 - VARIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES N-AMONIACAL AO LONGO DE UM PERÍODO DE 24 HORAS, EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS. ALIMENTAÇÃO FORNECIDA ÀS 8 E 16 H..	55
FIGURA 4 - CONCENTRAÇÕES DE AÇÚCARES TOTAIS AO LONGO DE UM PERÍODO DE 24 HORAS, EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS. ALIMENTAÇÃO FORNECIDA ÀS 8 E 16 HORAS.....	56
FIGURA 5 - CONCENTRAÇÕES DE PEPTÍDEOS AO LONGO DE UM PERÍODO DE 24 HORAS, EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS. ALIMENTAÇÃO FORNECIDA ÀS 8 E 16 HORAS.....	57
FIGURA 6 - CONCENTRAÇÕES DE AMINOÁCIDOS AO LONGO DE UM PERÍODO DE 24 HORAS, EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS. ALIMENTAÇÃO FORNECIDA ÀS 8 E 16 HORAS.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL DOS INGREDIENTES DA DIETA EXPERIMENTAL DE OVINOS E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA NA BASE DE MATÉRIA SECA DA DIETA BASAL FORNECIDA AOS OVINOS.	49
TABELA 2 - CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES EM DIETAS DE OVINOS COM ADIÇÃO DE DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS ALIMENTADOS COM FENO DE TIFTON 85 E CONCENTRADO.	53
TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES RUMINAIS DE N-AMONIACAL, AÇÚCARES, pH, A-AMINO E PEPTÍDEOS EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS.	55
TABELA 4 - MÉDIAS DA INGESTÃO, EXCREÇÃO, RETENÇÃO DE NITROGÊNIO EM GRAMAS POR DIA E PERCENTUAL DO NITROGÊNIO RETIDO EM RELAÇÃO AO INGERIDO EM DIFERENTES NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEOS FUNCIONAIS A OVINOS.	58
TABELA 5 - MÉDIAS DA EXCREÇÃO DIÁRIA ALANTOÍNA, ÁCIDO ÚRICO, DERIVADOS DE PURINAS, PURINAS ABSORVIDAS E NITROGÊNIO MICROBIANO EM OVINOS SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS FUNCIONAIS.	59

LISTA DE SIGLAS

AA	aminoácidos livres
ACU	ácido úrico
AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
AGI	ácido graxo insaturado
AGVs	ácidos graxos voláteis
ALAN	alantoína
AOAC	Association Of Official Analytical Chemists
ATP	adenosina trifosfato
CFDA	consumo fibra em detergente ácido
CFDN	consumo fibra em detergente neutro
CH ₄	metano
CMO	consumo matéria orgânica
CMOD	matéria orgânica digestível
CMS	consumo matéria seca
CNDT	nutrientes digestíveis totais
CNF	carboidratos não fibrosos
CNSL	<i>“cashew nut shell liquid”</i>
CO ₂	gás carbônico
DFDN	digestibilidade fibra em detergente neutro
DMO	digestibilidade matéria orgânica
DMS	digestibilidade matéria seca
DN	digestibilidade nitrogênio

DP	derivados de purina
DVMO	digestibilidade verdadeira da matéria orgânica
DVN	digestibilidade verdadeira do nitrogênio
FDA	fibra em detergente ácido
FDN	fibra em detergente neutro
H ₂	gás hidrogênio
LCC	líquido de castanha de caju
LDA	lignina
MO	matéria orgânica
MS	matéria seca
N	nitrogênio
N total	nitrogênio total
NDT	nutrientes digestíveis totais
NIDA	nitrogênio indigestível em detergente ácido
NIDN	nitrogênio indigestível em detergente neutro
NM	nitrogênio microbiano
Nmic	nitrogênio microbiano
NNH ₃	amônia
NNP	nitrogênio não protéico
NRC	National Research Council
OE	óleos essenciais
OF	óleo funcional
PA	purinas absorvidas
PB	proteína bruta

PDR	proteína degradada no rúmen
Pmic	proteína microbiana
PNDR	proteína não degradável no rúmen
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal Paraná
HX	Hipoxantina

LISTA DE ACRÔNIMOS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CPAA	Coordenação de Fiscalização de Alimentos para Alimentação Animal
DFIP	Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários
INRA	Sistema de Avaliação de Alimentos para Ruminantes
IPCS-INCHEM	Internacional Programme on Chemical Safety – International chemical
UE	União Européia
UNEPE	Unidade de Ensino e Pesquisa

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
°C	centígrados
g animal dia	gramas por animal por dia
g kg ⁻¹	gramas por quilo
g kg ^{0,75}	gramas por quilo de peso metabólico
g kg ⁻¹ do N total	gramas por quilo do nitrogênio total
g kg ⁻¹ na MS	gramas por quilo na matéria seca
mg kg ⁻¹ da MS	miligramas por quilo de matéria seca
mg de vaca ⁻¹ dia ⁻¹	miligramas por vaca por dia
mg dL ⁻¹	miligramas por decilitro
mg d ⁻¹	miligramas por dia
kg de MOD	quilos de matéria orgânica digestível
kg de MS	quilos de matéria seca
kg PV dia ⁻¹	quilos por peso vivo por dia
mL	Mililitros
mmol dia ⁻¹	milimol por dia
mol L ⁻¹	mol por litro
%	Percentual
% PV	percentual de peso vivo
PV ^{0,75}	peso metabólico

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE I - CONSUMO DE NUTRIENTES.	72
APÊNDICE II - DIGESTIBILIDADE	73
APÊNDICE III - CONCENTRAÇÕES DE PARÂMETROS RUMINAIS.	73
APÊNDICE IV - DERIVADOS DE PURINA	78
APÊNDICE V - COMPOSTOS NITROGENADOS	78

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Normas para publicação de artigos científicos da revista Brasileira de Zootecnia

ANEXO B. Protocolo de aprovação de projeto Comitê Ética de Uso Animal – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES.....	21
2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E FUNCIONAIS.....	22
2.2.1 Óleo da Casca da Castanha do caju (<i>Anacardium occidentale</i>).....	24
2.2.2 Óleo de Mamona (<i>Ricinus communis L.</i>).....	25
2.3 EFEITO DO ÓLEO FUNCIONAL NO CONSUMO E DIGESTIBILIDADE....	27
2.4 EFEITO DO ÓLEO FUNCIONAL NA FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	29
2.4.1 Síntese da proteína microbiana.....	33
2.4 Referências	37
3 DESENVOLVIMENTO	45
Introdução	46
Material e métodos	47
Resultados	52
Discussão.....	59
Conclusão.....	65
Referências	65
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
5 APÊNDICES	71
6 ANEXOS	84

1 INTRODUÇÃO

A alimentação representa o maior percentual de custos de produção, chegando a até 70% do total, deixando claro a necessidade de níveis adequados que buscam a máxima capacidade produtiva de cada animal evitando perdas na lucratividade. Uma alternativa em evidência é a utilização de aditivos alimentares, que são definidos como ingredientes dietéticos, contendo ou não nutrientes, com o intuito de produzir melhores respostas no desempenho animal e sanidade através de melhor ingestão, digestão e absorção dos nutrientes disponíveis ou pela eficiência da utilização desses.

A modulação ruminal é o principal mecanismo de atuação em que os aditivos têm sido empregados, pois a modificação do processo de fermentação no rúmen pode melhorar a utilização dos nutrientes da dieta com menores perdas energéticas, menor degradação da proteína verdadeira, e diminuição dos distúrbios metabólicos resultando em aumento da eficiência alimentar. Contudo, a otimização da fermentação no rúmen depende do tipo e teor dos alimentos e dos compostos utilizados como modificadores.

Os aditivos são categorizados em ionóforos, antibióticos não ionóforos, supressores de estro, tampões e outros (Oliveira et al., 2005), sendo que alguns deles possuem uso restrito ou proibido. O uso é regulamentado de acordo com a legislação do mercado inserido. A legislação europeia baseia-se no princípio de que apenas os aditivos que foram avaliados cientificamente de sua segurança podem ser utilizados, podendo citar como exemplos os ionóforos (monensina, lasalocida e salinomicina) que são os mais utilizados na produção animal e tem seu uso proibido na União Européia desde 2006.

No Brasil, de acordo com Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários (DFIP) e Coordenação de Fiscalização de Alimentos para Alimentação Animal (CPAA), a proibição do uso abrange a categoria dos anabolizantes para bovinos, hormônios como promotores de crescimento em aves e antimicrobianos como a espiramicina e eritromicina. Outros aditivos foram autorizados para serem utilizados em combinação (como amprólio + etopabato e semduramicina + nicarbazina). Existe atualmente autorização de uso e registro na CPAA/DFIP como aditivos melhoradores de desempenho e anticoccidianos 30 substâncias (princípio ativos) entre eles a flavomicina, lasalocida, monensina e ractopamina (atualização 25/04/2015).

A busca por aditivos alimentares alternativos que desempenhem adequada modulação ruminal conferindo maior eficiência produtiva, têm-se intensificado. Os

extratos naturais e seus compostos secundários estão sendo os aditivos em evidência nas pesquisas, pois além de suas características antimicrobianas já comprovadas, são ditos como aditivos seguros, propiciando maior segurança alimentar dos alimentos fornecidos ao mercado consumidor.

Os óleos funcionais são considerados produtos naturais que se encaixam nesta categoria, com características que os apontam como potenciais moduladores da fermentação ruminal. O óleo de mamona ou rícino e o óleo de casca de castanha de caju também chamado de líquido da casca da castanha do caju (LCC), são os mais destacados como óleos funcionais.

A estes óleos são atribuídos a capacidade de intervenção em processos bioquímicos, apresentando funções anti-inflamatórias, antioxidantes, e antimicrobianas inibindo o desenvolvimento de alguns tipos de bactérias, mudando o perfil de ácidos graxos ruminais e diminuindo a produção de gás metano e perdas metabólicas.

Várias pesquisas sobre estes óleos e seus metabólitos, demonstraram melhora na eficiência da fermentação, redução do estresse nutricional, diminuição da produção de metano, melhora do pH ruminal, incluindo também melhor digestão da fração fibrosa do alimento, resultando em aumento da produtividade (Wallace, 2004, Benchaar et al. 2007, Calsamiglia et al. 2007, Coneglian, 2009, Zawadzki et al. 2015, Cruz et al. 2014).

Contudo, apesar apontarem beneficidade desses óleos, as recomendações de ingestão diária para a ocorrência destes efeitos se mostram abstrusas na literatura evidenciando a necessidade de elucidar níveis ideais e conhecer com trabalhos mais profundos os mecanismos envolvidos, concedendo a produção animal a confiabilidade do uso destes óleos como melhoradores produtivos. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a inclusão de diferentes níveis de óleos funcionais na dieta de ovinos e seus efeitos sobre o consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

A capacidade dos ruminantes de maior aproveitamento de alguns alimentos está relacionada com o processo de fermentação ruminal, realizado pelos microrganismos do rúmen. Em busca de maior eficiência na utilização dos nutrientes da dieta, o uso de aditivos se apresenta como um dos principais mecanismos para amenizar as perdas energéticas e proteicas, e em algumas situações, evitando também distúrbios no ambiente ruminal.

Uma grande variedade de aditivos alimentares considerados capazes de influenciar componentes do metabolismo ruminal estão disponíveis no mercado. Os principais são os ionóforos, aditivos microbianos, suplementos de ácidos graxos, lecitinas, ácidos orgânicos, tamponantes e extratos naturais como taninos, saponinas, óleos essenciais e óleos funcionais.

O desafio econômico de produção, as barreiras sociais que surgiram com o uso de ionóforos em vários países, aliado com as crescentes exigências do mercado consumidor buscando segurança alimentar, induziram as pesquisas à maiores investigações sobre os compostos naturais e seu potencial de uso em dietas de ruminantes.

Os estudos com base em óleos e extratos vegetais vem ganhando destaque, pelas características de atuação e mecanismos ainda não totalmente conhecidos. Com exceção da classe dos aditivos ionóforos que possuem seu mecanismo de ação elucidado, há necessidade de mais estudos para estabelecer doses ajustadas de suplementação, principalmente aos extratos naturais. Isso por que, de acordo com Tedeschi et al. (2011) a diversidade e complexidade estrutural das plantas, é um fator limitante no progresso de pesquisa nesta área do conhecimento.

A importância de saber qual o melhor aditivo para a finalidade desejada é compatível com a necessidade da informação de níveis adequados de suplementação, assim como interações entre aditivo e microbiologia com os demais componentes da dieta e tipos de dieta. E quando se trata de extratos vegetais, as dosagens são condicionadas ao tipo de planta e seus metabólitos secundários a qual está sendo utilizado.

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E FUNCIONAIS

O início da utilização dos extratos vegetais e de suas propriedades aromáticas e antissépticas não é recente. Existem registros do pesquisador Wallach em 1891 caracterizando as propriedades básicas de alguns metabólitos secundários, como canfeno e limoneno (Kubeczka, 2010). Contudo, os primeiros relatos de uso em dietas de ruminantes datam a década de 60, sem muitos avanços neste período, pois na década de 70 houve a aprovação do uso de antibióticos na alimentação animal (Casalmiglia et al. 2007). Foi a proibição do uso dos antibióticos na União Européia nesta última década, que desencadeou o interesse renovado no estudo dos óleos como modificadores microbianos do rúmen, e desde então vários trabalhos foram desenvolvidos descrevendo efeitos positivos (Kubo et al. 1993; Stasiuk e Kozubek, 2010; Zawadzki et al. 2015).

Extratos e óleos vegetais, são frequentemente associados a óleos essenciais. Essa caracterização geral dos óleos como sendo essenciais tem sido equivocada, pois alguns dos óleos utilizados como substitutos de ionóforos não podem ser classificados como óleos essenciais por não serem derivados de essências ou especiarias (Bess et al. 2012).

Óleos essenciais são denominados “óleos” devido à composição lipofílica que apresentam, como uma mistura de terpenóides aromáticos, líquidos e lipofílicos (Kohlert et al. 2000), ainda que quimicamente diferentes da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras (Siani et al. 2000). Possuem funções antimicrobianas e antifúngicas, mas não possuem valor nutricional, pois não são gorduras (Araújo, 2016). Denotam características que lhe conferem caráter de essencialidade das substâncias aromáticas de sua origem. Ou seja, o termo “essencial” não é dito por ser essencial ao organismo como alguns aminoácidos ou ácidos graxos, mas pela “essência” da planta da qual foram extraídos, podendo ser obtidos a partir de diferentes partes, como folhas, raízes e caule.

Murakami et al., (2009) definem como óleos “funcionais”, os óleos que possuem funções além de aporte energético. Roberfroid (2000), estabelece que o alimento funcional deve “conter um componente com efeito seletivo” sobre alguma função do organismo, agregando uma sequela benéfica justificado fisiologicamente como funcional. Para tal, necessariamente o alimento deve ser um derivado de produto natural, ser consumido regularmente como parte da dieta e deve envolver mecanismos específicos sobre a saúde, como prevenir o risco de doenças e melhorar a resistência imunológica

(Jiménez-Colmenero et al. 2001). Neste contexto, vários autores relatam atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antifúngica (Velluti et al., 2003; Rasooli e Abyaneh, 2004) desencadeada pelos compostos secundários existentes nos óleos funcionais.

A capacidade de intervenção nos processos bioquímicos por meio de moléculas ativas que atuam na modulação do metabolismo, ocorre através da interação dos compostos metabólitos dos óleos funcionais com as membranas de células microbianas e assim inibem com diferente poder de alcance algumas bactérias gram-positivas e gram-negativas (Jedlikca, 2009). Isto é devido a característica lipofílica dos óleos funcionais (Benchaar et al. 2008) que lhes permite o rompimento dos lipídios da membrana celular bacteriana e mitocôndrias, desorganizando as estruturas. Segundo Griffin et al. (1999), esta relação que causa modificações de ajustamento na estrutura membranosa, ocasiona expansão e desestabilidade, e conseqüentemente grande aporte energético é requerido para manter o gradiente iônico, reduzindo assim a taxa de crescimento das bactérias, ou até conduzindo-as à morte (Burt, 2004).

Segundo Calsamiglia et al. (2007), as bactérias gram-positivas são mais suscetíveis aos efeitos antibacterianos dos óleos funcionais do que as bactérias gram-negativas, e Burt (2004) esclarece que esse efeito é devido as gram-negativas possuírem dupla camada celular que age como uma barreira, limitando o acesso dos compostos hidrofóbicos.

O óleo de casca de castanha de caju, também conhecido como líquido da casca de castanha de caju (LCC) e o óleo de mamona ou rícino, são considerados óleos funcionais por comprovada atividade antimicrobiana, antifúngica (Novak et al. 1961; Kubo et al. 2003), e anti-inflamatória (Vieira et al. 2001), mas não possuem especiarias e nem essências (Bess et al. 2012). A notoriedade vem através de seus compostos metabólitos, como o ácido anacárdico e o cardanol (extraído do líquido de castanha de caju - *Anacardium occidentale*), e o ácido ricinoileico (extraído da mamona ou rícino - *Ricinus communisc*).

Vários autores em pesquisas sobre estes óleos e seus compostos secundários, como aditivos naturais, descrevem melhora na eficiência da fermentação ruminal, redução do estresse nutricional, diminuição da produção de metano, resultando em aumento da produtividade (Wallace, 2004; Benchaar et al. 2007; Calsamiglia et al. 2007;

Coneglian, 2009; Cruz et al. 2014; Zawadzki et al. 2015). Silva (2014), assegura que os efeitos positivos dos óleos funcionais vão além da melhora do pH ruminal, incluindo também melhor digestão da fração fibrosa do alimento.

2.2.1 Óleo da Casca da Castanha do caju (*Anacardium occidentale*)

O óleo da casca da castanha do caju é também chamado de líquido da casca da castanha do caju (LCC), internacionalmente conhecido como “*cashew nut shell liquid*” (CNSL). O caju é um pseudofruto do cajueiro, uma planta nativa da Amazônia e Nordeste do Brasil, denominada cientificamente de *Anacardium occidentale* L. O LCC é uma das fontes mais ricas de lipídeos de origem natural representando um quarto do peso do fruto (Mazzetto et al. 2009), e é obtido como coproduto do processo de extração da amêndoa durante o beneficiamento da castanha, correspondendo junto com a castanha a 70% do peso total do fruto.

Os métodos de extração do líquido da casca da castanha de caju refletem no produto final, que é alterado de acordo com o processo de obtenção. Os métodos mais relevantes de extração do LCC são a extração a frio, extração quente e extração por solvente (Mazzetto et al. 2009), e o produto final pode ser o LCC natural ou o LCC técnico, sendo o LCC natural resultado da extração a frio com prensa, e o LCC técnico da extração térmico-mecânica ou por solvente. A extração comum no Brasil ocorre através do método térmico-mecânico para obtenção das amêndoas gerando grande quantidade de LCC técnico que é considerado subproduto do agronegócio do caju e, por isso, possui baixo valor agregado (Sarout et al. 2013).

De acordo com Kumar et al., (2002), os principais componentes do LCC natural são o ácido anacárdico (60-65%), cardol (15-20%), cardanol (10%), e traços de metilcardol. O LCC técnico devido ao efeito do calor da extração, contém principalmente cardanol (67,8-94,6%) e cardol (3,8-18,8%), componentes menos influentes que o ácido anacárdico (1,1- 1,7%) (Mazzetto et al. 2009), porém o cardanol exibe propriedades comprovadas contra várias espécies de bactérias e fungos (Boonsai et al. 2014), mesmo com considerável menor eficácia em relação aos ácidos anacárdicos (Himejima e Kubo, 1991).

Estes compostos do líquido de casca de castanha de caju demonstraram possuir fortes propriedades antibacterianas, antiprotozoárias e antifúngicas (Stasiuk e Kozubek,

2010). São caracterizados por possuir propriedades anfipáticas atribuindo a capacidade de atravessar membranas plasmáticas, potencializando suas funções biológicas, sua ação ocorre principalmente contra as bactérias gram positivas incluindo bacilos e estafilococos, devido a sua susceptibilidade aos efeitos antibacterianos dos compostos do LCC (Kubo et al. 1993). Nagaraja e Titgemeyer (2007) descrevem que a inibição da *Streptococcus bovis* contribuem na diminuição de alguns distúrbios metabólicos, como a acidose láctica e o timpanismo.

Jesus et al. (2016), utilizando um composto de LCC com óleo de rícino em vacas em lactação relataram não haver influência no consumo e digestibilidade da dieta, porém observaram alterações no padrão fermentativo do rúmen, com melhor eficiência energética, aumento da produção de propionato, e redução nos níveis de ureia no plasma sanguíneo.

2.2.2 Óleo de Mamona (*Ricinus communis* L.)

O óleo de mamona ou óleo de rícino (“*castor oil*”) é originado das sementes da mamona (*Ricinus communis*). Uma planta com desenvolvimento nativo em várias regiões do Brasil, com afinidade ao clima tropical, quente e úmido, mas também com boa produção em climas temperados. Das sementes é extraído o óleo que corresponde a cerca de 48,6% do peso total do grão, sendo estas as responsáveis pela maior parte da aplicação da mamona (Schneider et al. 2001).

O óleo de rícino pode ser extraído da semente completa ou da baga, e de acordo com o processo de extração é o produto e o subproduto final. No processo de extração de óleo por prensagem, o subproduto é a torta de mamona com alto teor residual de óleo, e na extração por solvente é obtido o farelo, com baixo teor de óleo residual (Santos et al. 2013). O rendimento do processamento das sementes da mamona é de 50% de óleo e 50% de farelo (Beltrão, 2002). Na prensagem a frio, o óleo obtido possui melhores características sendo destinado ao uso medicinal, enquanto que através de solventes orgânicos ou prensas a quente, há maior rendimento, porém, é considerado mais “impuro”. Já no processo misto, com prensas tipo “*expeller*” de extração contínua e solventes, obtém-se o óleo destinado ao uso industrial com no máximo 1% de acidez e 0,5% de impurezas e umidade (Schneider et al. 2001).

A mamona contém a ricina, uma proteína solúvel encontrada principalmente no endosperma da mamona (Bandeira et al. 2004), é também considerada uma potente toxina que representa um dos entraves para sua adoção na alimentação animal (Oliveira et al. 2010). Embora, exista esse fator controverso, o óleo de mamona não é considerado tóxico, pois a ricina não é solúvel em lipídios permanecendo durante a extração na torta ou no farelo (Gaillard e Pepin, 1999). O segundo entrave na utilização do óleo de rícino é pelo seu efeito laxativo quando administrado via oral, sendo sua utilização oral não recomendada. Porém, com menores dosagens se torna biologicamente ativo e seguro quando combinado com o LCC (Purevjav et al. 2013).

Segundo o IPCS-INCHEM (Internacional Programme on Chemical Safety – International chemical) a dosagem recomendada para consumo humano é de 0,7g/kg de peso vivo, correspondendo a 7 kg/ton de ração, dosagem que não seria considerada laxativa (Coneglian, 2009).

O óleo de rícino é composto por uma mistura de triglicerídeos contendo predominantemente, o ácido ricinoleico (85 a 95%) que é muito semelhante ao ácido oleico (Schneider et al. 2001) sendo a única diferença um grupo hidroxilo, e por esta razão também é conhecido como ácido hidroxioleico. Além deste, ocorrem outros ácidos graxos em quantidade inferiores: ácido oleico (3,0%), ácido linoleico (4,2%), ácido linolênico (0,3%), ácido palmítico (1,0%), ácido esteárico (0,7%), ácido eicosanóico (0,3%) e ácido dihidroxiesteárico (Vaismann et al. 2008).

Este óleo é um dos poucos glicerídeos comercialmente disponíveis que contém um hidroxilo funcional e uma porcentagem tão alta de um único ácido graxo (Sarout et al. 2013), com concentração do ácido ricinoleico na semente de mamona correspondendo de 85 a 90 % (Maenz e Forsyth, 2005), apresentando maior densidade e viscosidade em comparação a outros óleos.

O ácido ricinoleico é um ácido graxo insaturado, com provada atividade antimicrobiana contra várias espécies de bactérias e leveduras, sob ótimas condições para crescimento, podendo ser comparadas com a do ácido sórbico (extraído da tramazeira), um ácido graxo insaturado (AGI) com atividade antimicrobiana bem difundida (Novak et al., 1961). Segundo Vieira et al. (2001) e Maenz e Forsyth (2005) o ácido ricinoleico funciona como um ionóforo divalente.

Gandra et al. (2012), avaliando a adição de doses crescentes de ácido ricinoleico em dietas com alto teor de concentrado para novilhos confinados, observaram que a inclusão de 1 a 2 g/animal/dia melhorou o desempenho dos animais, apresentando o óleo de rícino como aditivo modificador de desempenho substituindo ionóforos. Contudo os mesmos autores, afirmam a necessidade que mais estudos devam ser conduzidos para confirmar os mecanismos de ação do óleo de mamona no metabolismo ruminal.

2.3 EFEITO DO ÓLEO FUNCIONAL NO CONSUMO E DIGESTIBILIDADE

O consumo voluntário de alimentos é o principal determinante do aporte de nutrientes e tem efeitos sobre a eficiência com que serão utilizados nos processos metabólicos, sendo caracterizado como protagonista no processo produtivo (Valadares Filho e Pina, 2011). O consumo do alimento é a quantidade total de nutrientes que o animal ingere, porém, o total de nutrientes absorvidos depende da digestibilidade destes nutrientes, e não da própria ingestão.

A ingestão alimentar dos ruminantes é regulada por mecanismos físicos, químicos, metabólicos, neuro-hormonais e pela ingestão de água (Preston e Leng, 1987). Segundo Van Soest (1994), a regulação do consumo é determinada por fatores quimiotáticos em dietas com alta densidade energética, ou pelo enchimento do rumen-retículo em dietas de baixo valor nutricional. Fatores dependentes como espécie, temperatura ambiente, e utilização de aditivos alimentares também interferem na ingestão da dieta (Silva e Leão, 1979).

As limitações físicas estão associadas a capacidade de enchimento ruminal, em que Grovum (1995) descreve que ovinos reduzem o consumo em resposta a distensão do retículo após alimentação, e essa limitação é o resultado da taxa de remoção de digesta do retículo-rúmen pelos processos de digestão, absorção e passagem. A fibra limita a taxa de desaparecimento do conteúdo no trato digestivo, e deste modo Mertens (1986) propôs que o tempo de retenção do alimento é influenciado pelo nível de consumo, características físicas da dieta e tempo de ruminação. Allen (2000), relata que o conteúdo de fibra detergente neutro (FDN) está altamente relacionado com a ingestão alimentar, sendo este o melhor componente para predição de consumo.

Dentre os fatores químicos e metabólicos, o sinal de saciedade é o reflexo do teor de um ou mais metabólitos que elevam sua concentração na corrente sanguínea com

sinalizações ao sistema nervoso central para que o animal pare de se alimentar. Nos ruminantes, o acetato e o propionato exercem função importante nas quantidades de alimento ingeridas (NRC, 2001), e isso se dá através dos quimiorreceptores na parede ruminal que são sensíveis a mudanças de pH, sendo o propionato mais efetivo na redução do consumo (Allen, 2000).

Aos óleos funcionais é atribuído menor sensibilidade dos seus efeitos sobre as bactérias gram negativas, produtoras de ácido propiônico. Deste modo, são beneficiadas com a atuação dos óleos, por estes diminuem a fermentação das bactérias gram positivas (produtoras de acetato, lactato, butirato, metano e H₂), com consequência, ocorre um aumento na proporção de propionato a nível ruminal, acarretando em menor consumo de matéria seca (Russel, 1998).

Dietas ricas em grãos podem ocasionar distúrbios metabólicos aos animais, pelo excesso de carboidratos não fibrosos que induzem a queda do pH do rúmen causando também menor consumo de matéria seca e, especialmente nos pequenos ruminantes por sua maior sensibilidade aos produtos finais da fermentação destes compostos, o ácido láctico, precursores da acidose. Van Soest (1994), descreve que como a fermentação de amido e açúcares diminui o pH por produzir maior quantidade de AGVs, principalmente propionato pela via do ácido láctico, ocorre também diminuição da digestibilidade da fibra.

O ácido ricinoléico, composto secundário do líquido de castanha de caju, possui propriedades que vem sendo correlacionadas com o aumento de energia líquida da dieta através da mudança de perfil de ácidos graxos voláteis gerados no rúmen-retículo e do aumento de aporte aminoácidos dietéticos potencialmente digeríveis no intestino delgado, podendo ocasionar menor consumo e maior digestibilidade (Torrent, 2007).

Tassoul e Shaver (2009) relataram uma redução de 7% na ingestão de matéria seca em vacas de alta produção suplementadas com uma mistura de óleos. Os autores atribuíram esta diminuição da ingestão de matéria seca à baixa palatabilidade dos óleos utilizados. Todavia, Cardozo et al. (2005) pesquisando efeitos de extratos naturais na fermentação microbiana ruminal *in vitro* em dietas de bovinos de corte com alto concentrado (relação volumoso: concentrado de 10:90) relataram aumento do consumo de matéria seca.

Coutinho et al. (2014) avaliando a inclusão de líquido da casca de castanha de caju na dieta de vacas holandesas, com níveis de 0,012%, 0,024% e 0,036% por kg de MS, não observaram alterações no consumo e digestibilidade dos nutrientes. Benchaar et al. (2007) descrevem os mesmos resultados utilizando uma mistura de óleos (750 mg/animal/dia).

Wallace (2004), relata que os óleos possuem propriedade atrativas e palatáveis que influenciam no consumo animal. Coneglian (2009) não observou influência no consumo de bovinos comparando monensina (0,2 g/dia) e óleos funcionais de mamona e caju em diferentes níveis de inclusão (1, 2, 4 e 8 g/dia), esclarecendo ainda que a suplementação foi fornecida aos animais antes das refeições para que não houvesse associação do produto aos alimentos. Da mesma forma, Zawadzki et al. (2015) também relatam ausência de efeitos no CMS, suplementando bovinos precoces terminados em confinamento, com o uso de óleos funcionais de mamona e caju (LCC técnico) (3g/animal/dia) associado ou não ao glicerol.

Resultados semelhantes aos encontrados por Zawadzki et al. (2015) e Coneglian (2009) foram descritos por Sarout et al. (2013) que avaliou a suplementação de óleos funcionais (OF) (1g/kg de MS), monensina (60mg/kg de MS) e salinomicina (60mg/kg de MS) em cordeiros com dieta de alto concentrado (relação de volumoso: concentrado de 20:80), não observando efeitos sobre a ingestão, encontrando diferenças apenas entre tratamentos com monensina em relação ao grupo controle.

Chagas (2011), avaliou um aditivo alimentar contendo extratos de óleos de caju e mamona como opção ao uso de monensina sódica, em rações para bovinos confinados na fase de terminação com doses de 0,3 e 0,5 g/kg de MS. Não foi observado nas dietas com OF alteração no consumo de matéria seca, mas resultaram em um aumento significativo na eficiência alimentar durante o período de adaptação, possivelmente em virtude do aumento numérico no ganho de peso.

2.4 EFEITO DO ÓLEO FUNCIONAL NA FERMENTAÇÃO RUMINAL

A fermentação ruminal é o resultado da atividade microbiológica que converte os componentes consumidos em ácidos graxos de cadeia curta, proteína microbiana, vitaminas do complexo B e K, amônia, metano, dióxido de carbono e hidrogênio (Owes e Goetsch, 1993). Para que ocorra uma adequada fermentação, condições apropriadas de

temperatura, pH, anaerobiose e nitrogênio amoniacal devem ser mantidas no ambiente ruminal oportunizando um bom desenvolvimento e atuação dos microrganismos que fermentam o alimento.

A temperatura do ambiente ruminal oscila entre 38 a 41°C e o seu pH pode variar de 5,5 a 7,0 com menores valores detectados logo após a alimentação (Furlan et al, 2006). Strobel e Russel (1986) e Van Soest (1994), relatam que pH inferior a 6,2 há inibição da atividade das bactérias fermentadoras de celulose e aumento do tempo de colonização para a degradação da parede celular, causando diminuição significativa na eficiência da síntese microbiana. A queda do pH favorece o aumento das bactérias amilolíticas e resistentes a acidez pois para estas bactérias o pH ideal fica em torno de 5,6 (Owens e Goetsch, 1993).

Para Bergmann et al. (1990) a dieta é o fator de maior importância na proporção das diferentes espécies de microrganismos ruminais, uma vez que a quantidade e a composição são variáveis externas e afetam a taxa de digestão, a taxa de passagem e o próprio conteúdo ruminal. Sendo assim, dietas ricas em amido causam diminuição do pH resultando em maior produção de propionato e dietas ricas em volumosos ou componentes que favoreçam a síntese de acetato, geram hidrogênio e dióxido de carbono como coprodutos, com conseqüente aumento da produção de metano (Johnson e Johnson, 1995).

A influência da taxa de passagem é associada ao tipo de alimento da dieta, pois a composição do alimento denota a duração e intensidade da ruminação, que causa maior ou menor fracionamento, tamponamento e diluição do conteúdo ruminal através da saliva. De acordo com Valadares filho e Pina (2011), a diluição do conteúdo ruminal faz com que a concentração dos ácidos no rúmen seja menor em dietas à base de forragens e altas taxas de passagem indicam altas concentrações na produção de acetato.

Os principais produtos gerados pela fermentação ruminal são os ácidos graxos voláteis (AGV's), e metano (CH₄). Os AGVs são os principais subprodutos da fermentação dos carboidratos, e são utilizados como fontes de energia para o metabolismo (Olson et al. 1999) podendo suprir 85% das exigências de energia dos ruminantes (Van Soest, 1994). A concentração e as proporções relativas de AGVs estão relacionadas com a natureza do alimento (Bergmann et al. 1990), porém os AGVs em maior concentração no fluido ruminal são os ácidos acético, propiônico e butírico que podem ser usados para

gerar ATP no metabolismo intermediário (Dijkstra, 1993), sendo o ácido propiônico um precursor de glicose que entra no ciclo da gliconeogênese hepática (Huntington, 1990). Maior produção de propionato em vez de acetato ou butirato proporcionam aumento da eficiência energética, devido ao maior aporte de substâncias gliconeogênicas do ácido propiônico, e à diminuição na perda de energia devido à menor produção de metano. O metano por sua vez é um gás composto de carbono e hidrogênio sintetizado pelas bactérias metanogênicas que utilizam o hidrogênio e dióxido de carbono produzido na fermentação ruminal através da produção de acetato e butirato. A síntese de metano requer presença de ATP, representando perdas de 6% (Silva e Leão, 1979) até 12% (Johnson e Johnson, 1995) da energia bruta da dieta no processo fermentativo.

Segundo Russel et al. (1992), as bactérias ruminais são divididas em dois grupos de acordo com o tipo de carboidrato que utilizam. Os microrganismos que fermentam carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose) crescem mais lentamente e utilizam a amônia para síntese de proteína, enquanto que as que degradam carboidratos não fibrosos (açúcares, amido e pectina) crescem mais rapidamente e utilizam amônia, peptídeos e aminoácidos para sintetizarem proteína. De acordo com Santos e Mendonça (2011), a velocidade de degradação do carboidrato esta diretamente ligado a disponibilidade de energia para a síntese de proteína e conseqüentemente ao crescimento microbiano (Santos e Mendonça, 2011).

A hidrólise ruminal de proteínas gera peptídeos, aminoácidos livres e amônia. A eficiência dessa digestão se relaciona com a solubilidade da proteína dietética e, depende principalmente do equilíbrio entre o aporte ruminal de energia e proteína.

A amônia, principal forma de nitrogênio solúvel presente no fluido ruminal é originada pela desaminação dos aminoácidos ou da conversão das fontes de nitrogênio não proteico (NNP). Russel et al. (1992), corrobora que a produção de amônia está associada a degradabilidade da proteína da dieta, e a liberação de amônia no ambiente ruminal é extremamente rápida quando advinda de fontes de NNP por serem instantaneamente hidrolisadas no rúmen, e incorporada à proteína microbiana.

A concentração mínima de amônia para otimização da síntese microbiana preconizada pelo NRC (1989) e Sater e Slyter (1974) é de 5mg/dL no fluido ruminal. Van Soest (1994) admite 10 mg/dL. Leng e Nolan (1984) sugerem uma média de 15 a 20 mg/dL e Mehrez et al., (1977) com recomendações mais elevadas indicam 23 mg/dL.

Deste modo, o nível mais adequado corresponde a taxa de fermentação dos carboidratos associado à capacidade de síntese proteica das bactérias e sua utilização de amônia, em que o N amoniaco será consequência da disponibilidade desta energia fermentável no rúmen.

Quando a produção de amônia excede a capacidade de utilização através da síntese microbiana, um montante dela se direciona a absorção através da parede ruminal e é transportada pelo sistema porta-hepático para ser convertida em uréia (Russel et al. 1991). Parte desta uréia é lançada na corrente sanguínea podendo retornar ao rúmen via saliva ou por difusão através da parede do rúmen, e esse mecanismo é conhecido como reciclagem no nitrogênio (Zanton e Heinrichs, 2008). A outra parte é eliminada via urina.

As maiores perdas de compostos nitrogenados ocorrem na forma de uréia através da urina, e está ligada à maior degradabilidade da proteína dietética (Russel et al. 1992).

O líquido de castanha de caju, através de seus compostos secundários, inibe bactérias gram-positivas, incluindo bacilos e estafilococos (Kubo et al. 1993). Foi descrito como potenciador na produção de propionato inicialmente por estudo *in vitro* simples (Van Neckel et al. 1971). Watanabe et al. (2010), confirmam que estes compostos atuam na seleção de bactérias ruminais, induzindo mudanças na população da microbiota ruminal, com diminuição do número de protozoários e bactérias produtoras de ácido láctico, aumento das bactérias produtoras de propionato incentivando assim o dissipador de hidrogênio alternativo para metano - propionato. A diminuição na produção de metano também é atribuída a diminuição das bactérias metanogênicas (Shinkai et al. 2012).

De acordo com Frater (2014), o mecanismo de atuação de óleos funcionais pode ser considerado semelhantes aos mecanismos de ação dos ionóforos e dos ácidos graxos poli-insaturados. Como os ionóforos são altamente lipofílicos, dissolvendo-se rapidamente nas membranas das bactérias celulares (Pressman, 1976), o seu mecanismo de ação resulta da interferência no fluxo iônico normal através da membrana dos microorganismos e dissipação do gradiente de prótons e cátions (Bergen e Bates, 1984). Esta interferência é mais efetiva contra as bactérias gram-positivas que além de não possuírem a bicamada lipídica, produzem menos ATP por mol de glicose fermentada, e acabam esgotadas energeticamente tendendo a desaparecer do ambiente ruminal na presença de ionóforos. Desta forma, a efetividade contra as bactérias gram negativas é reduzida, já que estas possuem a camada externa de peptidoglicanas constituídas de

porinas, que dificultado a atuação dos ionoforos através de seu peso molecular (Nagaraja et al. 1997).

Watanabe et al. (2010), em experimento *in vitro* com culturas semicontínuas observou redução de até 70,1% na produção de metano e aumento de 44,4% na produção de propionato.

Shinkai et al. (2012), avaliando vacas não lactantes com suplementação de 4 g 100 kg⁻¹ PV dia de LCC observaram reduções nos níveis produzidos de acetato e aumento do propionato com diminuição na produção de metano de 19,3 a 38,3% por kg de ingestão de matéria seca, sem alterações do pH ruminal nem no consumo e digestibilidade da dieta.

Newbold et al. (2004) comparando ovinos com e sem suplementação de óleos (110 mg d⁻¹) encontraram valor médio de pH de 6,16 no grupo controle e 6,28 (p>0,05) após 2h da alimentação matutina no grupo que recebeu adição de óleo na dieta. A produção amoniacal, e a produção de proteína microbiana também não apresentaram alterações, com valor médio de excreção dos derivados de purina de 10,3 mmol dia⁻¹ apoiando a hipótese do autor de que os óleos têm efeito seletivo sobre a população bacteriana ruminal.

Castillejos et al., (2006) relatam que a utilização de altas dosagens de óleos pode ocasionar inibição da fermentação ruminal e como consequência, redução na concentração total de ácidos graxos voláteis ocasionando aumento do pH, sendo que a inibição da fermentação ruminal do ponto de vista nutricional é indesejável. Benchar et al. (2006) relataram maior pH ruminal em vacas alimentadas com dietas suplementadas com 2 g d⁻¹ de uma mistura comercial de óleos funcionais, do que em vacas alimentadas com dietas sem suplementação.

Porém, Benchar et al. (2007), relataram que os óleos possuem efeitos limitados quando associados a silagem de milho ou alfafa como única fonte de forragem, não apresentando alterações do consumo, digestibilidade, produtos finais de fermentação ruminal, contagem microbiana, e síntese proteica.

2.4.1 Síntese da proteína microbiana

As exigências de proteína dos ruminantes O aporte protéico no intestino dos ruminantes, são o resultado da síntese de proteína microbiana originada da degradação

da proteína ruminal, do nitrogênio endógeno reciclado via saliva, da proteína dietética não degradada no rúmen e da proteína do animal (De Boer et al. 1987). A proteína degradada no rúmen (PDR) fornece peptídeos, aminoácidos livres (AA) e amônia (NNH_3) para o crescimento da microbiota ruminal, e promove a síntese de proteína microbiana no rúmen, sendo uma exigência nutricional dos microrganismos ruminais. A proteína não degradável no rúmen (PNDR) é uma exigência nutricional dos ruminantes, como segunda mais importante fonte de AA e é denominada, proteína metabolizável, atendida pelos aminoácidos absorvidos no intestino delgado. Dessa forma, a PNDR é representada pelo total de aminoácidos provenientes da digestão intestinal da proteína microbiana (Pmic) produzida no rúmen (primeira fonte de proteína metabolizável), da PNDR de origem alimentar (segunda fonte da proteína metabolizável) e da proteína endógena (terceira fonte de proteína metabolizável) (Santos e Mendonça, 2011).

A proteína microbiana é produzida pelos microrganismos ruminais através da energia fermentável da dieta e fonte de nitrogênio (aminoácidos, peptídeos ou amônia) originados da degradação ruminal dos alimentos (Van Soest, 1994). A eficiência microbiana corresponde a Pmic que chega ao intestino resultante da produção de massa microbiana e sua saída ruminal (Sniffen e Robinson, 1987). Van Soest (1994) descreve que são vários os fatores que afetam a síntese microbiana, e Clark et al. (1992), corrobora que diversos elementos interferem no fluxo dos compostos nitrogenado no abomaso.

O consumo, o processamento, alimentos e a relação de fornecimento volumosos e concentrado influenciam diretamente no balanço dos produtos da fermentação no rúmen (Clark et al. 1992). Se não houver digestão ruminal dos carboidratos, haverá redução do crescimento microbiano pela falta do aporte energético e consequente utilização da amônia, com aumento da proteína de escape.

A velocidade e a intensidade de degradação da proteína dietética ruminal afetam diretamente o aporte de aminoácidos para o intestino delgado, assim como a presença de carboidratos, por serem a fonte energética (Pereira et al. 2007) desempenhando importante participação no equilíbrio de proteína: energia ruminal.

Reduções na síntese da proteína microbiana comprometem o desempenho do animal em razão da redução da fermentação ruminal com efeitos no consumo e consequentemente na disponibilidade de energia, qualidade e quantidade de proteína microbiana livre no intestino (Russel et al. 1992). De acordo com Chen e Gomes (1992),

a contribuição da Pmic no fluxo intestinal de proteína é considerada por vários sistemas de avaliação o modo mais constante com base na quantidade de alimento ingerido. Contudo, dados experimentais mostram uma grande variação dessa contribuição microbiana, sendo de 14 a 60 g de N microbiano (NM) por kg de MOD fermentada no rúmen, sendo atribuído essas diferenças a dieta e ao ambiente ruminal (Chen et al. 1996).

O aumento na produção e na passagem de Pmic ruminal para o trato gastrointestinal são as chaves para maximizar a eficiência da produção reduzindo a necessidade de proteína verdadeira na dieta. A quantidade de matéria orgânica digerida no rúmen e a eficiência com a qual os microrganismos ruminais utilizam a energia disponível para seu crescimento, determinam a eficiência da fermentação e consequente síntese de proteína ruminal. Pereira et al. (2007) descreve que a atuação dos óleos funcionais como selecionadores dos microrganismos ruminais que melhoram esta fermentação, a eficiência da síntese microbiana também será beneficiada.

Para determinação da contribuição das proteínas microbianas como fonte de proteína, são utilizados marcadores microbianos ou uso de técnica indireta como a excreção urinária de derivados de purina.

Estimando a síntese microbiana pela técnica dos derivados de purina, assume-se que todos os ácidos nucleicos de origem dietética são degradados no rúmen e que, todos os ácidos nucleicos que deixam o rúmen são essencialmente de origem microbiana. Ou seja, como são de origem predominantemente microbiana, após digestão intestinal e absorção, tais derivados são recuperados na mesma proporção na urina, na forma de alantoína, hipoxantina, xantina e ácido úrico (Perez et al. 1996).

A quantidade de derivados de purina (DP) excretados na urina é diretamente relacionado a quantidade de purinas microbianas absorvidas no intestino (Broderick e Merchen, 1992, Chen e Gomes, 1992). Correlações positivas entre o fluxo de N microbiano e a excreção urinária de DP foram observadas por Puchala e Kulasek, (1992), Johnson et al. (1998) e Vagnoni et al. (1997).

Os derivados de purina estão presentes na urina de ovinos, caprinos, cervídeos e lhamas. Porém, de acordo com Chen e Gomes (1992), a concentração de xantina oxidase no tecido intestinal de ovinos é considerada nula, por isso que os ovinos excretam quantidades substanciais de xantina e hipoxantina (Belenguer et al. 2002).

Chen e Gomes (1992) determinam a proporção de 60 a 80% de alantoína, 10 a 30% de ácido úrico e 5 a 10% de xantina mais hipoxantina nos derivados de purina em ovinos. Os mesmos autores relatam que apesar destas proporções serem muito constantes no animal, na literatura encontram-se valores muito variáveis (Chen e Gomes, 1992).

Kubo et al. (2006), descreve que as propriedades antioxidantes do ácido anarcárdico atuam sobre a enzima urato, diminuindo a formação de ácido úrico associado a possível redução de cálculos renais. Já a atividade antimicrobiana atribuída aos óleos funcionais (Velluti et al. 2003; Rassoli e Abyaneh, 2004) atuam na seleção dos microorganismos fermentadores no rúmen, modificando a microbiota e consequentemente a alíquota das purinas microbianas que são absorvidas no intestino, diretamente relacionados com as purinas excretadas na urina.

Jesus et al. (2016), não encontrou efeito de inclusão de óleo funcional (500 mg kg^{-1} da MS) ou monensina sódica (22 mg kg^{-1} da MS) na dieta de vacas em lactação sobre a excreção total de urina (1 dia^{-1}), nitrogênio e proteína microbiana, e a eficiência de síntese microbiana. Fonseca et al. (2006), relatam valores de excreção de alantoína para caprinos com dietas contendo 11,5 a 17,5% de proteína de 64,5 a 75,9% das purinas totais, e quando expresso em mg/dia os valores variaram de 1970,2 a $2711,5 \text{ mg dia}^{-1}$. Misra et al. (2006), quantificando a síntese microbiana de ovinos com dietas contendo 70% de volumoso observaram que a proporção da excreção de alantoína foi de 77%.

2.4 Referências

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

ARAÚJO, R.C. 2016. Uso de Óleos Essenciais na alimentação de Bovinos Leiteiros. Palestra do V Simpósio Brasil Sul de Bovinocultura de Leite. 8 a 10/nov.

BANDEIRA, D.S.; CARTAXO, W.V.; SEVERINO, L.S. et al. 2004. Resíduo industrial da mamona como fonte alternativa na alimentação animal. In: Congresso Brasileiro De Mamona, 1., Campina Grande. Energia e sustentabilidade: anais. Campina Grande: Embrapa Algodão.

BELENGUER, A.; YAÑEZ, D.; BALCELLS, J. et al. 2002. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. *Livestock Production Science*, 77: 127-135.

BELTRÃO, N.E.M. 2002. Torta de mamona (*Ricinus comunis* L.): fertilizante e alimento. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2002. 6p. (EMBRAPA Algodão. Comunicado técnico, 171).

BENCHAAR, C.; CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; WANG, Y.; BEAUCHEMIN, K. A. and MCALLISTER, T. A. 2007. Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87: 413-419.

BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; FRASER, G.R.; COLOMBATTO, D.; McAALISTER, T. A. and BEAUCHEMIN, K.A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 209-228.

BENCHAAR, C.; DUYNISVELD, J.L. and CHARMLEY, E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 86: 91-96.

BERGMAN, E.N. 1990. Energy contribution of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Revist.*, 70: 567-590.

BESS, F.; FAVERO, A.; VIEIRA, S. L. and TORRENT, J. 2012. The effects of functional oils on broiler diets of varying energy levels. *The Journal of Applied Poultry Research*. 21: 567–578. Doi:10.3382/japr.2011-00481.

BOONSAI, P.; PHUWAPRAISIRISAN, P. and CHANCHAO, C. 2014. Antibacterial activity of a cardanol from Thai *Apis mellifera* propolis. *Int. Journal Medicine Science*, 11: 327–336.

BRODERICK, G.A, and MERCHEN, N.R. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. *Journal Dairy Science*, 75: 2618.

BURT, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of food microbiology*, 94: 223-253.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W. et al. 2007. Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90: 2580-2595.

CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, A. F. and KAMEL, C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal Animal Science*, 83: 2572–2579.

CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S. and FERRET, A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *Journal of Dairy Science*, 89: 2649-2658.

CHAGAS, L.J. 2011. Óleos funcionais como alternativa a ionóforos na alimentação de bovinos de corte. Óleos funcionais como alternativa a ionóforos na alimentação de bovinos de corte. (Doutorando ESALQ-USP). Beef Point. Publicado em 01/11/2011.

CHEN, X.B. and GOMES, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives $\frac{3}{4}$ an overview of technical details. (Occasional publication) International Feed Research Unit. Bucksburn, Aberdeen: Rowett Research Institute.

CHEN, X.B., SAMARAWEEERA, L., KYLE, D.L. et al. 1996. Urinary excretion of purine derivatives and tissue xantine oxidase (EC 1, 2, 3, 2) activity in buffaloes (*Bubalis bubalis*) with special reference to differences between buffaloes and *Bos taurus* cattle. *British Journal of Nutrition*, 75: 317-407

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

CONEGLIAN, S.M. 2009. Uso de óleos essenciais de mamona de caju em dietas de bovinos. Programa de pós-graduação em Zootecnia. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

COUTINHO, D. A., BRANCO, A. F.; SANTOS, G. T. dos; OSMARI, M. P.; TEODORO, A. L and DIAZ, T. G. 2014. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Science, Animal Science*, 36: 311–316.

CRUZ, O. T. B., VALERO, M. V., ZAWADZKI, F., RIVAROLI, D. C., PRADO, R. M., LIMA, B. S. and PRADO, I. N. 2014. Effect of glycerine and essential oils (*Anacardium occidentale* and *Ricinus communis*) on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics of crossbred bulls finished in a feedlot system. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 790-797.

DE BOER, G., MURPHY, J.J., KENNELLY, J.J. 1987. Mobile nylon bag for intestinal availability of rumen undegradable protein. *Journal Dairy Science*, 70:977-982.

DIJKSTRA, J.; VAN ZIJDERVELD, S.M.; APAJALAHTI, J.A.; BANNINK, A.; GERRITS, W.J.J.; NEWBOLD, J.R.; PERDOK, H.B. and BERENDS, H. 2011.

Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. *Animal Feed Science Technology*, 166: 590–595.

FONSECA, C.E.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. 2006. Estimativa da produção microbiana em cabras alimentadas com diferentes teores de proteína na dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 1169-1177.

FRATER, P. 2014. Feed additives in ruminant nutrition: Can feed additives reduce methane and improve performance in ruminants? Agriculture and Horticulture development board. Beef and Sheep Scientist. Disponível em: <<http://beefandlamb.ahdb.org.uk/wp/wp-content/uploads/2013/04/Feed-additives-in-ruminant-nutrition-FINAL.pdf>>. Acesso em 14 de novembro de 2016.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. 2006. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. IN: *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 583p.

GAILLARD, Y. and PEPIN, G. 1999. Poisoning by plant material: review of human cases and analytical determination of main toxins by higher-performance liquid chromatography (tandem) mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 733: 181-229.

GANDRA, J.R.; NUNES GIL, P.C.; CÔNSOLO, N.R.B.; GANDRA, E.R.S and GOBESSO, A.A.O. 2012. Addition of increasing doses of ricinoleic acid from castor oil (*Ricinus communis* L.) in diets of Nellore steers in feedlots. *Journal of animal and Feed Sciences*, 21: 566-576.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L. and LEACH, D.N. 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Frangance Journal*, 14: 322-332.

GROVUM, W.L. 1995. Mechanisms explaining the effects of short chain fatty acids on feed intake in ruminants-osmotic pressure, insulin and glucagon. In: ENGLEHARDT, W.V. et al. *Ruminants physiology: digestion, metabolismo, growth and reproduction*. Ferdinand enke verlag Stuttgart, Germany, 173-197.

HIMEJIA, M and KUBO, I. 1991. Anethole, a synergist of polygodial against filamentous microorganisms. *Journal agriculture food chemistry*, 39: 2290-2292.

HUNTINGTON, G. B. 1990. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: influence of physiological state and nutrition. *Reproduction and Nutrition*, 30: 35-47.

JEDLICKA, M.E. 2009. The effects of functional oils on sensory attributes of beef ribeye steaks. Graduate Theses and Dissertations. Paper 10942. Disponível em: <http://lib.dr.iastate.edu/etd/10942>.

JESUS, E.F de.; DEL VALLE, T.A.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; SILVA, G.G.; NETTO, A.S. and RENN'O, F.P. 2016. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.003>.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; CARBALLO, J. and COFRADES, S. 2001. Healthier meat and meat products: Their role as functional foods. *Meat Science*, 59: 5–13.

JOHNSON, K.A. and JOHNSON, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73: 2483-2492.

JOHNSON, L.M, HARRISON, J.H. and RILEY, R.E. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *Journal Dairy Science*, 81:2408-2420.

KOHLERT, C.; VAN RENSEN, I. and MARZ, R. 2000. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. *Planta medica*, 66: 495-505.

KUBECZKA, K. 2010. History and Sources of essential oil research. In BASER, C.H.C.; BUCHBUER, G. *Handbook of essential oils: science, technology and applications*. Boca raton: CRC Press, p.3-38.

KUBO, I., NIHEI, K. and TSUJIMOTO, K. 2003. Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal Agriculture Food Chemical*, 51: 7624–7628.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T.J. and TSUJIMOTO, K. 2006. Antioxidant activity of anacardic acids. *Food Chemistry*, 99: 555-562.

KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M.; YAMAGIWA, Y.; MERA, H.; TOKUSHIMA, K.; OHTA, S. and KAMIKAWA, T. 1993. Structure-antibacterial activity relationships on anacardic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1016-1019.

KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J. et al. 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut shell liquid. *Journal of agriculture and food chemistry*, 50: 4705-4708.

LENG, R.A. and NOLAN, J.V. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 67: 1072-1089.

MAENZ, D.D. and FORSYTH, G.W. 2005. Ricinoleate and deoxycholate are calcium ionophores in jejunal brush border vesicles. *Journal Membrane Biology*, 70:12-133.

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D. and MELE, G. 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32: 732-741.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. and McDONALD, I. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, 38: 437-443.

MERTENS, D.R. 1986. Effect on physical characteristics, forage particle size and density on forage utilization. In: *Nutrition symposium american feed industry association*, St Louis, Proceeding, p.91.

MISRA, A.K; MISHRA, A.S.; TRIPATHI, O.H.; et al. 2006. Intake, digestion and microbial protein synthesis in sheep on hay supplemented with prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*, Mill) with or without groundnut meal. *Small Ruminant Research*, 63: 125-134.

MURAKAMI, A. E.; SILVA, L. M. G. S. da.; FAVERI, J.C. and TORRENT, J. 2009. Effects of functional oils on chickens challenged with coccidiosis. *Poultry Science*, (Suppl.1), 81: 39.

NAGAJARA, T.G. and TITGEMEYER, E.C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *Journal of Dairy Science*, 90: 17-18.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. et al. 1997. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). *Rumen microbial ecosystem*. London: Blackie, 523-631.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. 6.rev.ed. Washinton, D.C.: 157p.

NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. and WALLACE, R.J. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science*. 114:105-112.

NOVAK, A. F.; CLARK, G.C. and DUPUY, H.P. 1961. Antimicrobial activity of some ricinoleic and oleic acid derivatives. *Journal Am. Oil Chemical Society*. 38: 321-324.

OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S. et al. 2010. In vitro ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. *Animal Feed Science and Technology*, 157: 41-54.

OLIVEIRA, J.S.; ZANINE, A.M. e SANTOS, E.M. 2005. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. *Revista Eletrônica de Veterinária – RedVet*, 6:1-23.

OLSON, K.C.; COCHRAN, R.C.; JONES, T.J. et al. 1999. Effects of ruminal administration of degradable intake protein and starch on utilization of low quality warm season grass hay by beef steers. *Journal of Animal Science*, 77: 1016-1025.

OWENS, F. N. and GOETSCH, A. L. 1993. Ruminal fermentation, In: *The Ruminant Animal: Digestive physiology and nutrition*. D. C. Church (Ed.) Waveland press, New Jersey, 145-171.

PEREIRA, E.S.; MIZUBUTI, I.Y.; PINHEIRO, S.M.; VILLARROEL, A.B.S. e CLEMENTINO, R.H. 2007. Avaliação da qualidade nutricional de silagens de milho (*Zea mays*, L). *Caatinga*, 20:08-12.

PEREZ, J.F., BALCELLS, J., GUADA, J.A. et al. 1996. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. *Br. J. Nut.*, 75:699-709.

- PRESSMAN, B.C. 1976. Biological applications of ionophores. *Annual Review of Biochemistry*, 45:500-526.
- PRESTON, T. R. and LENG, R. A. 1987. *Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Subtropics*. Penambul Books, Armidale, Australia. 245p.
- PUCHALA, R. and KULASEK, G.W. 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and excretion of purine derivatives. *Canadian Journal of Animal Science*, 72: 821-830.
- PUREVJAV, T.; HOFFMAN, M. P.; PAS, A. I.; CONOVER, A. J.; JEDLICKA, M. E.; PRUSA, K.; TORRENT, J.; PUSILLO, G. M. 2013. Effects of functional oils and monensin on cattle finishing programs. *The Professional Animal Scientist*, 29: 426–434.
- RASOOLI, I. and ABYANEH, M.R. 2004. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15: 479-483.
- ROBERFROID, M.B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, 71: 1660-1664.
- RUSSEL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D. G.; SNIFFEN, C.J. and VAN SOEST, P.J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. Ruminal fermentation. *Journal Animal Science*, 70: 3551-3561.
- RUSSEL, J.B.; ONODERA, R. and HINO, T. 1991. Ruminal protein fermentation: News perspectives on previous contradictions. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Ed.) *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. New York, Academic Press, p. 681-697.
- RUSSELL, J.B. 1998. The Importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro. *Journal Dairy Science*, 81: 3222–3230.
- RUSSELL, J.B. and STROBEL, H.J. 1989. Mini-review: The effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 1-6.
- SANTOS, F.A.P. e MENDONÇA, A. 2011. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) *Nutrição de Ruminantes*. 2.ed. Jaboticabal: Funep, p.265-298.
- SANTOS, P. A. et al. 2013. Farelo de mamona na alimentação de não ruminantes. *Revista Eletrônica Nutritime*. Art., 217, 10: 2814-2827.
- SAROUT, B. N. M.; BRANCO, A. F.; OSMARI, M. P.; COUTINHO, D. A.; GARCIA, I. V. C.; SERRANO, R. D. C.; PESQUEIRA, A.; CALDAS, M. B. 2013. Use of functional oils and ionophores in high grain diets for sheep and effects on nutrients digestibility and animal performance. In: 50 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2013, Campinas.

SATTER, L.D. and SLYTER, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal Nutrition*, 32: 1999.

SCHNEIDER, R. C. S.; RODRIGUES, M.M.; PONS, E.L.; MARTINELLI, M.; CAMARÃO, E.B.; KIST, L.T. 2001. Estudio de la composicion e índices físico-químicos del aceite de mamona extraído de variedades cultivadas en el estado do Rio Grande do Sul-Brazil. In: IV Congresso Internacional de Quimica, Havana, Cuba. *Revista Cubana de Quimica*, 13: 416-424.

SHINKAI, T., ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M. and KOBAYASHI, Y. 2012. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *Journal Dairy Science*, 95: 5308–5316.

SIANI, A. C.; RAMOS, M.F.S.; SAMPAIO, A. L.; SOUZA, M. C. and HENRIQUES, M. G. M. O. 2000. Óleos Essenciais: Potencial Antiinflamatório. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento (Impresso)*, 16: 38-43.

SILVA, A.P.S. 2014. Efeito da monensina, da virginiamicina e dos óleos funcionais de mamona e caju em bovinos Nelore submetidos a mudança abrupta para dietas com elevado teor de concentrado. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade de São Paulo, 103p.

SILVA, J.F.C. and LEÃO, M.I. 1979. Fundamentos de nutrição dos ruminantes. Piracicaba: Livroceres, 380p.

SNIFFEN, C.J. and ROBINSON, P.H. 1987. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. *Journal Dairy Science*, 70:425-441.

STASIUK, M. and KOZUBEK, A. 2010. Biological activity of phenolic lipids. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67: 841–86.

TASSOUL, M.D. and SHAVER, R.D. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal Dairy Science*, 92: 1734–1740.

TEDESCHI, L.O.; CALLAWAY, T.R.; MUIR, J.P. and ANDERSON, R.C. 2011. Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, (supl. special), 40:291-309.

TORRENT, J. 2007. Essential: Technical Manual. Oligo Basics USA LLC.

VAGNONI, D.B.; BRODERICK, M.K.; CLAYTON, R.D. et al. 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *Journal of Dairy Science*, 80: 1695-1702.

VAISMAN, B.; SHIKANOV, A. and DOMB, A.J. 2008. The Isolation of Ricinoleic Acid from Castor Oil by Salt-solubility-based Fractionation for the Biopharmaceutical Applications. *Journal of the American oil Chemists' Society*. Doi:10.1007/s11746-007-1172-z.

VALADARES-FILHO, S.C.V. e PINA, D.S. 2011. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) Nutrição de Ruminantes. 2.ed. Jaboticabal: Funep, p.161-192.

VAN NECKEL, C.J., DEMEYER, D.I. and HENDERICKX, H.K. 1971. Effect of fatty acid derivatives on rumen methane and propionate in vitro. *Journal of Applied Microbiology*. 21:365-366.

VAN SOEST, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. Ithaca: Cornell University.

VELUTTI, A.; SANCHIS, V. and RAMOS, A.J. 2003. Inhibitory effect of ninnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose oils on growth and fumonisin production *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, 89: 145-154.

VIEIRA, C., S. FETZER, S. K. SAUER, S. EVANGELISTA, B. AVERBECK, M. KRESS, P. W. REEH, R. CIRILLO, A. LIPPI, C. A. MAGGI, and S. MANZINI. 2001. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: Similarities and differences with capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 364:87-95.

WALLACE, R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63: 621-629.

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FORESTER, R. J. and KOBAYASHI, Y. 2010. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methaneenhancing agent for ruminants. *Journal of Dairy Science*, 93: 5258-5267.

ZANTON, G. I. and HEINRICHS A. J. 2008. Analysis of nitrogen utilization and excretion in growing dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91: 1519-1533.

ZAWADZKI, F.; SILVA, L.G.; STRACK, M.G. et al. 2010. Glicerol e óleos essenciais na dieta de bovinos não castrados precoces Purunã terminados em confinamento sobre o desempenho e ingestão de alimentos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. Anais... Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia.

3 DESENVOLVIMENTO

O desenvolvimento desta dissertação é apresentado em capítulo único, em forma de artigo científico, de acordo com as normas de formatação da Revista Brasileira de Zootecnia, conforme anexo A.

CAPÍTULO ÚNICO: ÓLEOS FUNCIONAIS A BASE DE MAMONA E CASCA DE CASTANHA DE CAJU NA DIETA DE OVINOS.

Resumo: O objetivo foi avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de óleos funcionais extraídos da mamona (*Ricinus communis L.*) e da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale L.*) sobre consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana em ovinos. Foram utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida, fistulados no rúmen, com peso vivo inicial médio de $49,1 \text{ kg} \pm 7\text{kg}$. O delineamento experimental foi quadrado latino 4×4 , sendo os tratamentos a inclusão de 0, 2, 4 e 6 g/animal/dia do óleo funcional. Após 21 dias para adaptação dos animais, o experimento foi conduzido em quatro períodos de 20 dias, sendo 15 para adaptação à dieta e cinco para coletas de amostras e dados. A digestibilidade aparente dos componentes da dieta, e os parâmetros ruminais amônia, açúcares totais, peptídeos e aminoácidos não foram influenciados pelos tratamentos. O pH apresentou efeito cúbico com maiores valores observados com suplementação de $4,7\text{g dia}^{-1}$ e o menor valor com $1,4 \text{ g dia}^{-1}$ de óleos funcionais. Ao longo do dia, a concentração de açúcares apresentou efeito quadrático aumentando nas primeiras horas após a alimentação. Houve efeito linear em função do tempo para as concentrações de peptídeos no fluido ruminal de ovinos recebendo 2g dia^{-1} de óleos funcionais, para as concentrações de aminoácidos nos ovinos não suplementados com óleos funcionais e para amônia, neste mesmo tratamento com variação de $9,85 \text{ mg dL}^{-1}$ à $25,29\text{mg dL}^{-1}$. Da mesma forma, o pH ruminal variou nos diferentes horários de coleta de forma linear após alimentação para todos níveis de suplementação, com aumento nas duas horas após arraçoamento seguindo de decréscimo por pelo menos 6 horas, com menor valor de pH de 5,78. Não foi observadas alterações no consumo e balanço de nitrogênio, com valores médios de nitrogênio retido de $24,5 \text{ g dia}^{-1}$, correspondendo a 65,07% do nitrogênio ingerido. Os derivados de purina excretados corresponderam a proporção de 51% de alantoína e 48% de ácido úrico, xantina e hipoxantina e não evidenciaram alterações na síntese microbiana.

Palavras-chave: Nitrogênio amoniacal. Óleo de rícino. Óleo de casca de castanha de caju. Síntese microbiana.

Introdução

A manipulação dietética é uma das principais ferramentas utilizadas em busca da melhora da eficiência do metabolismo ruminal, remete a uma dieta bem equilibrada que melhora os processos benéficos, minimiza os processos ineficientes, e reduz ou elimina os processos prejudiciais ao animal. A inclusão de aditivos alimentares com potencial de influência sobre a modulação ruminal, vêm mostrando-se ser uma boa alternativa para que estas alterações ocorram.

De acordo com Oliveira et al., (2005), os aditivos podem ser divididos em: ionóforos, antibióticos não ionóforos, supressores, tampões e o outros. Os ionóforos têm desempenhado bom papel minimizando essas perdas energéticas e proteicas no rúmen, resultando em aumento da produtividade animal. Porém, a utilização de antibióticos na alimentação animal vem enfrentando barreiras sociais, e, através deste questionamento, aliado ao crescente interesse do consumidor em sua segurança alimentar, a União Européia (UE) proibiu a utilização de ionóforos na alimentação animal como princípio de precaução, através da Regulamentação 1831/2003/EC.

A procura por compostos naturais capazes de atuar como moduladores da fermentação ruminal, levando a melhores índices produtivos, se mostra é uma atraente alternativa às necessidades de mercado nacional e internacional. Os óleos funcionais são considerados produtos naturais com características que os apontam como potenciais moduladores da fermentação ruminal. Os óleos funcionais extraídos da mamona e de casca de castanha de caju, são os mais destacados e à eles são atribuídos a capacidade de intervenção em processos bioquímicos, com funções anti-inflamatórias, antioxidantes, e antimicrobianas,

inibindo o desenvolvimento de alguns tipos de bactérias, mudando o perfil de ácidos graxos ruminais e diminuindo as perdas metabólicas.

Em pesquisas sobre estes óleos e seus metabólitos, diversos autores descrevem melhora na eficiência da fermentação, redução do estresse nutricional, diminuição da produção de metano, melhora do pH ruminal, aumento digestibilidade da fração fibrosa do alimento, resultando em aumento da produtividade (Wallace, 2004, Benchaar et al. 2007, Calsamiglia et al. 2007, Coneglian, 2009, Cruz et al. 2014, Zawadzki et al. 2015).

Apesar de várias pesquisas apontarem beneficidade desses óleos, as recomendações de ingestão diária para a ocorrência de benefícios é contraditória na literatura, evidenciando a necessidade de esclarecer níveis ideais e avaliar os mecanismos envolvidos, concedendo a produção animal a confiabilidade do uso destes óleos como melhoradores produtivos. Desta forma, o objetivo foi avaliar o efeitos sobre o consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais de diferentes níveis de óleos essenciais na dieta de ovinos fistulados.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino e Pesquisa de Metabolismo Animal e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR-DV), Campus Dois Vizinhos – PR. O experimento a campo foi realizado durante o período de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016 sob parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA em protocolo nº 2015-025.

O delineamento experimental foi quadrado latino 4 x 4, com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram em diferentes níveis de uma mistura comercial de óleos funcionais a base de óleo de mamona e óleo de cascas de castanhas de caju, sendo: 0 g dia⁻¹ = tratamento controle isento de adição de óleo, 2, 4 e 6g dia⁻¹ de

óleos funcionais. Foram fornecidos de modo fracionado antes das refeições, em uma pré-mistura com 100 g do concentrado formulado, garantindo assim a ingestão total dos tratamentos.

Foram utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida, com peso corporal inicial médio de 49,1 kg. Estes animais possuíam fistulas ruminais que foram cirurgicamente inseridas com aprovação do Comitê de Ética da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos sob protocolo nº 2013-002. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de 0,96m² de área útil, providas de comedouro e bebedouro individual, com higienização diária.

Após um período de pré-adaptação de 21 dias, com a finalidade de adaptar os animais ao manejo e as instalações, o experimento foi conduzido em quatro períodos de 20 dias, 15 dias para adaptação às dietas e cinco dias para coletas de amostras (alimento, sobras, fezes, urina, e líquido ruminal). Durante o período de coleta, os animais receberam 90% da ingestão voluntária de ração relativo à dieta com menor consumo durante o período pré-experimental.

A dieta basal foi formulada de acordo com NRC (1989) composta de farelo de trigo, milho moído, farelo de soja e feno de tifton 85 na relação volumoso concentrado de 50:50, nas proporções especificadas da Tabela 1. O feno de tifton foi picado antes do fornecimento aos ovinos, em partículas de 5 a 10 cm em moinho forrageiro, com o objetivo de facilitar a pesagem e mistura ao concentrado para o arraçoamento. O fornecimento da ração foi de modo fracionado em duas refeições diárias, às 8h e às 16h. A dieta fornecida foi ajustada diariamente permitindo entre 5 e 10% de sobras, garantindo assim uma alimentação *ad libitum* durante o período de adaptação.

Amostras do concentrado e do feno foram coletadas ao longo do período experimental e secas em estufa com ventilação forçada a 60°C durante 72 horas e moídas

em moinho de facas tipo Willey providos de peneira com crivos de 1 mm para análises da composição bromatológica dos ingredientes. As sobras foram recolhidas e pesadas a cada dia do período experimental, antes do fornecimento do trato matutino, para determinação do consumo diário.

Tabela 1 - Composição percentual dos ingredientes da dieta experimental de ovinos e composição bromatológica na base de matéria seca da dieta basal fornecida aos ovinos.

Ingredientes	Volumoso	Concentrado
	%	%
Feno de tifton 85	50,00	-
Farelo de trigo	-	36,00
Milho moído	-	11,0
Farelo de soja	-	2,25
Sal	-	0,25
Fosfato Bicálcico	-	0,50
Componentes	Feno Tifton 85	Concentrado
MS (g/kg ⁻¹)	931,0	930,2
Composição (g/kg⁻¹ na MS)		
MO	926,6	927,25
FDN	760,2	415,75
FDA	388,9	100,35
LDA	65,8	58,7
N total	22,1	35,4
Composição (g/kg⁻¹ do N total)		
NIDA	2,6	0,9
NIDN	11,9	8,65

Para determinação da digestibilidade dos nutrientes, foi realizada a coleta total de fezes do 16º ao 20º dia de cada período experimental. As coletas foram realizadas através de sacolas coletoras presas ao animal, sendo retirada uma amostra de aproximadamente 20% do total. As amostras fecais foram secas em estufa de circulação forçada a 60°C

durante 72 horas e moídas em moinho de facas tipo Willey providos de peneira com crivos de 1 mm para análises da composição bromatológica.

No 20º dia de cada período experimental, aproximadamente 20 mL de líquido ruminal foram coletados manualmente. A primeira coleta foi imediatamente antes do fornecimento da primeira refeição do dia, às 8h, sendo escalada no tempo zero, e as próximas, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 e 24 horas após a primeira alimentação. Prontamente após a coleta e filtragem, o pH ruminal foi determinado com utilização de potenciômetro digital (pHmetro Technos).

Uma alíquota de 9 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de ácido sulfúrico 20%, centrifugado a 3000 x g por 20 minutos, pipetado o sobrenadante, e armazenados a -20°C para posterior determinação de N-amoniaco através de técnica descrita por Weatherburn (1967). O mesmo procedimento foi adotado para análise do teor de açúcares totais, determinado pelo método fenol-sulfúrico (Dubois et al. 1956).

Determinando o N peptídico e α -amino, 9 mL de líquido ruminal foram acidificados com 1 mL de Ácido tricloroacético (TCA) 50%, centrifugado a 3000 x g por 20 minutos, pipetado o sobrenadante e armazenados a -20°C para estimativa de N peptídico e α -amino através do Método TNBS (Palmer e Peters, 1969).

Para avaliação de ácido úrico (ACU), alantoína (ALAN), e N_{total} , durante o 16º ao 20º dia cada período, foram realizadas coletas totais de urina através de baldes coletores acoplados nas gaiolas. Cada balde contendo 100 mL de ácido sulfúrico 20% (0,036 mol/L) para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina e precipitação do ácido úrico. O volume total foi aferido diariamente, e sub amostrado uma alíquota de 10 mL que foi filtrada em filtros de papel 50 μ m para desproteinização, diluídas quatro vezes, e armazenada a -20°C para determinação dos compostos. As análises de ALAN na urina foram feitas pelo método colorimétrico conforme técnica de Fujijara et al., (1987),

descrita por Chen e Gomes (1992). As quantificações de ácido úrico foram feitas por meio de kit Comercial (Labtest® – Uric acid liquiform), após incubação com a enzima xantina oxidase em técnica descrita por Chen e Gomes, 1992.

As purinas absorvidas (PA) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP) na urina (soma do total de alantoína e do total de ácido úrico), por intermédio da equação:

$$PA = 0.84DP + (0.150 PV^{0.75} e^{-0.25X})$$

Em que 0,84 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0.150 PV^{0.75} e^{-0.25X}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas, reduzindo-se a zero à medida que são utilizadas purinas exógenas e a síntese de novo de purinas é eliminada gradualmente (Chen e Gomes, 1992).

A síntese microbiana ruminal foi estimada a partir das purinas absorvidas, descrita por Chen e Gomes (1992), por intermédio da equação:

$$SPmic = 70PA / 0.83 \times 0.116 \times 1000$$

Em que 70 é o nitrogênio de purinas, PA são as purinas absorvidas; 0.116, a relação N purina: N total das bactérias; e 0.83, representa a digestibilidade das purinas microbianas.

Nas amostras de alimentos, sobras e fezes foi determinado o teor de matéria seca (MS) por secagem em estufa a 105° C durante pelo menos oito horas e cinzas (MM) por calcinação em mufla a 600° C por quatro horas.

O teor de nitrogênio total (N), foi determinado método de Kjeldahl (método 984.13, AOAC, 1997). Os teores de extrato etéreo (EE) foram obtidos por extração com éter de petróleo a 90° C por uma hora utilizando extrator de gordura XT15 Ankon. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelo analisador automático de fibra Ankom²⁰⁰, utilizando as soluções de

FDN e FDA preparadas por metodologia proposta por Van Soest et al. (1991) e o conteúdo de lignina (LDA) foi quantificado por Robertson e Van Soest (1981) com tratamento em ácido sulfúrico 72%. O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram analisados de acordo com Licitra et al. (1996).

Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos através de método *in vivo* calculado através dos nutrientes consumidos e nutrientes excretados. A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO) foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{DVMO (\%)} = (\% \text{ MO ingerido} - \text{Digestibilidade MO}) / \% \text{ MO ingerido} \times 100.$$

Para cálculo da digestibilidade verdadeira do nitrogênio:

$$\text{DVN (\%)} = (\% N_{\text{ingerido}} - \% \text{NIDN}_{\text{fecal}}) / \% N_{\text{ingerido}} \times 100.$$

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento Mixed do SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC). O modelo matemático utilizado incluiu os efeitos de animais, tratamentos, tempo, considerando aleatório:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}.$$

Onde: μ = médias dos tratamentos, A_i = efeito do animal i , variando de 1 a 4, P_j = efeito do período j , variando de 1 a 4, T_k = efeito do tratamento k , variando de 1 a 4, E_{ijk} = erro aleatório. Quando significativos, os efeitos de tratamentos e tempo foram analisados por regressão.

Resultados

A inclusão de óleo funcional na dieta não afetou o consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (CFDA), carboidratos não fibrosos (CNF), matéria orgânica digestível (CMOD) e

nutrientes digestíveis totais (CNDT) ($P > 0,05$) (Tabela 2). O consumo médio de MS foi de 1454,07 g dia⁻¹.

Tabela 2 - Consumo e digestibilidade dos nutrientes em dietas de ovinos com adição de diferentes níveis de óleos funcionais alimentados com feno de tifton 85 e concentrado.

	Níveis de Óleos Funcionais, g dia ⁻¹				Erro – Padrão
	0	2	4	6	
Consumo (g/dia):					
CMS	1515,4	1432,4	1315,1	1553,4	114,7
CMO	1404,6	1327,6	1218,9	1439,7	106,3
CFDN	882,2	832,5	766,2	904,3	66,8
CFDA	367,5	347,2	319,8	378,4	27,9
CCNF	414,9	393,2	359,3	425,0	31,4
CMOD	994,4	919,6	821,5	993,5	63,2
CMS (% PV)	3,1	2,8	3,0	3,1	3,95
CMO (g kg ^{0,75})	76,5	69,6	71,1	76,5	7,47
CNDT	667,3	653,0	637,6	651,4	37,2
Digestibilidade aparente g/kg ⁻¹ de MS)					
DMS	698,0	679,0	665,0	681,0	4,2
DMO	710,0	695,0	680,0	696,0	3,9
DFDN	706,0	721,0	706,0	694,0	4,3
DVMO	815,0	825,0	815,0	808,0	2,71

Os valores de pH variaram significativamente entre os diferentes tratamentos, apresentando efeito cúbico ($Y=6,22923 - 0,21852x + 0,10222x^2 - 0,01123x^3$; $P = 0,022$). Os maiores e menores valores de pH ruminal (6,29 à 6,09) foram observados com os níveis de suplementação de 4,7g dia⁻¹ e 1,4 g dia⁻¹, respectivamente (Figura 1).

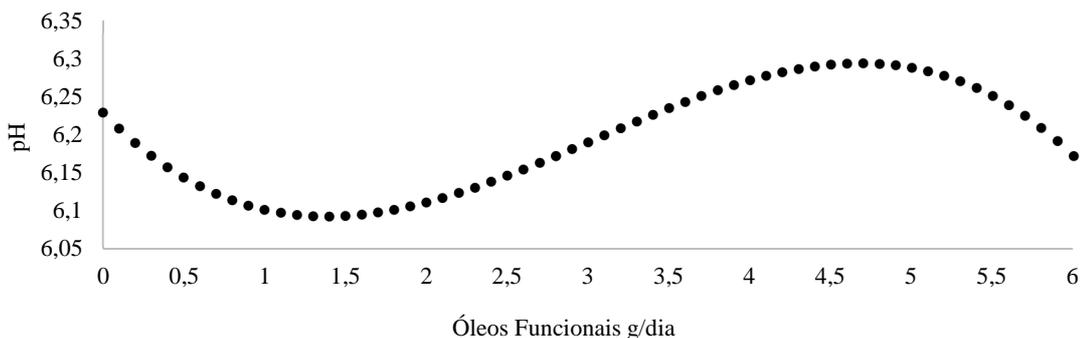


Figura 1 - Variação do pH ruminal em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais alimentados com feno de tifton 85 e concentrado. $y = - 0,0112x^3 + 0,1022x^2 - 0,2185x + 6,2292$.

Quando analisado ao longo do tempo, o pH ruminal apresentou efeito linear após alimentação para todos os níveis de suplementação (Figura 2). Foi observado aumento nas duas horas após arraçoamento, seguindo de decréscimo por pelo menos 6 horas após a alimentação. A faixa de pH encontrada em função do tempo foi de 5,78 a 6,48.

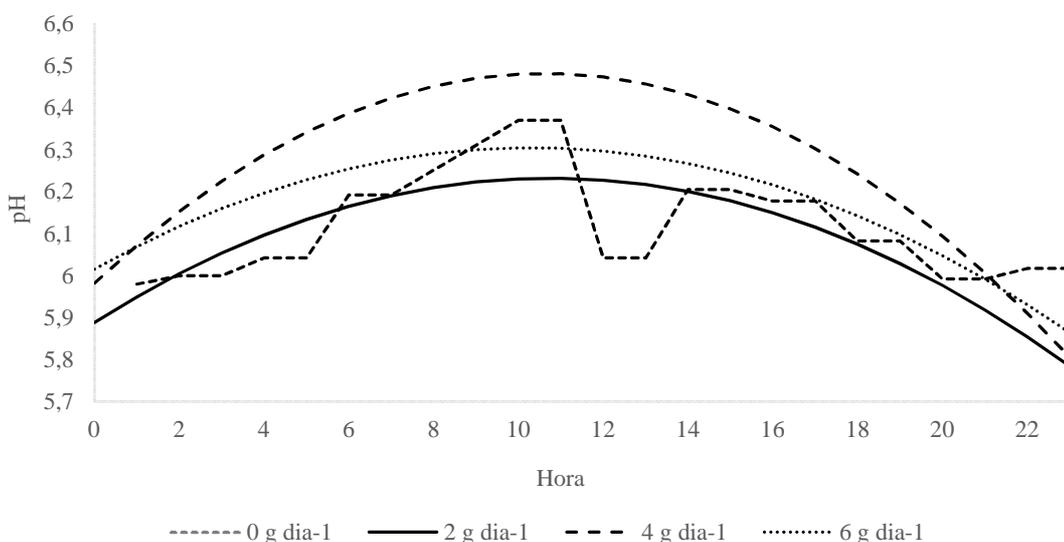


Figura 2 - Valores de pH ruminal em função do tempo durante o período de 24h após fornecimento de alimentação para ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais, $n = 16$. $0 \text{ g dia}^{-1} = \text{NS}$; $2 \text{ g dia}^{-1} y = - 0,0045x + 6,1393$; $4 \text{ g dia}^{-1} y = -0,0077x + 6,3552$; $6 \text{ g dia}^{-1} y = -0,0066x + 6,2461$.

As concentrações médias de N-amoniaco, açúcares, peptídeos e α -amino não apresentaram diferenças em relação aos níveis de óleos funcionais acrescidos ($P > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentrações ruminais de N-amoniaco, açúcares, pH, α -amino e peptídeos em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais.

Parâmetros	Óleos Funcionais (g dia ⁻¹)				Erro Padrão	P
	0	2	4	6		
N-amoniaco	16,87	17,04	14,73	17,53	NS	0,2258
Açúcares	97,43	97,77	87,68	95,52	NS	0,1741
Peptídeos	81,25	74,86	77,40	76,73	NS	0,5268
α -amino	33,56	30,98	31,34	32,41	NS	0,6786

Houve efeito linear para as concentrações de N-amoniaco em função do tempo ($P < 0,05$) com variação de 9,85 mg dL⁻¹ à 25,29 mg dL⁻¹ (Figura 3).

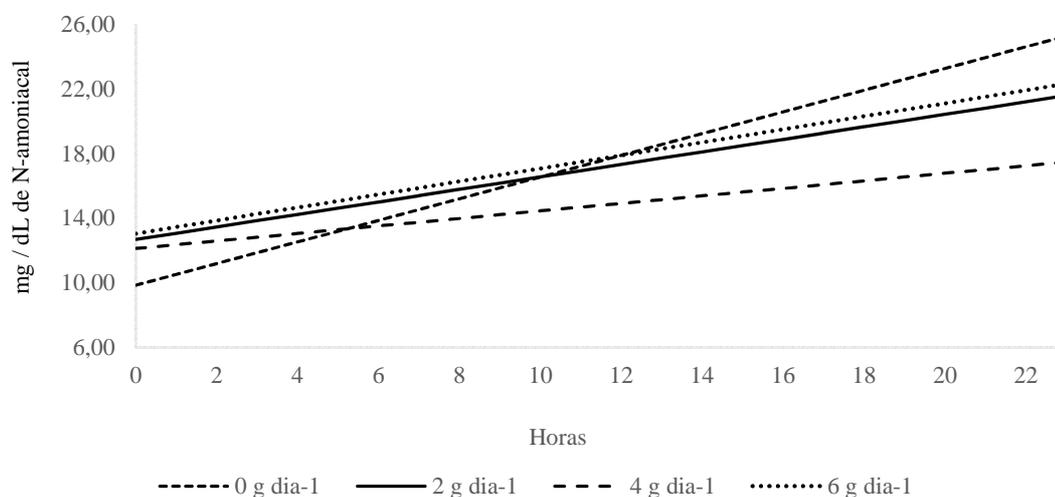


Figura 3 - Variação das concentrações N-amoniaco ao longo de um período de 24 horas, em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais. Alimentação fornecida às 8 e 16 h. 0 g dia⁻¹ $y = 0,671x + 9,8548$; 2 g dia⁻¹ $y = 0,3873x + 12,684$; 4 g dia⁻¹ $y = 0,2328x + 12,134$; 6 g dia⁻¹ $y = 0,4034x + 13,059$.

A concentração de açúcares variou com efeito quadrático ($P < 0,05$) aumentando nas primeiras horas após a alimentação e, a seguir, retornando aos valores pré-alimentares

(Figura 3). As maiores concentrações de açúcares foram observadas sete horas após alimentação vespertina, e as menores três horas após o fornecimento da dieta matutina, com variação de $75,16\text{mg dL}^{-1}$ à $149,65\text{mg dL}^{-1}$ (Figura 4).

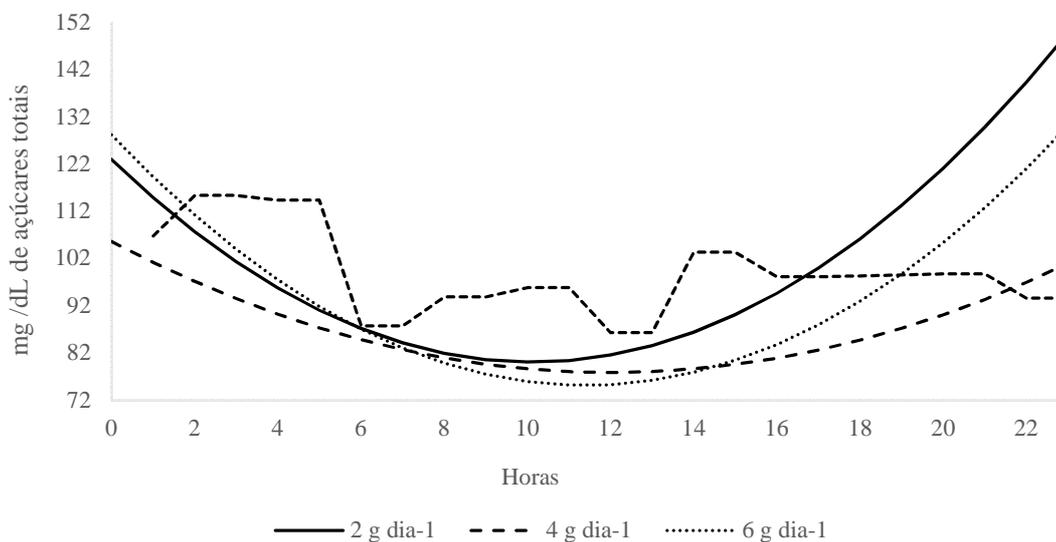


Figura 4 - Concentrações de açúcares totais ao longo de um período de 24 horas, em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais. Alimentação fornecida às 8 e 16 horas. $0\text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$; $2\text{ g dia}^{-1} = 1,1621x + 87,541$; $4\text{ g dia}^{-1} y = -,2006x + 89,377$; $6\text{ g dia}^{-1} y = 0,0844x + 93,705$.

A concentração de peptídeos variou linearmente ao longo do tempo ($Y = 63,67889 + 2,01019x$, $P < 0,05$) com o fornecimento de 2 g dia^{-1} de óleos funcionais (Figura 5), em valores que variaram de $63,67\text{ mg dL}^{-1}$ a $109,91\text{ mg dL}^{-1}$ no decorrer das 24 horas.

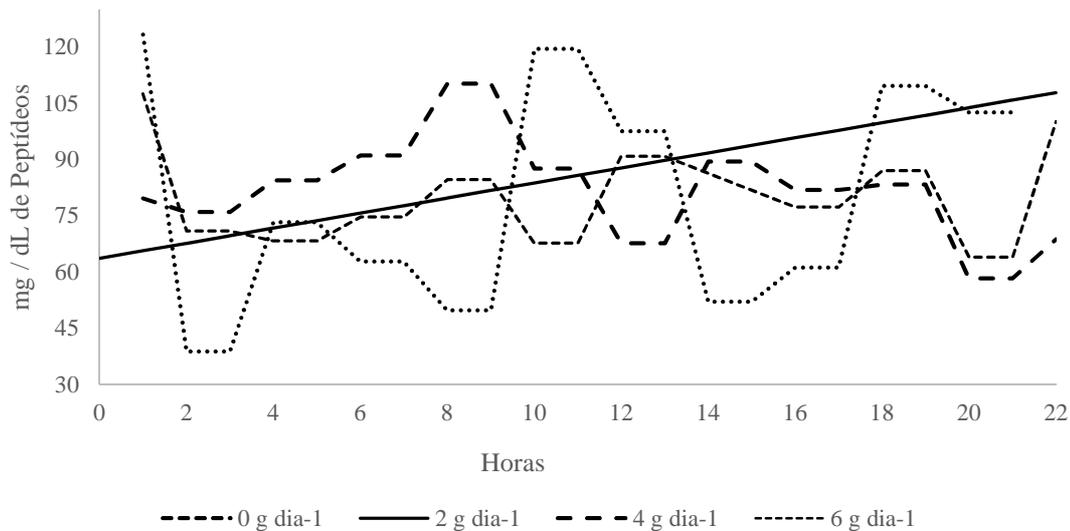


Figura 5 - Concentrações de peptídeos ao longo de um período de 24 horas, em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais. Alimentação fornecida às 8 e 16 horas. $0 \text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$; $2 \text{ g dia}^{-1} = 2,0102x + 63,679$; $4 \text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$; $6 \text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$.

A concentração de α -amino apresentou efeito quadrático ($Y = 20,82003 + 2,42615x - 0,08371x^2$, $P < 0,05$) no tratamento controle e efeito linear crescente ($Y = 23,9153 + 0,71085x$, $P < 0,05$) para adição de 2 g dia^{-1} de óleos funcionais (Figura 6).

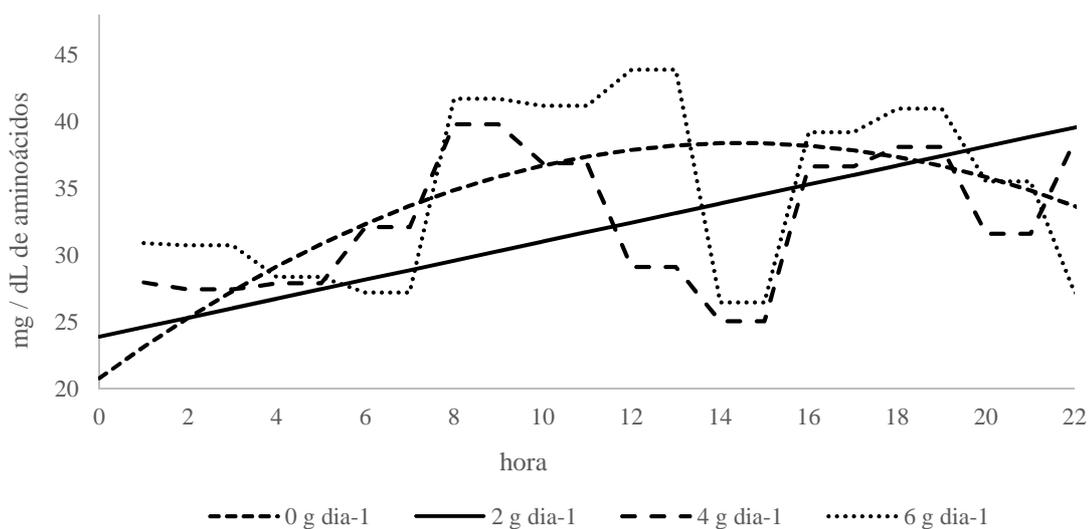


Figura 6 - Concentrações de aminoácidos ao longo de um período de 24 horas, em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais. Alimentação fornecida às 8 e

16 horas. $0 \text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$; $2 \text{ g dia}^{-1} = 2,0102x + 63,670,7109x + 23,915$; $4 \text{ g dia}^{-1} y = \text{NS}$; $6 \text{ g dia}^{-1} y = 0,5008x + 27,88$.

A adição de óleos funcionais na dieta de ovinos não alterou o consumo e balanço de nitrogênio (Tabela 4). Foram observados valores médios de ingestão de $37,53 \text{ g dia}^{-1}$, com excreção fecal média de $9,49 \text{ g dia}^{-1}$ e excreção urinária de $3,31 \text{ g dia}^{-1}$. Sendo assim, o valor médio de nitrogênio retido foi de $24,5 \text{ g dia}^{-1}$, ou seja $650,7 \text{ g kg}^{-1}$ do nitrogênio ingerido e $8709, \text{ g kg}^{-1}$ do digestível. Como não houve alteração no CMS, de modo consequente, não houve alteração no CN e excreção fecal. Também não foi evidenciado alterações na quantidade de N urinário, indicando que a inclusão dos óleos não alterou o metabolismo nitrogenado.

Tabela 4 - Médias da ingestão, excreção, retenção de nitrogênio em gramas por dia e percentual do nitrogênio retido em relação ao ingerido em diferentes níveis de suplementação de óleos funcionais a ovinos.

Variáveis	Óleos Funcionais				Erro Padrão	P
	g dia ⁻¹					
	0	2	4	6		
N_{ingerido}	38,81	37,99	34,03	39,28	3,4519	0,7039
N_{urina}	3,81	3,29	2,67	3,46	0,5042	0,4813
N_{fecal}	9,47	9,22	9,01	10,27	1,7163	0,9561
${}^1N_{\text{retido}}$	25,52	25,21	21,85	25,41	2,8956	0,7740
$N_{\text{digestível ingerido}}$	29,33	28,77	25,01	29,01	2,8194	0,6818
$N_{\text{retido}} / N_{\text{ingerido}}$	65,89	65,62	64,32	64,47	3,5824	0,9846
$N_{\text{retido}} / N_{\text{digestível}}$	87,04	87,04	87,08	87,19	2,4054	1,0000
DN (g/Kg ⁻¹ MS)	758,4	752,4	739,2	740,5	3,7906	0,9792
DVN (g/Kg ⁻¹ MS)	893,9	884,4	872,9	879,3	1,6689	0,8366
Efic. de utilização (%)	66,00	66,00	64,00	64,00	0,4000	0,9851

¹Equação $N_{\text{retido}} = N_{\text{ingerido}} - (N_{\text{fecal}} + N_{\text{urinário}})$ (Decandia et al. 2000).

Não foram observadas diferenças para excreção diária de alantoína (ALAN), ácido úrico mais xantina e hipoxantina (AU+HX), derivados de purina (DP) e purinas

absorvidas (PA). O valor médio da excreção de ALAN e AU+HX foi de 4,17 e 3,94 mmol dia⁻¹, correspondendo a proporção de 51,0 e 48,0 g / 100 g dos derivados de purina. A síntese de proteína e N microbiano também não foram influenciados pela adição dos óleos funcionais na dieta ($P > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias da excreção diária alantoína, ácido úrico, derivados de purinas, purinas absorvidas e nitrogênio microbiano em ovinos suplementados com diferentes níveis de óleos funcionais.

Variáveis	Óleos Funcionais g dia ⁻¹				Erro Padrão	P
	0	2	4	6		
ALAN mmol ⁻¹ dia	3,955	4,222	4,442	4,075	0,7497	0,9701
AU+HX mmol ⁻¹ dia	4,900	3,947	3,265	3,640	0,4748	0,1615
DP mmol ⁻¹ dia	8,855	8,170	7,710	7,717	1,1039	0,8672
PA mmol ⁻¹ dia	10,262	9,245	8,790	8,687	1,4475	0,8614
Nmic (g ⁻¹ dia)	7,462	6,722	6,392	6,317	1,0514	0,8612

Discussão

De acordo com as propriedades lipofílicas apresentadas pelos óleos funcionais, era esperado uma diminuição do consumo em razão do aumento da eficiência alimentar pela seletividade dos microrganismos ruminais, mesmo que pesquisas relatem que os óleos possuem boa palatabilidade influenciando positivamente o consumo (Cardozo et al. 2006; Wallace, 2007). A ausência de efeitos no consumo aponta que a atividade antimicrobiana dos óleos não teve influência na seleção das bactérias gram positivas, que levariam a uma diminuição no CMS. Assim, o consumo da fração solúvel da fibra também não foi alterado, atribuindo que a participação dos óleos não interfere na ingestão dos CNF.

Os valores de DMS, DMO e DVMO, foram elevados o que é atribuído a uma dieta de qualidade favorecendo o aproveitamento dos nutrientes pelo animal. A digestibilidade encontrada confirma os valores estimados por Benchaar et al. (2006), de g kg⁻¹MS para

DMO em animais com consumo de óleos funcionais. Resultados semelhantes de consumo e digestibilidade foram evidenciados por Segabinazzi et al. (2011), em fornecimento de extratos vegetais a vacas de descarte em confinamento.

As correlações existentes entre a ingestão voluntária e o teor de FDN, são relacionados com a ocupação de espaço físico ruminal, desta forma, Mertens (1987) corrobora que o CMS pode ser predito pelo teor de FDN da dieta. Thonney e Hogue (2007), atribuem o efeito do FDN no consumo a fermentabilidade da FDN, pois o aumento da DFDN gera diminuição no CMS (Dado e Allen, 1995).

Maia et al. (2010), avaliando a inclusão de óleos funcionais em dietas de ovinos com relação de volumoso concentrado de 50:50, relataram valores de DMS e DMO muito próximos aos encontrados neste trabalho (686,0 e 701,0 g kg⁻¹MS do consumido). Resultados semelhantes obtiveram Zawadzki et al. (2015), avaliando os efeitos da inclusão de óleos funcionais associado ou não ao glicerol.

A faixa de pH encontrada nos níveis de suplementação corresponde de 6,09 à 6,29, estando de acordo com Smith et al. (1972) que preconiza 6,0 à 6,8. Esses resultados corroboram com Furlan et al. (2006), que indicam uma faixa de pH ideal de 5,5 a 7,0, agregando que neste pH a degradação dos alimentos ocorre de forma diferenciada, porém situam-se abaixo do encontrado por Benchaar et al. (2006) avaliando a adição de óleo essencial (Crina® Ruminants; 0 e 2 g dia⁻¹) na dieta de vacas em lactação, relatando aumento no pH nos animais que receberam suplementação.

Em função do tempo os valores de pH variaram de 5,78 a 6,48, com menor valor inferior ao mínimo preconizado por Van Soest (1994), porém não interferiu na fermentação pois não houve diminuição DFDN, nem ocasionou menor degradabilidade da proteína, celulose e hemicelulose, como descrito por Hoover e Stokes (1991). Isto pode ser atribuído à característica isoproteica da dieta, que não alterou os padrões do processo

proteolítico, pois em adição a fermentação de carboidratos, o processo de proteólise gera peptídeos e aminoácidos, que também podem ser utilizados como fontes de energia. A ausência de alterações nas concentrações de peptídeos e aminoácidos, pode ser ligada ao efeito dos óleos funcionais contra as bactérias metanogênicas, pois o metano sendo o maior responsável pelas perdas energéticas durante a digestão ruminal, também ocasiona reduções na proteólise e na desaminação (Russel e Dowbrowski, 1980).

A concentração do N-Amoniacal permite conhecer o equilíbrio na digestão proteica, pois altas concentrações indicam excesso de proteína dietética ruminal e ou baixa concentração de carboidratos degradados no rúmen. Neste trabalho, as concentrações de N-amoniacal nos tratamentos apresentaram valores de 14,73 a 17,53 mg dL⁻¹, com a maior oscilação da concentração amoniacal durante o período de 24 horas observada ao grupo controle com diferença de 67,2 g 100 g⁻¹ entre a concentração máxima (25,29 mg dL⁻¹) e a mínima (9,85 mg dL⁻¹), seguido de 41,3 g 100 g⁻¹, 30,6 g 100 g⁻¹ e 41,5 g 100 g⁻¹ g para tratamentos com 2, 4 e 6 g dia⁻¹ respectivamente. Estes valores encontram-se acima das 5 mg dL⁻¹ recomendadas por Satter e Slyter (1974), e das 10mg dL⁻¹ preconizadas por Detmann et al. (2007) adequando-se a recomendação de Leng e Nolan (1984) que sugerem uma média de 15 a 20 mg dL⁻¹ de N-amoniacal ruminal para maximizar a fermentação de fontes de carboidratos de alta degradabilidade.

A absorção da amônia está proporcionalmente ligada à sua concentração no ambiente ruminal, que tem seu processo absorptivo estendendo-se até oito horas após ingestão da dieta, em ruminantes, e o pH parece ser o fator mais importante na determinação da quantidade de amônia absorvida (Huntington e Archibeque, 1999). Contudo, como não houve alteração no pH do grupo controle ao longo do tempo, o efeito linear observado ao longo das 24h poderia ser atribuído a boa degradabilidade da proteína da dieta, pois menores concentrações ruminais de amônia são encontradas em dietas que

apresentam alta digestibilidade, elevada taxa de digestão proteica propiciando melhor equilíbrio entre energia e proteína.

Um nível adequado de N-amoniacoal pode ser descrito em razão da disponibilidade da energia fermentável do rúmen, caracterizando que os níveis de açúcares encontrados neste trabalho de 87,68 a 97,77 mg dL⁻¹ desempenharam adequadamente esta função, pois não houve alterações na concentração de N na excreção urinária. De acordo com Dantas Filho et al. (2007), o aumento das perdas de nitrogênio via urinária indicam um excesso de N-amoniacoal que é resultado da rápida hidrólise ruminal, e posterior absorção intestinal. Mesmo não encontrando diferenças significativas na excreção urinária, maiores teores de nitrogênio foram excretados no tratamento controle, que evidenciou maiores concentrações de N-amoniacoal.

Watanabe et al. (2010) avaliando a concentração de amônia no líquido ruminal com adição de até 200 µg mL⁻¹ de óleo de castanha de caju, relataram efeito quadrático com redução expressiva na produção de amônia, atribuindo o efeito aos compostos secundários com efeito anti-microbiano. Parente et al. (2012), suplementando ovinos mestiços com óleo de canola, girassol e mamona com até 30 g kg⁻¹ MS observaram diferenças no efeito de tempo, com pico de concentração de N-amoniacoal em duas horas após alimentação.

O teor de açúcares no fluido ruminal está associado à disponibilidade de carboidratos não fibrosos no rúmen, como o amido, cuja taxa e extensão da degradação são mais altas que os carboidratos fibrosos, pois a medida que aumenta a disponibilidade de CNF para as bactérias, há um aumento da liberação de açúcares no fluido ruminal e um aumento da captação e utilização do N pela flora microbiana (Silveira et al. 2006). Sendo assim, altas concentrações de açúcares se devem a alta disponibilidade de carboidratos prontamente fermentáveis, que podem ser atribuídos aos teores de CNF

presentes do farelo de trigo, principal componente concentrado da dieta. As maiores concentrações de açúcares foram paralelas aos menores valores de pH, explicado pela fermentação de amido e açúcares que ocasionam diminuição do pH ruminal (Van Soest, 1994).

A principal atividade de peptidase no rúmen é amino-peptidase, e isso fornece evidências de que os peptídeos de cadeia curta são o produto final da proteólise e não os aminoácidos livres, por tal se explica as baixas concentrações de aminoácidos livres no líquido ruminal tanto neste trabalho, como verificado por Broderick et al. (1981) e Volden et al. (2001). A condição, composição e nível dietético, podem ter afetado a taxa de degradação dos peptídeos de cadeia curta afetando a utilização dos aminoácidos livres no rúmen.

Como não houve alteração no CMS, de modo conseqüente, não houve alteração no CN e excreção fecal. O balanço de nitrogênio positivo para o N_{retido} indica equilíbrio entre energia e proteína digestível da dieta., permitindo elucidar o estado nutricional dos animais através $N_{absorvido}$ e da quantificação das perdas excretadas que reflete diretamente na eficiência e resposta produtiva. Como não foi constatado efeitos na retenção do N, presume-se que as atividades metabólicas dos animais não foram alteradas pela inclusão dos óleos funcionais.

Coneglian (2009) suplementando novilhos holandeses com óleo funcional de mamona e caju em dieta com 80 g $100g^{-1}$ volumoso, não encontrou diferenças entres os tratamentos, com valor máximo de pH de 6,79 associado a suplementação de 3,54 g dia^{-1} de óleo funcional, concentração amoniacal em função do tempo variando de 5,34 a 25,14 mg dL^{-1} de fluído ruminal com pico de concentração e conseqüentemente de absorção de N-Amoniacal, assim como o menor valor, observado sete horas após último arraçoamento, em dietas sem adição de óleos funcionais.

Jesus et al. (2016), comparando os efeitos de óleos funcionais (500mg kg^{-1} de MS) e monensina sódica (22mg kg^{-1} de MS) em vacas holandesas em lactação, não observaram diferenças sobre o consumo, excreção, balanço de N e pH. O menor pH ruminal encontrado foi de 5,90 observado 12 horas após fornecimento alimentar, independentemente da inclusão de óleo funcional ou monensina sódica na dieta, sugerindo que os mecanismos fisiológicos de regulação do pH não foram influenciados pelos tratamentos avaliados.

De acordo Yu et al. (2002), as fontes de proteína da dieta, o peso vivo, e o tipo de aditivo alimentar podem afetar diretamente as excreções de alantoína e xantina. Corroborando Chen et al. (1990) estabelecem que a perda endógena de DP aumenta com o peso corporal, e que o suprimento intestinal de ácidos graxos voláteis (energia) e proteína não altera a excreção urinária endógena de nitrogênio (Fujihara et al. 1987). Neste estudo os pesos corporais dos animais eram semelhantes, e como não houve modificações significativas no CMS, os níveis de inclusão de óleos não alteraram a excreção diária do DP, evidenciado pela ausência de alterações entre os tratamentos, que tiveram os mesmos níveis e fontes proteicos.

A proporção média de excreção de ALAN e AU+HX nos derivados de purina estão próximos dos considerados por Chen e Gomes (1992) que sugerem a proporção de alantoína de 60,0 a 80,0 g 100 g^{-1} , e de ácido úrico mais xantina e hipoxantina até 40,0 g 100 g^{-1} nos derivados de purina, com valores muito constantes no mesmo animal, mas variando entre animais. Os mesmos autores descrevem que a excreção total aumenta a proporção do aumento da alantoína, por esta razão não se utiliza apenas a excreção de alantoína para calcular o suprimento de proteína microbiana.

Von Bickel-Baumann e Landis (1986) observaram maiores excreção de alantoína na urina de ovinos com dietas contendo mais amido do que carboidratos estruturais.

Lindberg (1989), em estudo com cabritos observou porcentagens relativas ao total de DP excretados de 54,0 a 76,0 g 100 g⁻¹ de alantoína, 13,0 a 33,0 g 100 g⁻¹ de ácido úrico e 10,0 a 13,0 g 100 g⁻¹ de xantina e hipoxantina.

A SPmic no rúmen é influenciada pela proporção de energia e proteína da dieta. Puchala e Kulasek (1992) verificaram maior taxa de SPmic em dietas com alta proteína e alta energia, e menores valores de SPmic em dietas baixa proteína e baixa energia. No mesmo estudo esses autores confirmaram que a eficiência da SPmic foi maior em dietas em que a relação de energia e proteína estavam nos níveis recomendados pelo sistema de avaliação de alimentos para ruminantes (INRA, 1989) através da proteína digestível intestinal. Corroborando com Robinson et al. (1987), o rendimento de N bacteriano aumenta proporcionalmente ao nível de ingestão de N. Desta forma como não houve variação significativa no CMS, não se obteve variação SPMic.

Conclusão

A utilização de óleo funcional na dieta de ruminantes não altera o consumo e digestibilidade dos nutrientes, porém em todos os níveis de suplementação mostrou-se eficiente na manutenção de um pH adequado na fermentação ruminal, porém o nível indicado é de 4 g dia⁻¹.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 15.ed. Arlington: AOAC, 1117p. 1990. AOAC - Associação de Química Analítica Oficial. 1990. Métodos de análise oficiais. 15^a ed. AOAC International, Arlington, VA.

BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T. D. and CHOUINARD, P. Y. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 4352–4364.

BRODERICK, G. A., J. H. KANG-MEZNARICH, and W. M. CRAIG. 1981. Total and individual amino acids in strained ruminal liquor from cows fed graded amounts of urea. *Journal Dairy Science* 64:1731–1734.

CARDOZO, P.W; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. and KAMEL, C. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsium, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentration diet. *Journal of animal science*, 84:2801-2808.

CHEN, G. J., and RUSSELL, J.B. 1990. Transport and deamination of amino acids by a gram-positive, monensin-sensitive ruminal bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 56:2186-2192

CHEN, X.B. and GOMES, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives ³/₄ an overview of technical details. (Occasional publication) International Feed Research Unit. Bucksburn, Aberdeen: Rowett Research Institute.

CHEN, X.B., ØRSKOV, E.R. and HOVELL, F.D.D. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. *British Journal of Nutrition*, 63:121-129

CONEGLIAN, S.M. 2009. Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

COUTINHO, D. A.; BRANCO, A. F.; SANTOS, G. T. dos; OSMARI, M. P.; TEODORO, A. L and DIAZ, T. G. 2014. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Science Animal Science*, 36:311–316.

DADO, R. G. and ALLEN, M.S. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. *Journal of Dairy Science*, 78:118–133.

DANTAS FILHO, L.A.; LOPES, J.B.; VASCONCELOS, V.R.; OLIVEIRA, M.E.; ALVES, A.A.; ARAUJO, D.L.C. and CONCEIÇÃO, W.L.F. 2007. Inclusão de polpa de caju desidratada na alimentação de ovinos: desempenho, digestibilidade e balanço de nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36:147-154.

DECANDIA, M.; SITZIA, M.; CABIDDU, A. et al. 2000. The use of polyethylene glycol to reduce the anti-nutritional effects of tannins in goat fed woody species. *Small Ruminant Research*, 38:157-164.

DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T. and DETMANN, K.S.C. 2007. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42:11.

DIAZ, T.G.; TEODORO, A.L.; OSMARI, M.P.; SALAB, B.L.; MATOS, L.F.; GIOTTO, F.M. 2015. Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. *Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, 10: 1-10.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K. and SMITH, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28:350-356.

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

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. 2006. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. IN: *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 583p.

HOOVER, W.H. and STOKES, S.R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science*, 74(10):3630-3644, 1991.

HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *Journal of Animal Science*, v.77, p. 1-11, 1999.

JESUS, E.F.; DEL VALLE, T.A.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A.; PAIVA, P.G.; SILVA, G.G.; NETTO, A.S. and RENNÓ, F.P. 2016. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.003>.

LENG, R.A. and NOLAN, J.V. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 67:1072-1089.

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

LINDBERG, J.E. 1989. Nitrogen metabolism and urinary excretion of purines in goat kids. *British Journal of Nutrition*, 61:309-321.

MAIA, M.O.; QUEIROGA, R.C.R.E.; MEDEIROS, A.N.; COSTA, R.G.; BOMFIM, M.A.D.; FERNANDES, M.F. 2010. Consumo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de cabras mestiças Moxotó suplementadas com óleo de licuri ou mamona. *Ciência Rural*, Santa Maria, 40:149-155.

MERTENS, D.R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *Journal Animal Science*, 64:1548-1558.

NATIONAL Research Council. 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.

PALMER, D. W.; PETERS JR, T. 1969. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2, 4, 6 trinitro-benzene sulfonate. *Clinical Chemistry*, 15: 896-901.

PARENTE, M.O.M.; FERREIRA, E.M.; NOLLI, C.P.; GENTIL, R.S.; PIRES, A.V.; MOURAO, G.B. 2012. Intake, nutrient apparent digestibility and ruminal constituents of sheep fed diets with canola, sunflower or castor oils. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, 41:2350-2356.

PUCHALA, R. and KULASEK, G.W. 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and excretion of purine derivatives. *Canadian Journal of Animal Science*, 2:821-830.

ROBERTSON, J.B. and VAN SOEST, P.J. 1981. The detergent system analysis and its application to human foods. In: *The Analysis of dietary fiber in food* (JAMES, W.P.T; THEANDER, O.) Marcel Dekke Inc. New York, p.123

ROBINSON, A.C., COLLINS, J.F. and DONACHIE, W.D. 1987. Prokaryotic and eukaryotic cell cycle proteins. *Nature (Lond.)*, 328:766.

RUSSEL, J.B.; DOMBROWSKI, D.B. 1980. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Applied environmental microbiology*, 39:604.

SATTER, L.D. and SLYTER, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32:199-208.

SEGABINAZZI, L. R.; VIEGAS, J. ; FREITAS, L. S. ; BRONDANI, I. L. ; ARGENTA, F. M. and BINOTTO, J. 2011. Behavior patterns of cows with Charolais or Nelore breed predominance fed diets with plant extract or monensin sodium. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, 40: 2954-2962.

SILVA, D.J. and QUEIROZ, A.C. 2002. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, p.235.

SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.; FILHO, D. C. A.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M. and SILVEIRA, S. R. L. 2006. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, 36:898-903.

SMITH, G.P., J. GIBBS, A.J. STROHMAYER, and P.E. STOKES. 1972. Threshold doses of 2-deoxy-D-glucose for hyperglycemia and feeding in rats and monkeys. *American Journal of Physiology*. 222:77-81.

THONNEY, M. L., and HOGUE, D. E. 2007. Formulation of ruminant diets using potentially fermentable NDF and nonstructural carbohydrates. *Ithaca, NY*, 1:113-123.

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

Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. and LEWIS, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.

VOLDEN, H.; MYLAND, L.T. and OLAISEN, V. 2002. Apparent ruminal degradation and rumen escape of soluble nitrogen fractions in grass and grass silage administered intraruminally to lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, 80:2704-2716.

VON Bickel-Baumann, C. and LANDIS, J. 1986. Allantoinausscheidung im Harn und Gesamtsickstoffausscheidung im Kot als Indikatoren für die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen des Wiederkauers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 56:275-281.

WALLACE, R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63:621-629.

WEATHERBURN, M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39:971-974.

YU, P.; EGAN, A.R.; BOON-EK, L. and LEURY, B. J. 2002. Purine derivative excretion and ruminal microbial yield in growing lambs fed raw and dry roasted legume seeds as protein supplements. *Animal Feed Science and Technology*. 95:33-48.

ZAWADZKI, F., BONAFÉ, E. G., PRADO, R. M., VALERO, M. V., VISENTAINER, J. V. e PRADO, I. N. 2015. Corn replace by glycerin and functional oils (Anacardium acid and Ricinoleic acid) as additive alternative in the diets of crossbred bulls finished in feedlot: carcass and Longissimus dorsi characteristics. *Meat Science*, in press.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de diferentes níveis de óleos funcionais na dieta de ovinos não influenciou o consumo, digestibilidade e os parâmetros ruminais N-Amoniacal, açúcares totais, aminoácidos e peptídeos, assim como a síntese de proteína microbiana. Porém foi observado efeito sob pH ruminal.

Mostrou-se um aditivo natural alternativo em substituição aos aditivos químicos, demonstrando fácil aplicabilidade, e grande margem de segurança alimentar devido a baixa contaminação do produto final.

5 APÊNDICES

Apêndice I - Consumo de nutrientes.

ANIMAL	PER	TRAT	PV(kg)	PM(kg0,75)	CMS	CMO	CFDA	CFDN	CMS (g/kg de PV)	CMO (g/Kg de PM)	CCNF (g/dia)	CN
Didi	1	6	37,40	15,12	1295,08	1199,89	318,52	760,23	3,46	79,34	388,71	37,88
Didi	2	0	34,50	14,24	1309,36	1214,26	309,37	760,15	3,80	85,30	394,15	37,41
Didi	3	2	35,80	14,64	1281,40	1188,33	302,68	743,85	3,58	81,19	385,85	36,62
Didi	4	4	32,10	13,49	1222,82	1134,00	289,83	710,99	3,81	84,09	367,26	34,90
Mussum	1	0	61,50	21,96	1752,76	1623,93	428,81	1026,14	2,85	73,95	528,35	51,38
Mussum	2	2	65,70	23,08	1404,32	1302,34	328,60	811,51	2,14	56,44	425,71	40,26
Mussum	3	4	66,10	23,18	1098,95	1019,13	260,16	638,59	1,66	43,96	330,35	31,38
Mussum	4	6	65,80	23,10	1526,18	1415,34	361,34	886,92	2,32	61,26	458,71	43,57
Tarzan	1	4	46,50	17,81	1414,17	1310,23	347,39	829,63	3,04	73,58	424,87	41,38
Tarzan	2	6	57,00	20,74	1635,03	1516,28	386,83	949,82	2,87	73,09	491,71	46,70
Tarzan	3	0	55,60	20,36	1678,87	1556,93	397,50	975,64	3,02	76,46	504,58	47,94
Tarzan	4	2	57,80	20,96	1676,95	1555,15	397,31	974,84	2,90	74,19	503,77	47,87
Zaca	1	2	50,80	19,03	1366,68	1266,22	334,13	799,84	2,69	66,54	412,19	40,07
Zaca	2	4	43,90	17,05	1524,11	1413,42	360,87	885,71	3,47	82,87	458,16	43,51
Zaca	3	6	45,80	17,61	1756,58	1629,01	415,28	1020,15	3,84	92,53	528,59	50,18
Zaca	4	0	45,10	17,40	1319,92	1224,04	312,08	766,75	2,93	70,33	397,20	37,71

Apêndice II - Digestibilidade

ANIMAL	PER	TRAT	DMS	DMO	DCNF	DFDN	DFDA	DN
Didi	1	6	77,71	77,86	76,04	77,29	74,82	77,63
Didi	2	0	74,07	74,72	61,32	77,01	67,28	81,23
Didi	3	2	76,38	76,70	83,01	74,87	67,28	77,70
Didi	4	4	64,69	65,07	59,10	65,41	54,24	74,42
Mussum	1	0	73,62	74,77	70,05	73,41	71,43	82,76
Mussum	2	2	72,44	74,22	62,41	73,17	64,45	81,83
Mussum	3	4	74,84	76,06	67,26	77,36	69,25	85,65
Mussum	4	6	72,59	74,40	65,35	74,97	68,01	83,94
Tarzan	1	4	71,01	72,25	59,48	72,83	67,53	78,74
Tarzan	2	6	57,25	59,79	53,00	55,31	48,18	72,76
Tarzan	3	0	62,24	63,70	74,84	55,60	46,74	70,05
Tarzan	4	2	63,34	65,91	56,17	64,87	56,76	78,43
Zaca	1	2	59,63	61,38	30,54	67,25	49,39	72,38
Zaca	2	4	55,48	58,54	41,17	57,69	45,51	68,21
Zaca	3	6	64,87	66,42	69,30	60,97	48,40	74,28
Zaca	4	0	69,17	70,66	68,09	67,94	59,82	79,66

Apêndice III - Concentrações de parâmetros ruminais.

Animal	Per	Trat	Hora	Amonia	Acucar	Ph	Aminoácidos	Peptídeos
Didi	1	6	0	12,94	132,53	6,58	37,14	70,31
Didi	1	6	2	20,00	158,47	6,39	22,56	56,40
Didi	1	6	4	13,99	78,53	5,6	15,48	45,64
Didi	1	6	6	8,12	54,70	5,72	15,59	84,64
Didi	1	6	8	11,46	63,02	6,62	25,81	55,28
Didi	1	6	10	22,48	68,60	6,26	27,75	120,32
Didi	1	6	12	28,40	59,42	6,43	15,69	103,90
Didi	1	6	14	11,41	69,35	5,84	17,05	45,96
Didi	1	6	16	18,29	49,12	6,21	41,80	48,93
Didi	1	6	18	30,22	132,90	6,49	33,89	64,82
Didi	1	6	20	25,30	110,68	6,72	45,42	119,74
Didi	1	6	22	21,75	135,01	6,24	26,86	76,41
Mussum	1	0	0	4,48	125,83	6,26	26,91	67,24
Mussum	1	0	2	15,19	120,74	6,34	18,57	55,83
Mussum	1	0	4	11,81	130,30	5,78	17,74	64,27
Mussum	1	0	6	6,49	97,15	6,09	17,58	40,50
Mussum	1	0	8	11,23	94,05	6,85	25,97	47,68
Mussum	1	0	10	11,55	80,02	6,26	37,97	61,49
Mussum	1	0	12	29,00	79,90	6,57	24,24	131,05
Mussum	1	0	14	9,88	149,16	5,93	17,21	72,38

Mussum	1	0	16	7,05	67,61	5,59	31,63	81,89
Mussum	1	0	18	23,73	83,62	6,15	32,26	135,55
Mussum	1	0	20	18,17	97,65	6,43	57,79	21,93
Mussum	1	0	22	19,94	70,47	6,43	22,87	89,50
Tarzan	1	4	0	13,50	121,11	6,53	.	.
Tarzan	1	4	2	14,37	93,80	6,05	33,57	51,47
Tarzan	1	4	4	11,67	145,81	5,97	26,13	52,38
Tarzan	1	4	6	12,32	57,80	6,31	18,37	71,23
Tarzan	1	4	8	15,70	93,43	6,8	33,41	62,64
Tarzan	1	4	10	.	.	6,46	35,51	87,12
Tarzan	1	4	12	17,20	97,53	6,61	14,59	49,19
Tarzan	1	4	14	8,65	66,87	6,17	20,10	59,25
Tarzan	1	4	16	11,65	113,41	6,3	42,48	118,87
Tarzan	1	4	18	13,89	54,33	6,52	25,18	91,37
Tarzan	1	4	20	16,71	119,25	6,66	34,67	111,88
Tarzan	1	4	22	21,52	118,13	6,21	14,90	80,01
Zaca	1	2	0	9,28	97,53	6,44	18,05	75,72
Zaca	1	2	2	10,37	96,91	6,05	11,29	45,28
Zaca	1	2	4	8,49	75,56	5,98	11,92	62,49
Zaca	1	2	6	7,56	49,49	6,51	13,86	50,30
Zaca	1	2	8	9,75	59,67	6,66	28,80	73,71
Zaca	1	2	10	12,46	70,22	6,08	32,15	54,02
Zaca	1	2	12	24,23	99,64	6,09	25,02	44,83
Zaca	1	2	14	6,00	77,17	5,43	22,25	50,26
Zaca	1	2	16	13,54	70,96	5,82	34,51	.
Zaca	1	2	18	33,72	117,14	6,07	32,26	55,82
Zaca	1	2	20	18,59	157,61	6,53	31,05	57,02
Zaca	1	2	22	8,44	85,11	5,88	28,48	158,31
Didi	2	0	0	25,80	.	5,48	24,71	136,27
Didi	2	0	2	.	104,23	5,48	22,35	112,43
Didi	2	0	4	19,71	156,36	5,64	.	.
Didi	2	0	6	17,86	90,58	5,64	34,15	155,31
Didi	2	0	8	30,97	134,14	6,48	40,39	98,19
Didi	2	0	10	21,88	104,23	6,68	46,26	83,04
Didi	2	0	12	25,14	76,80	6,37	37,71	87,20
Didi	2	0	14	27,84	127,32	6,31	28,12	70,97
Didi	2	0	16	17,87	105,59	6,29	43,48	120,54
Didi	2	0	18	23,24	0,21	6,42	42,27	110,26
Didi	2	0	20	31,78	118,63	5,9	29,74	106,01
Didi	2	0	22	27,82	112,79	5,7	28,33	111,01
Mussum	2	2	0	17,83	120,99	5,57	32,94	109,81
Mussum	2	2	2	21,18	111,93	5,64	31,79	96,54
Mussum	2	2	4	15,37	135,39	5,68	.	.

Mussum	2	2	6	13,47	119,37	5,69	16,58	86,89
Mussum	2	2	8	11,45	93,18	6,11	30,16	81,46
Mussum	2	2	10	26,27	140,35	6,55	37,08	114,40
Mussum	2	2	12	26,29	100,63	6,42	29,48	147,83
Mussum	2	2	14	22,31	150,28	6,3	23,82	102,99
Mussum	2	2	16	22,36	70,96	6,13	31,47	88,35
Mussum	2	2	18	18,77	155,50	6,05	45,94	104,01
Mussum	2	2	20	18,81	.	5,94	31,42	145,13
Mussum	2	2	22	21,00	109,19	5,73	.	.
Tarzan	2	6	0	16,42	110,93	5,9	28,01	38,01
Tarzan	2	6	2	17,09	145,94	5,96	23,82	110,58
Tarzan	2	6	4	14,98	94,67	6,1	21,72	53,34
Tarzan	2	6	6	16,03	101,62	6,23	20,15	65,25
Tarzan	2	6	8	28,66	157,85	6,41	35,61	64,84
Tarzan	2	6	10	25,01	99,26	6,6	40,86	76,38
Tarzan	2	6	12	25,55	138,74	6,39	.	.
Tarzan	2	6	14	22,92	96,29	6,13	26,81	66,33
Tarzan	2	6	16	18,54	70,71	5,96	30,48	30,38
Tarzan	2	6	18	25,16	146,81	6,18	28,64	40,83
Tarzan	2	6	20	24,10	78,66	6,09	29,85	70,18
Tarzan	2	6	22	21,49	142,83	5,86	28,54	33,62
Zaca	2	4	0	8,93	109,82	6,18	25,49	103,59
Zaca	2	4	2	11,93	108,95	6,42	20,67	103,48
Zaca	2	4	4	8,46	112,42	6,72	25,86	140,43
Zaca	2	4	6	8,29	87,97	6,3	23,92	92,63
Zaca	2	4	8	14,50	53,21	6,78	34,20	74,76
Zaca	2	4	10	21,72	88,09	7,03	29,22	104,42
Zaca	2	4	12	11,78	76,80	6,72	31,58	106,24
Zaca	2	4	14	7,67	77,79	6,49	16,48	89,45
Zaca	2	4	16	5,90	54,08	6,49	39,55	116,50
Zaca	2	4	18	20,17	87,35	6,72	29,74	116,05
Zaca	2	4	20	10,90	96,78	6,09	29,22	104,42
Zaca	2	4	22	9,05	74,81	6,02	41,38	65,96
Didi	3	2	0	24,32	182,61	5,22	27,70	24,67
Didi	3	2	2	17,69	104,37	6,02	25,76	18,37
Didi	3	2	4	12,98	57,95	6,18	24,71	32,43
Didi	3	2	6	12,46	50,21	6,3	27,70	62,84
Didi	3	2	8	16,66	107,94	6,41	32,36	53,89
Didi	3	2	10	22,43	37,19	6,2	34,09	13,94
Didi	3	2	12	18,70	71,46	6	27,91	61,79
Didi	3	2	14	17,35	89,14	6,12	43,79	142,74
Didi	3	2	16	12,08	62,74	6,28	48,83	49,91
Didi	3	2	18	26,81	91,23	5,55	48,04	18,21

Didi	3	2	20	28,44	101,06	5,27	.	.
Didi	3	2	22	30,21	109,53	5,16	.	.
Mussum	3	4	0	11,51	80,79	6,05	28,48	7,40
Mussum	3	4	2	15,00	123,41	6,08	26,65	97,05
Mussum	3	4	4	13,66	81,90	6,18	24,76	43,22
Mussum	3	4	6	9,60	77,72	6,33	29,43	118,37
Mussum	3	4	8	20,26	111,37	6,56	39,76	6,97
Mussum	3	4	10	12,19	107,32	6,49	31,21	115,30
Mussum	3	4	12	25,25	101,06	6,31	23,82	80,51
Mussum	3	4	14	10,06	40,38	6,33	20,93	70,92
Mussum	3	4	16	15,67	84,72	6,38	23,19	61,34
Mussum	3	4	18	23,04	77,97	5,86	46,00	42,84
Mussum	3	4	20	19,25	61,75	5,94	35,51	33,53
Mussum	3	4	22	10,24	74,53	5,87	34,67	39,53
Tarzan	3	0	0	12,85	111,62	5,96	.	.
Tarzan	3	0	2	9,06	152,15	5,91	32,73	59,55
Tarzan	3	0	4	10,35	77,47	6,3	29,06	18,54
Tarzan	3	0	6	10,76	76,98	6,52	36,92	51,91
Tarzan	3	0	8	17,28	88,41	6,66	53,23	76,49
Tarzan	3	0	10	23,57	93,81	6,29	48,20	69,04
Tarzan	3	0	12	24,09	80,91	6,03	46,10	81,90
Tarzan	3	0	14	11,04	65,81	6,19	#DIV/0!	#DIV/0!
Tarzan	3	0	16	13,27	93,81	6,27	46,00	57,98
Tarzan	3	0	18	24,78	82,88	5,9	48,35	48,66
Tarzan	3	0	20	13,63	110,76	5,85	.	.
Tarzan	3	0	22	12,75	125,87	5,77	.	.
Zaca	3	6	0	9,65	80,30	6,21	32,42	35,33
Zaca	3	6	2	7,73	90,00	6,5	.	.
Zaca	3	6	4	9,70	57,70	6,63	30,11	17,05
Zaca	3	6	6	9,70	58,81	6,52	33,94	52,32
Zaca	3	6	8	12,00	63,47	6,85	39,97	96,54
Zaca	3	6	10	16,47	64,46	6,42	40,02	29,45
Zaca	3	6	12	10,06	39,77	6,4	40,54	118,88
Zaca	3	6	14	8,00	84,23	6,55	26,91	24,05
Zaca	3	6	16	5,43	57,70	6,62	38,55	34,36
Zaca	3	6	18	18,41	60,16	6,09	40,70	54,16
Zaca	3	6	20	12,37	62,37	5,62	32,05	93,37
Zaca	3	6	22	24,09	73,42	5,53	27,64	87,45
Didi	4	4	0	13,14	75,26	5,74	29,95	44,68
Didi	4	4	2	16,34	108,18	6,05	35,09	38,68
Didi	4	4	4	9,63	50,58	6,17	33,10	44,55
Didi	4	4	6	13,48	93,07	6,21	43,01	42,39
Didi	4	4	8	11,97	57,09	6,39	45,42	107,55

Didi	4	4	10	23,17	70,23	6,15	50,24	111,33
Didi	4	4	12	20,64	80,67	6,13	32,00	76,21
Didi	4	4	14	20,31	62,74	6,16	37,82	42,84
Didi	4	4	16	13,24	74,04	6,31	47,20	90,70
Didi	4	4	18	21,94	75,51	6,03	38,60	86,82
Didi	4	4	20	21,71	94,67	5,64	30,11	112,10
Didi	4	4	22	24,44	146,63	5,58	39,60	69,47
Mussum	4	6	0	17,28	147,12	5,63	32,36	133,08
Mussum	4	6	2	11,56	134,59	5,84	37,71	136,34
Mussum	4	6	4	11,05	110,15	6,02	33,36	46,01
Mussum	4	6	6	6,59	81,77	6,07	27,59	102,56
Mussum	4	6	8	15,08	82,27	6,52	49,56	27,22
Mussum	4	6	10	32,93	90,13	6,3	42,69	43,56
Mussum	4	6	12	24,84	67,53	5,31	47,20	120,40
Mussum	4	6	14	18,34	82,63	6,14	25,76	202,53
Mussum	4	6	16	10,17	88,90	6,27	48,56	91,49
Mussum	4	6	18	25,86	155,47	6,06	53,55	88,66
Mussum	4	6	20	23,53	145,52	5,76	44,68	165,52
Mussum	4	6	22	20,21	109,66	6,01	25,44	186,96
Tarzan	4	2	0	5,98	114,91	6,03	23,82	65,41
Tarzan	4	2	2	11,15	144,17	6,15	28,01	69,89
Tarzan	4	2	4	11,25	114,32	6,27	25,86	155,75
Tarzan	4	2	6	8,33	79,69	6,33	32,52	110,92
Tarzan	4	2	8	12,03	55,49	6,75	55,17	126,01
Tarzan	4	2	10	18,52	67,65	6,42	46,36	128,74
Tarzan	4	2	12	26,41	109,53	5,26	40,91	70,44
Tarzan	4	2	14	17,38	55,86	6,31	24,76	112,61
Tarzan	4	2	16	11,36	83,49	6,44	36,87	118,28
Tarzan	4	2	18	25,06	102,78	6,19	47,62	156,54
Tarzan	4	2	20	18,00	133,61	5,95	29,11	165,51
Tarzan	4	2	22	14,79	103,51	5,89	.	.
Zaca	4	0	0	9,62	82,76	6,22	21,82	119,45
Zaca	4	0	2	9,85	84,23	6,27	23,82	56,31
Zaca	4	0	4	21,27	93,07	6,45	25,18	122,17
Zaca	4	0	6	7,48	85,83	6,52	28,06	51,19
Zaca	4	0	8	6,59	58,56	6,87	45,21	116,45
Zaca	4	0	10	8,97	104,99	6,25	37,87	57,43
Zaca	4	0	12	28,28	107,44	5,2	34,25	63,65
Zaca	4	0	14	7,11	70,72	6,39	24,24	117,04
Zaca	4	0	16	24,40	125,25	6,56	42,43	48,97
Zaca	4	0	18	19,20	113,22	5,86	44,37	53,97
Zaca	4	0	20	11,35	67,77	5,79	.	.
Zaca	4	0	22	14,05	88,77	6,17	.	.

Apêndice IV - Derivados de purina

Animal	Per	Trat	Alantoina	A. Úrico	DP	Pabs	Síntese do Nmic	Síntese da Pmic
Didi	1	6	6,22	5,41	11,63	13,76	10,00	62,51
Mussum	1	0	2,75	4,65	7,40	8,32	6,05	37,80
Tarzan	1	4	3,05	3,08	6,14	6,71	4,88	30,51
Zacarias	1	2	5,76	5,87	11,63	13,73	9,98	62,39
Didi	2	0	4,74	5,22	9,96	11,72	8,52	53,25
Mussum	2	2	3,02	2,28	5,30	5,18	3,77	23,55
Tarzan	2	6	3,04	3,05	6,09	6,53	4,75	29,68
Zacarias	2	4	2,96	3,46	6,41	7,12	5,18	32,35
Didi	3	2	4,16	3,73	7,89	9,12	6,63	41,45
Mussum	3	4	7,15	2,91	10,07	11,77	8,56	53,47
Tarzan	3	0	4,95	4,02	8,97	10,41	7,57	47,33
Zacarias	3	6	3,36	3,07	6,43	7,12	5,18	32,36
Didi	4	4	4,61	3,61	8,22	9,56	6,95	43,45
Mussum	4	6	3,68	3,03	6,72	7,34	5,34	33,36
Tarzan	4	2	3,95	3,91	7,86	8,95	6,51	40,69
Zacarias	4	0	3,38	5,71	9,09	10,60	7,71	48,18

Apêndice V - Compostos nitrogenados

Animal	Trat	Per	N Consu g/dia	N Urina	N fecal g/dia	N ret g/dia	CN dig g/dia	% N ret / cons	% N ret / dig	DigN (%)	DVN (%)	Efic Utilz N (%)
Didi	6	1	34,22	5,61	8,47	20,14	25,75	58,85	78,22	75,24	90,96	0,59
Mussum	0	1	44,92	5,26	8,86	30,81	36,06	68,59	85,45	80,28	91,00	0,69
Tarzan	4	1	37,14	2,83	8,80	25,51	28,34	68,68	90,00	76,31	88,34	0,69
Zaca	2	1	35,28	3,52	11,07	20,69	24,21	58,65	85,48	68,62	84,15	0,59
Didi	0	2	33,07	4,40	7,02	21,65	26,05	65,47	83,12	78,77	90,45	0,65
Mussum	2	2	39,58	2,05	7,31	29,13	32,27	73,60	90,28	81,52	90,86	0,74
Tarzan	6	2	39,25	2,67	12,72	23,87	26,53	60,81	89,96	67,60	83,28	0,61
Zaca	4	2	38,03	2,30	13,83	21,90	24,20	57,58	90,49	63,63	83,48	0,58
Didi	2	3	29,99	3,75	8,16	18,08	21,82	60,28	82,83	72,77	89,84	0,60
Mussum	4	3	30,87	1,70	4,50	22,70	26,37	73,53	86,09	85,41	90,94	0,74
Tarzan	0	3	44,97	2,84	14,35	27,78	30,61	61,77	90,73	68,08	87,04	0,62
Zaca	6	3	46,00	2,39	12,90	30,70	33,10	66,74	92,77	71,95	86,39	0,67
Didi	4	4	30,08	3,86	8,93	17,29	21,15	57,48	81,74	70,32	86,40	0,57
Mussum	6	4	37,67	3,19	7,00	26,93	30,67	71,49	87,80	81,42	91,11	0,71
Tarzan	2	4	47,10	3,83	10,33	32,94	36,77	69,94	89,58	78,07	88,93	0,70
Zaca	0	4	32,27	2,74	7,67	21,86	24,61	67,74	88,85	76,24	89,08	0,68

Apêndice VI - Protocolo CEUA 2013-002



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
Câmpus Dois Vizinhos
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA



PROJETO DE PESQUISA / AULA PRÁTICA

Título:	Avaliação nutricional de volumosos conservados e efeito de gordura protegida na dieta de cordeiros na região Sudoeste do Paraná
Área Temática:	Produção Animal
Pesquisador / Professor:	Emilyn Midori Maeda - UTFPR-DV Luis Fernando Glasenapp de Menezes - UTFPR-DV Vicente de Paulo Macedo - UTFPR-DV João Ari Hill - IAPAR-Pato Branco André Finkler - IAPAR-Pato Branco
Instituição:	UTFPR-DV / IAPAR-Pato Branco
Versão:	002

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA	Protocolo nº 2013-002 2ª versão
Título: Avaliação nutricional de volumosos conservados e efeito da gordura protegida na dieta de cordeiros na região Sudoeste do Paraná	
Pesquisador/Professor: Emilyn Midore Maeda	
Área temática: Produção animal	
Instituição: UTFPR-DV	
Financiamento: Não mencionado.	
Apresentação do Projeto: O autor descreve de maneira adequada a problemática que envolve o tema, cercando de justificativas e argumentos.	



<p>técnicos financeiros para sua apresentação. Diante do tema, a proposta é de relevância técnica, e possui metodologia para proposta zootécnica adequada. Contudo, algumas informações necessitam de melhor esclarecimento e descrição (mencionados em conclusões e inadequações).</p> <p>Por outro lado, considerando os quesitos de solução a problemas do cotidiano fundamenta-se, uma vez que se a hipótese for verdadeira irá subsidiar a melhora de qualidade na alimentação dos animais. Estes argumentos podem ser alçados ao longo do texto do projeto científico Grifo nosso "A presente proposta tem como objetivo obter informações nutricionais de gramíneas conservadas e avaliar a utilização de um produto novo no mercado, com sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma como fonte energética e melhora na utilização de forragens". Nesta linha, o traz informações do potencial do produto em melhorar a qualidade, o conforto ao animal no que tange a ingestão e processamento do alimento no trato digestivo.</p>
<p>Objetivo:</p> <p>Avaliar produto na alimentação animal com potencial diminuição de custos na criação.</p>
<p>Avaliação dos Riscos e Benefícios:</p> <p>Riscos: problemas decorrentes da manipulação e alojamento dos animais. Estão sanados com procedimento de adaptação ao local de experimento.</p> <p>Benefícios: Elaboração de formulação alimentar com melhor aproveitamento dos nutrientes, da digestão e dos custos de produção.</p>
<p>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa / Aula Prática:</p> <p>Realizados no item apresentação do projeto.</p>
<p>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:</p> <p>Atendem os requisitos, porém a necessidade de adequar escrita, as inconsistências, são apenas nas formas e podem ser sanadas apenas com a complementação dos termos.</p>
<p>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. O projeto científico apresentado a DIRPPG, descreve a utilização de cinco animais e o formulário foi preenchido com 45 (item 10.4), "acreditamos que sejam cinco". Tal observação é feita, pois, ao ler o texto se menciona cinco animais canulados. Caso exista um experimento em paralelo com 45 animais, mencionar ao longo do texto ou descrever melhor para entendimento. 2. Justificar por que não utilizará anestésico item 11.3.4 do formulário. Onde se deve descrever: o procedimento requer apenas o uso de anestésico local, por ser rápido e o uso de anestesia geral expõem o animal a maiores riscos. 3. Corrigir o item 11.5.1 – Pencivet Plus se trata de nome comercial e, neste caso o produto (com efeito residual analgésico) e o diluente diclofenaco de sódio. Obs.: Não há necessidade de mencionar este item por já estar descrito no item 11.9.2.1. Contudo corrigir para nomeando no item fármaco associação de penicilinas com diclofenaco e mencionar a dose por kg em mg/UL para este e para todos. 4. Sugestão mencionar em relaxantes musculares: "que se o animal estiver estressado ou arreado que poderá ser utilizada a aplicação de miorelaxante muscular cloridrato de xilazina." 5. O texto menciona cirurgia, neste caso mencionar que existirá pós-operatório de 7 a 14 dias. 6. Mencionar a procedência do animal, estado clínico e demais itens para a realização do processo cirúrgico.



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
Campus Dois Vizinhos
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA



Considerando que as observações apresentadas no escopo deste documento foram corrigidas/adequadas, somos favoráveis a aprovação do presente projeto.

Situação do Parecer:

APROVADO

Considerações Finais a Critério da CEUA:

Considerando que as observações apresentadas no escopo deste documento foram corrigidas/adequadas, somos favoráveis a aprovação do presente projeto.

Dois Vizinhos, 17 de dezembro de 2013.

Assinado por:

Patrícia Franchi de Freitas

Apêndice VII - Protocolo 2015-025.



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
Campus Dois Vizinhos
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA



PROJETO DE PESQUISA / AULA PRÁTICA

Título:	Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais de ovinos alimentados com óleos funcionais na dieta
Área Temática:	Nutrição e alimentação animal
Pesquisador / Professor:	Magali Floriano da Silveira
Instituição:	Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Dois Vizinhos
Financiamento:	Não
Versão:	02

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA	Protocolo nº 2015-25
<p>Apresentação do Projeto: Esta pesquisa tem por objetivo avaliar os efeitos da inclusão de óleos funcionais extraídos da mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) e da casca da castanha do caju (<i>Anacardium occidentale</i> L.) sobre consumo, digestibilidade, e parâmetros ruminais. Os tratamentos constarão da adição de 2, 4 e 6 gramas de óleos funcionais à dieta basal (relação volumoso concentrado 50:50), fracionados ao fornecimento de duas vezes ao dia. O delineamento experimental será quadrado latino 4x4, com quatro tratamentos e quatro repetições. Serão utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida, com peso médio corporal de 50 kg, fistulados no rúmen com cânula permanente, mantidos em gaiolas com bebedouros e comedouros individuais. Cada período será composto de 20 dias, com 15 dias de adaptação à dieta e cinco dias para coletas de líquido ruminal, fezes total, e urina. As análises serão perpetradas com base a parâmetros ruminais e urina, sendo realizadas a aferição do pH, concentração de amônia, açúcares, peptídeos e contagem de protozoários no líquido ruminal, e em relação a urina, realizada a determinação de alantoina e purina.</p>	
<p>Objetivo: Avaliar a influência da adição de óleos funcionais sobre consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais (pH, concentração de amônia, açúcares e peptídeos), contagem de protozoários, e determinação de alantoina e purina na urina.</p>	
<p>Avaliação dos Riscos e Benefícios:</p> <p>Riscos: Estresse por estarem contidos em espaço restrito e também durante a coleta de líquido ruminal e de sangue. No entanto oferece pouco risco, pois os animais serão adaptados previamente; as coletas e o manejo serão realizados por profissional com experiência.</p> <p>Benefícios: Compreender os efeitos dos óleos funcionais sobre o consumo, digestibilidade e os parâmetros ruminais de ovinos. Também se espera que os óleos funcionais melhorem a eficiência de utilização dos nutrientes e seja um substituto potencial dos ionóforos.</p>	
<p>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Apresenta relevância científica e aplicação na área.</p>	
<p>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:</p> <p>Foram apresentados os seguintes termos e documentos: 1) Requerimento preenchido completamente e assinado pelo pesquisador responsável pelo projeto; 2) formulário unificado de encaminhamento do CEUA/UTFPR/DV; 3) projeto de pesquisa completo no modelo da PROPPG-CEUA; 4) declaração de não início do projeto (com assinatura e</p>	



<p>data); 7) registro de projeto junto a Diretoria responsável (anuência da DIRPPG ou Direc, para pesquisa, e da coordenação de curso para aula prática).</p> <p>A canulação dos animais, que serão utilizados no experimento, foi aprovada pelo CEUA da UTFPR sob o protocolo nº 2013-002</p>
<p>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:</p> <p>Não há.</p>
<p>Situação do Parecer:</p> <p>APROVADO</p>
<p>Considerações Finais a Critério da CEUA:</p> <p>Todos os procedimentos devem seguir a lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008.</p>

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais de ovinos alimentados com óleos funcionais na dieta", protocolo nº 2015/25, sob a responsabilidade de Magali Fioriani da Silveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.895, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR) da UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, em reunião de 10/12/2015.

Vigência do projeto:	Início: 04/01/2015 Término: 27/02/2017
Espécie/Inragem:	Ovinos / SRD
Número de animais:	4
Peso/Idade:	50 kg/ 2 anos
Sexo:	Machos
Origem:	Institucional

Dois Vizinhos, 10 de dezembro de 2015.

Nédia C. Ghisai

Assinado por:

Nédia de Castilhos Ghisai

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná

6 ANEXOS

Anexo A. Normas para publicação de artigos científicos da revista Brasileira de Zootecnia



Instructions to Authors – 2015¹

Topics:	
1. Scope	1
2. Editorial policies	1
2.1. Open access and peer review	1
2.2. Assurance of contents and assignment of copyright	2
2.3. Language	2
2.4. Publication costs	2
2.5. Care and use of animals	2
2.6. Types of articles	3
3. Guidelines to prepare the manuscript	3
3.1. Structure of a full-length research article	3
3.2. Structure of the article for short communication and technical note	7
3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage	7
3.4. Additional guidelines for style and units – Representation of dispersion	8
3.5. Additional guidelines for style and units – Use of abbreviations	12
4. Guidelines to submit the manuscript	15
4.1. The Manuscript Central™ online system	15
4.2. The cover letter	16

1. Scope

Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science (RBZ) encompasses all fields of Animal Science Research. The RBZ publishes original scientific articles in the areas of Aquaculture; Forage; Animal Genetics and Breeding; Animal Reproduction; Ruminant and Non-Ruminant Nutrition; Animal Production Systems and Agribusiness.

2. Editorial policies

2.1. Open access and peer review

The RBZ is sponsored by the Brazilian Society of Animal Science, which provides readers or their institutions with free access to peer-reviewed articles published online by RBZ. Users have the right to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of

articles. *Revista Brasileira de Zootecnia* is included in the Directory of Open Access Journals (DOAJ).

All the contents of this journal, except where otherwise noted, are licensed under a Creative Commons attribution-type BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

A peer-review system is exerted on manuscripts sent for appreciation to maintain standards of quality, improve performance, and provide credibility. We use the double-blind style of reviewing by concealing the identity of the authors from the reviewers, and vice versa. Communication with authors should only be through the Scientific Editor (named as Editor-in-chief). Authors are given the chance to designate names to be considered by the Editor-in-chief as preferred or non-preferred reviewers. Reviewers should notify the editor about conflicts of interest (either positive or negative) that may compromise their ability to provide a fair and an unbiased review.

¹ Revised September 2015.

2.2. Assurance of contents and assignment of copyright

When submitting a manuscript for review, authors should make sure that the results of the work are original, and that the total or partial content of the manuscript, regardless of the language, has not been/ is not being considered for publication in any other scientific journal. Additionally, the authors assure that if they have used the work and/or words of others this has been appropriately cited or quoted warranting absence of plagiarism, which constitutes unethical publishing behavior.

Papers already published or that have been submitted to any other journal will not be accepted. Fractioned or subdivided studies should be submitted together because they will be assigned to the same reviewers.

The content of the articles published by *Revista Brasileira de Zootecnia* is of sole responsibility of their authors.

Authors who have a manuscript approved by RBZ are also requested to authorize that the right of total or partial electronic and graphic reproduction (copyright) of the paper be transferred to the Brazilian Society of Animal Science, which ensure us the rights necessary for the proper administration of electronic rights and online dissemination of journal articles.

After completing the submission of the manuscript by using the Manuscript Central™ online system, the corresponding author will be asked to upload the file named Assurance of Contents and Copyright and will be responsible for obtaining the signatures of all co-authors. A template with the same name has been already prepared by the Brazilian Society of Animal Science and is available on the journal website at <http://www.revista.sbz.org.br/assurance-of-contents/?idiom=en>.

The original text of the template must not be altered but only completed with the necessary information. All authors are invited to fill it out properly, sign it, scan and email it to RBZ's office by: secretariarbz@sbz.org.br confirming or even disagreeing with their participation in the manuscript.

The manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms, after which the editorial office will act by withdrawing the manuscript.

2.3. Language

Submissions will only be accepted in the English language (either American or British spelling). The editorial board of RBZ reserves the right to demand that authors revise the translation or to cancel the processing of the manuscript if the English version submitted contains errors of spelling, punctuation, grammar, terminology, jargons or semantics that can either compromise good understanding or not follow the journal's standards. It is strongly recommended that the translation process be performed by native speakers of English.

2.4. Publication costs

The payment of the processing fee is a prerequisite for submitting manuscripts to referees. Authors will be charged the amount of R\$ 53.00 (Fifty-three Brazilian Reals and no cents) per manuscript, which must be done by credit card, accordingly to guidance available on the SBZ website (www.sbz.org.br).

The current charge for publication is different for members and non-members of the BSAS. Considering full-length articles, the fee for members is R\$ 160.00 (up to 8 pages in the final format) and R\$ 59.00 for each extra page. Once the manuscript is approved, all authors must meet the deadline of current year's membership fee, except for the co-authors who do not work directly in that area, provided they are not the first author and have not published more than one article in the year in question (recurrence). For non-members of BSAS, there is a charge of R\$ 128.00 per page (up to 8 pages in the final format) and R\$ 251.00 for each page that exceeds it.

2.5. Care and use of animals

The *Revista Brasileira de Zootecnia* is committed to the highest ethical standards of animal care and use. Research presented in manuscripts reporting the use of animals must guarantee to have been conducted in accordance with applicable federal, state, and local laws, regulations, and policies governing the care and use of animals. The author should ensure that the manuscript contains a statement that all procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and, whenever pertinent, that the appropriate institutional committee(s) has approved them before commencement of the study.

2.6. Types of articles

Full-length research article

A full-length research paper provides a complete account of the experimental work. The text should represent the research process and foster its cohesive understanding and a coherent explanation regarding all the experimental procedures and results and must provide the minimal information necessary for an independent reproduction of the research.

Short communication

A succinct account of the final results of an experimental work, which has full justification for publication, although with a volume of information which is not sufficient to be considered a full-length research article. The results used as the basis to prepare the short communication cannot be used subsequently, neither partially nor wholly, for the presentation of a full-length article.

Technical note

An evaluation report or proposition of a method, procedure or technique that correlates with the scope of RBZ. Whenever possible, one should show the advantages and disadvantages of the new method, procedure or technique proposed, as well as its comparison with those previously or currently employed, presenting the proper scientific rigor in analysis, comparison, and discussion of results.

Board-invited reviews

An approach that represents state-of-the-art or critical view of issues of interest and relevance to the scientific community. It can only be submitted by invitation of the editorial board of RBZ. The invited reviews will be subjected to the peer-review process.

Editorial

Notes to clarify and establish technical guidelines and/or philosophy for designing and making of articles to be submitted and evaluated by RBZ. The editorials will be drafted by or at the invitation of the editorial board of RBZ.

3. Guidelines to prepare the manuscript

3.1. Structure of a full-length research article

Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated files and not as part of the body of the manuscript.

The article is divided into sections with centered headings, in bold, in the following order: Abstract, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (or Results and Discussion), Conclusions, Acknowledgments (optional) and References. The heading is not followed by punctuation.

3.1.1. Manuscript format

The text should be typed by using Times New Roman font at 12 points, double-space (except for Abstract and Tables, which should be set at 1.5 space), and top, bottom, left and right margins of 2.5, 2.5, 3.5, and 2.5 cm, respectively.

The text should contain up to 25 pages, sequentially numbered in arabic numbers at the bottom, leaving the authors to bear the additional costs of publishing extra pages at the time of publication (see publication costs). The file must be edited by using Microsoft Word® software.

3.1.2. Title

The title should be precise and informative, with no more than 20 words. It should be typed in bold and centered as the example: **Nutritional value of sugar cane for ruminants**. Names of sponsor of grants for the research should always be presented in the Acknowledgments section.

3.1.3. Authors

The name and institutions of authors will be requested at the submission process; therefore they should not be presented in the body of the manuscript. Please see the topic 4. Guidelines to submit the manuscript for details.

The listed authors should be no more than eight.

Spurious and "ghost" authorships constitute an unethical behavior. Collaborative inputs, hand labor, and other types of work that do not imply intellectual contribution may be mentioned in the Acknowledgments section.

3.1.4. Abstract

The abstract should contain no more than 1,800 characters including spaces in a single paragraph. The information in the abstract must be precise. Extensive abstracts will be returned to be adequate with the guidelines.

The abstract should summarize the objective, material and methods, results and conclusions. It should not contain any introduction. References are never cited in the abstract.

The text should be justified and typed at 1.5 space and come at the beginning of the manuscript with the word ABSTRACT

capitalized, and indented at 1.0 cm from the left margin. To avoid redundancy the presentation of significance levels of probability is not allowed in this section.

3.1.5. Key Words

At the end of the abstract list at least three and no more than six key words, set off by commas and presented in alphabetical order. They should be elaborated so that the article is quickly found in bibliographical research. The key words should be justified and typed in lowercase. There must be no period mark after key words.

3.1.6. Introduction

The introduction should not exceed 2,500 characters with spaces, briefly summarizing the context of the subject, the justifications for the research and its objectives; otherwise it will be rerouted for adaptation. Discussion based on references to support a specific concept should be avoided in the introduction.

Inferences on results obtained should be presented in the Discussion section.

3.1.7. Material and Methods

Whenever applicable, describe at the beginning of the section that the work was conducted in accordance with ethical standards and approved by the Ethics and Biosafety Committee of the institution.

A clear description on the specific original reference is required for biological, analytical and statistical procedures. Any modifications in those procedures must be explained in detail.

3.1.8. Results and Discussion

In making this section, the author is granted to either combine the results with discussion or to write two sections by separating results and discussion (which is encouraged). Sufficient data, with means and some measure of uncertainty (standard error, coefficient of variation, confidence intervals, etc.) are mandatory, to provide the reader with the power to interpret the results of the experiment and make his own judgment. The additional guidelines for styles and units of RBZ should be checked for the correct understanding of the exposure of results in tables. The Results section cannot contain references.

In the Discussion section, the author should discuss the results clearly and concisely and integrate the findings with the literature published to provide the reader with a broad base on which they will accept or reject the author's hypothesis.

Loose paragraphs and references presenting weak relationship with the problem being discussed must be avoided. Neither speculative ideas nor propositions about the hypothesis or hypotheses under study are encouraged.

3.1.9. Conclusions

Be absolutely certain that this section highlights what is new and the strongest and most important inferences that can be drawn from your observations. Include the broader implications of your results. The conclusions are stated by using the present tense.

3.1.10. Acknowledgments

This section is optional. It must come right after the conclusions.

The Acknowledgments section must not be included in the body of the manuscript; instead, a file named Acknowledgment should be prepared and then uploaded as an additional document during submission. This procedure helps RBZ to conceal the identity of authors from the reviewers.

3.1.11. Use of abbreviations

Author-derived abbreviations should be defined at first use in the abstract, and again in the body of the manuscript, and in each table and figure in which they are used.

The use of author-defined abbreviations and acronyms should be avoided, as for instance: T3 was higher than T4, which did not differ from T5 and T6. This type of writing is appropriate for the author, but of complex understanding by the readers, and characterizes a verbose and imprecise writing.

3.1.12. Tables and Figures

It is essential that tables be built by option "Insert Table" in distinct cells, on Microsoft Word® menu (No tables with values separated by the ENTER key or pasted as figure will be accepted). Tables and figures prepared by other means will be rerouted to author for adequacy to the journal guidelines.

Tables and figures should be numbered sequentially in Arabic numerals, presented as separate files to be uploaded, and must not appear in the body of the manuscript.

The title of the tables and figures should be short and informative, and the descriptions of the variables in the body of the table should be avoided.

In the graphs, designations of the variables on the X and Y axes should have their initials in capital letters and the units in parentheses.

Non-original figures, i.e., figures published elsewhere, are only allowed to be published in RBZ with the express written consent of the publisher or copyright owner. It should contain, after the title, the source from where they were extracted, which must be cited.

The units and font (Times New Roman) in the body of the figures should be standardized.

The curves must be identified in the figure itself. Excessive information that compromises the understanding of the graph should be avoided.

Use contrasting markers such as circles, crosses, squares, triangles or diamonds (full or empty) to represent points of curves in the graph.

Figures should be built by using Microsoft Excel®, or even the software Corel Draw® (CDR extension) to allow corrections during copyediting, and uploaded as separate files, named Figures during submission. Use lines with at least 3/4 width. Figures should be used only in monochrome and without any 3-D or shade effects. Do not use bold in the figures.

The decimal numbers presented within the tables and figures must contain a point, not a comma mark.

Mathematical formulas and equations must be inserted in the text as an object and by using Microsoft Equation or a similar tool.

3.1.13. References

Reference and citations should follow the Name and Year System (Author-date)

3.1.14. Citations in the text

The author's citations in the text are in lowercase, followed by year of publication. In the case of two authors, use 'and'; in the case of three or more authors, cite only the surname of the first author, followed by the abbreviation et al.

Examples:

Single author: Silva (2009) or (Silva, 2009)

Two authors: Silva and Queiroz (2002) or (Silva and Queiroz, 2002)

Three or more authors: Lima et al. (2001) or (Lima et al., 2001)

The references should be arranged chronologically and then alphabetically within a year, using a semicolon (;) to separate multiple citations within parentheses, e.g.: (Carvalho, 1985; Brito, 1998; Carvalho et al., 2001).

Two or more publications by the same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date, e.g., (Silva, 2004a,b).

Personal communication can only be used if strictly necessary for the development or understanding of the study. Therefore, it is not part of the reference list, so it is placed only as a footnote. The author's last name and first and middle initials, followed by the phrase "personal communication", the date of notification, name, state and country of the institution to which the author is bound.

3.1.15. References section

References should be written on a separate page, and by alphabetical order of surname of author(s), and then chronologically.

Type them single-spaced, justified, and indented to the third letter of the first word from the second line of reference.

All authors' names must appear in the References section.

The author is indicated by their last name followed by initials. Initials should be followed by period (.) and space; and the authors should be separated by semicolons. The word 'and' precedes the citation of the last author.

Surnames with indications of relatedness (Filho, Jr., Neto, Sobrinho, etc.) should be spelled out after the last name (e.g., Silva Sobrinho, J.).

Do not use ampersand (&) in the citations or in the reference list.

As in text citations, multiple citations of same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date.

In the case of homonyms of cities, add the name of the state and country (e.g. Gainesville, FL, EUA; Gainesville, VA, EUA).

Sample references are given below.

Articles

The journal name should be written in full. In order to standardize this type of reference, it is not necessary to quote the website, only volume, page range and year. Do not use a comma (,) to separate journal title from its volume; separate periodical volume from page numbers by a colon (:).

Miotto, F. R. C.; Restle, J.; Nelva, J. N. M.; Castro, K. J.; Sousa, L. F.; Silva, R. O.; Freitas, B. R. and Leão, J. P. 2013. Replacement of corn by babassu mesocarp bran in diets for feedlot young bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:213-219.

Articles accepted for publication should preferably be cited along with their DOI.

Fukushima, R. S. and Kerley, M. S. 2011. Use of lignin extracted from different plant sources as standards in the spectrophotometric acetyl bromide lignin method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, doi: 10.1021/jf104826n (in press).

Books

If the entity is regarded as the author, the abbreviation should be written first accompanied by the corporate body name written in full.

In the text, the author must cite the method utilized, followed by only the abbreviation of the institution and year of publication.

e.g.: "...were used to determine the mineral content of the samples (method number 924.05; AOAC, 1990)".

Newmann, A. L. and Snapp, R. R. 1997. *Beef cattle*. 7th ed. John Wiley, New York.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Book chapters

The essential elements are: author (s), year, title and subtitle (if any), followed by the expression "In", and the full reference as a whole. Inform the page range after citing the title of the chapter.

Lindhal, I. L. 1974. Nutrición y alimentación de las cabras. p.425-434. In: *Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes*. 3rd ed. Church, D. C., ed. Acribia, Zaragoza.

Theses and dissertations

It is recommended not to mention theses and dissertations as reference but always to look for articles published in peer-reviewed indexed journals. Exceptionally, if

necessary to cite a thesis or dissertation, please indicate the following elements: author, year, title, grade, university and location.

Castro, F. B. 1989. *Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos*. Dissertação (M.Sc.). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Palhão, M. P. 2010. *Induced codominance and double ovulation and new approaches on luteolysis in cattle*. Thesis (D.Sc.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.

Bulletins and reports

The essential elements are: Author, year of publication, title, name of bulletin or report followed by the issue number, then the publisher and the city.

Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications)*. Agriculture Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, D.C., USA.

Conferences, meetings, seminars, etc.

Quote a minimal work published as an abstract, always seeking to reference articles published in journals indexed in full.

Casaccia, J. L.; Pires, C. C. and Restle, J. 1993. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. p.468. In: *Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Rio de Janeiro.

Weiss, W. P. 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. p.176-185. In: *Proceedings of the 61th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Cornell University, Ithaca.

Article and/or materials in electronic media

In the citation of bibliographic material obtained by the Internet, the author should always try to use signed articles, and also it is up to the author to decide which sources actually have credibility and reliability.

In the case of research consulted online, inform the address, which should be presented between the signs < >, preceded by the words "Available at" and the date of access to the document, preceded by the words "Accessed on:".

Rebollar, P. G. and Blas, C. 2002. Digestión de la soja integral en ruminantes. Available at: <http://www.assoymeal.org/ruminant_s.pdf> Accessed on: Oct. 28, 2002.

Quotes on statistical software

The RBZ does not recommend bibliographic citation of software applied to statistical analysis. The use of programs must be informed in the text in the proper section, Material and Methods, including the specific procedure, the name of the software, its version and/or release year.

. statistical procedures were performed using the MIXED procedure of SAS (Statistical Analysis System, version 9.2.)

3.2. Structure of the article for short communication and technical note

The presentation of the title should be preceded by the indication of the type of manuscript whether it is a short communication or a technical note, which must be centered and bold.

The structures of short communications and technical notes will follow guidelines set up for full-length papers, limited, however, to 14 pages as the maximum tolerated for the manuscript.

Processing and publishing fees applied to communications and technical notes are the same for full-length papers, considering, however, the limit of four pages in its final form. A fee will be charged for publishing additional pages.

3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage

Because of the intense use of units in percentage form (%), the Editorial Board of *Revista Brasileira de Zootecnia* defines that percentage should be exceptionally and seldom used only for description of relative variations (e.g., variation of a result obtained in a given treatment in relation to other treatment) and not as an absolute unit of measurement.

3.3.1. Chemical or feed composition of diets

Chemical compositions of diets or feedstuffs have to be expressed as mass contents, e.g., g kg^{-1} of dry matter or g kg^{-1} as fed.

Examples:

Food composition of the concentrate mixture supplied to animals

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg^{-1} as fed)
Corn grain	70.0	700
Soybean meal	27.0	270
Urea	1.0	10
Mineral mixture	2.0	20

Chemical composition of corn silage

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg^{-1} as fed)
Dry matter ¹	35.23	352.3
Organic matter ²	95.45	954.5
Crude protein ³	7.06	70.6
Fiber extract ⁴	2.31	23.5
Neutral detergent fiber corrected for ash and protein ⁵	55.06	550.6
Non-fibrous carbohydrates ²	29.30	293.0
Non-protein nitrogen ³	32.45	324.5

¹ Incorrect: percent as fed. Correct: g kg^{-1} as fed.

² Incorrect: dry matter percentage. Correct: g kg^{-1} dry matter.

³ Incorrect: total nitrogen percentage. Correct: g kg^{-1} total nitrogen.

3.3.2. Measures of intake

Measures of intake have to be expressed as mass consumed per mass unit per unit of time.

Example:

Incorrect: "... animals presented average intake of 2.52% of body weight..."

Correct: "... animals presented average intake of $25.2 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ of body weight..."

3.3.3. Units expressed as coefficients

In animal science, it is common to produce variables given by the ratio between two variables. Therefore, because they represent direct measures made at the experimental unit and not relative comparisons among different situations (e.g., among treatments), those variables have to be expressed as mass unit per mass unit.

Most common examples:

Measures of digestibility coefficients

Incorrect: "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 62.5%..."

Correct: "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 0.625..." (In this example, because it is a fractional measure, it is understood that it is expressed as g g^{-1} or kg kg^{-1}). Another possibility is to express it as 625.0 g kg^{-1} of dry matter.

Measures of fractions in degradation assays or body fraction yields or microbial growth

Incorrect: "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was 36.2%..."

Correct: "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was $36.3 \text{ g}/100 \text{ g}$..." Another possibility is to express it as 363.0 g kg^{-1} of crude protein.

Incorrect: "...average carcass dressing was 52.1% of body weight..."

Correct: "...average carcass dressing was $52.1 \text{ kg}/100 \text{ kg}$ of body weight..."

Incorrect: "... a microbial yield efficiency of 12.53% in comparison with intake of total digestible nutrients..."

Correct: "... a microbial yield efficiency of 125.3 g of microbial protein per kg of total digestible nutrients..."

Rates or variations over time in enzymatic measures or degradation assays or transit in the gastrointestinal tract

Incorrect: "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 3.5%/h..."

Correct: "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 0.035 h⁻¹..." The number of decimal places to be presented should not exceed four; otherwise use scientific notation, i.e., $a \times 10^b$, or change the scale of measurements.

Coefficients of correlation and determination, and descriptive levels of probability

Coefficients of correlation and determination, and levels of probability are fractions and should not be expressed as percentage.

Incorrect: "... the coefficient of determination of the model was 92.53%..."

Correct: "... the coefficient of determination of the model was 0.9253..."

Incorrect: "... variables were strongly correlated ($r = -0.8239$)..."

Correct: "... variables were strongly correlated ($r = -0.8239$)..."

Incorrect: "... $\alpha = 5\%$..."

Correct: "... $\alpha = 0.05$..."

3.3.4. Correct use of percentages

As previously highlighted, percentage should be used only for description of relative variations. And it must be used with parsimony.

Example:

Table 1 - Serum urea nitrogen concentrations (SUN, mg dl⁻¹) - In grazing cattle

Item	Supplement ^a			CV (%)
	Control	Protein	Starch	
SUN	9.5b	14.3a	9.4b	7.0

^a Means within rows followed by different letters are different by the Tukey test ($P < 0.05$).

"...protein supplementation increased SUN concentration by 50.5% in relation to the control..."

3.4. Additional guidelines for style and units - Representation of dispersion

The clear, cohesive and correct representation of the results of a research paper is a key component of the characteristics that comprise comprehension, quality and reliability of the scientific publishing process.

However, the direct observation of the manuscripts submitted and the papers published by RBZ enlightens the plurality of the forms of exposure of the indicators of significance and dispersion (measures of uncertainty) of the results presented.

The Editorial Board of RBZ understands that the number of particularities in the form of exposing the results is directly proportional to the number of experimental designs and arrangements, as well as the number of statistical methods utilized.

Nevertheless, standard guidelines should and can be adopted by the authors in order to make the manner of exposure of the results more homogeneous. Thus, the guidelines presented below, which comprise the most common situations, must be followed by the authors for the correct establishment of the publishing style of Revista Brasileira de Zootecnia.

3.4.1. About the representation of the descriptive levels of probability for type I error (P-value)

Following the international trend of results exposure in research papers, the authors are recommended to present P-values from the statistical analyses to the readers, regardless of the critical level of probability adopted in the manuscript (α value). Whatever methods have been applied will not alter the discussion content at all. However, this makes the presentation of results more clear and allows the reader to make "judgments" on the results if they have a different view from that presented by the authors. Reference notes for significance (e.g., use of asterisks) should be avoided.

It is mandatory that the P-value be presented with three decimal places. It must not be displayed with 2 decimal places, for it can generate ambiguity of interpretation (e.g., let us suppose that one assumes $\alpha = 0.05$. If two variables tested independently present P-values of 0.049 and 0.051, the rounding off for the two decimal places will make a P-value of 0.05 for both; however, one shows significant effect, whereas the other does not.)

3.4.2. About the critical level of probability (the α value) adopted in the manuscript and the significance representation throughout the text.

For the right discernment between significance and non-significance in hypothesis testing, according to the Neyman-Pearson school there is the need for establishing a (maximum) critical level of probability acceptable for type I error, from which the differences must be assumed as non-significant, most commonly known as " α value". This must be properly exposed at the end of the description of the statistical procedures, because it is part of the methods set for the research paper:

Example: "... $\alpha = 0.05$."

The choice of the α value must be done during the experimental planning, considering the factors inherent to the environment and the experimental material and the natural variability of the response variables to be assessed at the assay. Although the α value refers nominally to control of type I error, it must be pointed out that the probability of occurrence of type I and II errors commonly manifest antagonistically. Therefore, more strict α values (e.g., 0.01) represent a great control of type I error, but may reduce the level of control of type II error. In this way, it is up to the researcher, after the proper experimental considerations, to define the priorities of control of the statistical errors in their conditions and to adopt the pertinent α level.

If an author chose to make assertions about significance or no significance based on the previous choice of α , the indication of significance must agree with that choice. For instance, let us take a study conducted with $\alpha = 0.05$. In this study, the analysis of variance showed a P-value of 0.019. When presenting this to the reader in the text, the author must utilize: "...a difference was observed ($P < 0.05$)."

For expressions in the text, use the letter P (capital letter), not in italic and without spaces. Example: "...Intake increased ($P < 0.05$), but there was no change in weight gain ($P > 0.05$)." Additionally, for an RBZ's convention, the symbols \leq or \geq must not be used. Use only $<$ or $>$. Do not use the form " $P = 0.XX$ ".

The basic theory of hypothesis testing shows us the fact that there are two, and only two, distinct regions under a distribution of probability when this is utilized in the test: acceptance region of H_0 and rejection region of H_0 (or region of no rejection of H_0 and region of no acceptance of H_0 , as some areas would rather use).

This leads us to the warning about two common mistakes involving the interpretation of significance: the use of the term "tendency" or "trend" and the qualification of significance (according to the Neyman-Pearson school).

To illustrate the first mistake, let us suppose that an author is conducting a research project in whose planning $\alpha = 0.05$. At the analyses, for one of the variables, a P-value of 0.061 was observed. Due to the proximity of this value to the α value, the researcher presents in their text: "...for the X variable there was tendency for difference..."

Considering the summarized idea of tests and hypotheses presented previously, this type of argument is invalid, since there is no region of "tendency for acceptance of H_0 " or "tendency for rejection of H_0 ". Thus, the value of the statistics calculated can only be included in the regions of "rejection" or "not rejection" of H_0 . In this sense, the proximity of the value to α does not matter, contrarily to which region the statistics' calculated value suits.

Otherwise, to illustrate the second mistake, let us take a research paper in whose planning $\alpha = 0.05$. In this case, two variables presented at ANOVA, P-values of 0.035 and 0.002. Some may state that the first result is taken as significant, and the second as "highly" significant, which characterizes qualification. Again, there is the warning: the proximity between the values of P and α does not matter. Hence, there are no "little", "very", "highly" or "poorly" significant results, but only significant or non-significant.

However, there is an increasing tendency among authors worldwide to commingle the Fisher school with the Neyman-Pearson school, i.e., to present significance level and compromise statistical precision with body of evidence in rejecting or not rejecting the null hypothesis. The Fisher school is based on body or strength of evidence, which means that the lower the P-value, the stronger the evidence. By body of evidence we mean that for some reason, such as some experimental conditions that could be controlled but were not, or some variable or variables that are known to interfere on treatment effects but were not dealt with for some particular reason (cost, rain, drought, etc.), a researcher is not forced to conclude in favor of the maintenance of the status quo simply because he (she) found $P = 0.058$. Therefore, we strongly suggest the presentation of the confidence intervals because they combine the magnitude of a treatment effect with the statistical precision and, as such, it circumvents the accept-reject dichotomy of the null hypothesis. Confidence intervals move us away from that dichotomy (Stang et al., 2010)¹.

¹ Stang, A.; Poole, C. and Kass, G. 2010. The ongoing tyranny of statistical significance testing in biomedical research. *European Journal of Epidemiology* 25:225-230.

The probability that a continuous random variable equals any one value is ZERO. That's why confidence intervals are built, because instead of making inference about the true value of a parameter, we are now interested in inferring that the true value of the parameter lies within some interval, i.e., the confidence interval. For all practical applications this means that estimates have to be given as the estimate of the mean plus or minus a certain amount (Mood et al., 1974)². Therefore,

$$P\left[\bar{X} - t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n} < \mu < \bar{X} + t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}\right] = 0.95$$

means that the probability that the random interval $\left(\bar{X} - t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{X} + t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}\right)$ covers the unknown true mean μ equals 0.95. The length of the interval is $2t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$ and is dependent on sample size (n) and sample variance (s^2). The statistics $t_{\alpha/2}$ is some statistics that could be computed from data and on the prior establishment of the significance level (α). Therefore, if authors want to present confidence intervals, they must previously define them. As possible examples we list:

*... the means were presented as

$$\bar{X} \left(\bar{X} - t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{X} + t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n} \right)^{3,4}$$

*... and confidence intervals for the means presented as $\bar{X} \pm t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$.

There are statistical softwares that present confidence intervals as outputs, and in such cases, the length of the intervals presented can be calculated as the upper minus the lower limits of the confidence interval. Therefore, provided that the assumption about the distribution of errors holds true, for a given statistics computed from the data, $t_{\alpha/2} \sqrt{s^2/n} = (\text{upper} - \text{lower}) / 2$. For all cases reported above, $s^2 = \text{RMS}$, in which RMS is the residual mean square.

3.4.3. Suggestions of styles for the representation of P-values and dispersion indicators in Tables for the most common experimental designs and arrangements⁷

Balanced experiments with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements, and considering homogeneous variances among treatments

² Mood, A. M., Graybill, F. A. and Boes, D. C. 1974. Introduction to the theory of statistics. McGraw-Hill Kogakusha, LTD, Tokyo.

³ All the examples herein described are hypothetical. None of them was taken from real experimental situations.

In these situations, this form of table is recommended:

Table 1 - Voluntary intake of animals fed a diet with different energetic sources

Item	Energetic source ¹			P-value	CV (%)
	Alpha	Beta	Gamma		
	log d ⁻¹				
Dry matter	6.301a	5.302b	5.892ab	0.038	5.3
	g/kg of body weight				
Neutral detergent fiber	12.5a	10.4b	11.2b	0.045	4.8

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test (P<0.05).

In this example, the coefficient of variation (CV) is calculated as:

$$CV (\%) = \frac{\sqrt{\text{RMS}}}{\bar{Y}} \times 100$$

In which: RMS = residual mean square; and \bar{Y} = overall mean obtained from all the observations.

Although CV is widely adopted in Brazil, there is a trend for its replacement in the international journals by the standard error of the mean. This also shows as reality for the users of PROC MIXED of SAS, which does not compute CV values for ANOVA. If this is the option for the authors, the tables can be put together as:

Table 2 - Total digestibility coefficients (g g⁻¹) of animals fed diets containing different energetic sources

Item	Energetic source ¹			P-value	SEM
	Alpha	Beta	Gamma		
Dry matter	0.605b	0.612b	0.669a	0.0172	0.005

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test (P<0.05).

The standard error of the mean must be expressed with the same number of decimal places applied to the means, and can be represented in the table by the acronym "SEM" or by the notation $S_{\bar{Y}}$. For the specific case of this example, SEM is calculated as:

$$S_{\bar{Y}} = \frac{\sqrt{\text{RMS}}}{\sqrt{n}}$$

In which: RMS = residual mean square; and n = number of observations in each treatment.

It is important to emphasize that in case of supposition of homogeneous variances among treatments, only one indicator of variance must be presented; the indication of different standard errors to the different treatments is inconsistent with the presuppositions of the analyses.

Balanced experiments balanced with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering heterogeneous variances among treatments

This type of experimental interpretation has become common with the evolution of the statistical software, especially with the utilization of PROC MIXED, from SAS. In this case, as different variances will be assumed among treatments, each treatment must be followed by its respective indicator of dispersion; in this case, the standard error may be used. Another possibility is to present the associated confidence intervals for treatment means.

Table 3 - Characteristics of the metabolism of nitrogen compounds in animals fed different protein sources

Item	Protein source ¹			P-value
	Omega	Fl	Kapa	
Serum urea nitrogen (mg dL ⁻¹)	12.25±1.36b	17.18±1.75a	18.54±0.96a	0.023

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey-Kramer test (P<0.05).

We stress that the indicator of dispersion presented in Table 1 is inherent to the treatment's mean (thence the association by the symbol ±). In this case, the standard error is mandatory (standard deviation must not be used). The presentation of the confidence intervals may offer a rather comprehensive data description.

Balanced experiments with quantitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments

The differences between quantitative treatments must not be interpreted by means of conventional tests of multiple comparisons (e.g., Tukey, LSD, Duncan, SNK, Dunnett). Utilize appropriate tests of multiple comparisons (e.g., The Williams test) or utilize regression models (linear or nonlinear).

A common and usually efficient form to interpret can be achieved by performing orthogonal decomposition of the sum of squares for treatments in contrasts associated with the different order effects (e.g., linear, quadratic, cubic, etc.). This decomposition can be done through the adjustment of equation of linear regression corresponding to the highest significant order effect⁴.

⁴ When fitting the linear regression models, use the notation "y" (lowercase) for functions with a single independent variable (e.g., simple linear) and "Y" (capital letter) for the functions with more than one independent variable or for polynomial models (e.g., quadratic).

In the case of orthogonal decomposition, it must be emphasized that experiments carried out with "p" levels (in the case above, four levels of additive in the diet; p = 4) provide evaluation of "p-1" order effects (in the example, p - 1 = 3; linear, quadratic and cubic).

The adoption of the maxim "models of cubic or superior order do not make sense" must be careful, and in some cases, this can distort the presentation and interpretation of results.

Example:

Table 4 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg ⁻¹ of dry matter)				CV (%)	P-value ¹		
	0	3	6	9		L	Q	C
Intake (g) ²	125	135	147	152	3.8	0.015	0.225	0.567

¹ L, Q and C - linear, quadratic and cubic effects, concerning the inclusion of additive in the diet.

² $\hat{y} = 125.8 + 1.18 \times X$ ($r^2 = 0.876$).

In some cases where high-degree effects are not significant, one can proceed to its grouping in the interpretation of the experiment as "lack of fit", which can reduce the number of columns in the tables.

Example:

Table 5 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg ⁻¹ of dry matter)					CV (%)	P-value ^{1,2}		
	0	3	6	9	12		L	Q	LF
Intake (g) ³	125	135	147	152	161	4.1	0.032	0.209	0.603

¹ L and Q - effects of linear and quadratic order concerning the inclusion of additive in the diet.

² LF - lack of fit.

³ $\hat{y} = 126.2 + 2.966 \times X$ ($r^2 = 0.985$).

One example is shown in Figure 1, which simulates the interpretation of the concentration of rumen ammonia nitrogen as a function of the time after feeding. Observing the points equivalent to the average concentrations obtained in each period, it can be easily seen that the concentration of ammonia nitrogen rises up to the point of highest concentration more intensely than it declines after this point. So, at the interval evaluated, the elevation and reduction of the concentration of ammoniacal nitrogen are asymmetric in relation to the point of maximum concentration. The interpretation of this by a model of second degree (quadratic) implicitly assumes that elevation and reduction happen with the same intensity, i.e., symmetrically in relation to the point

of maximum concentration (which ends up distorting the location of the maximum point). In this case, as can be seen in Figure 1, the description is more coherent and logically done by function of the third degree (asymmetric in relation to the maximum point).

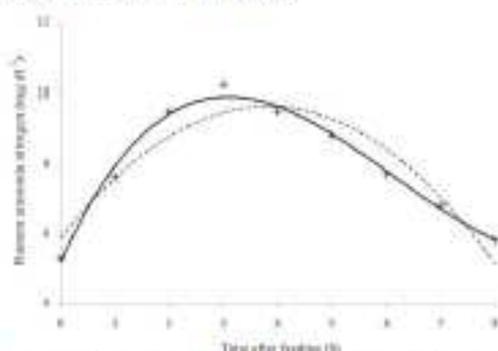


Figure 1 - Concentration of ruminal ammonia nitrogen as a function of the time after feeding (dashed line indicates quadratic function; continuous line indicates cubic function).

Balanced experiments with qualitative treatments, conducted with the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments

The adoption of experimental arrangements (e.g., factorial, split plot) is common in experiments in the animal science area, and the information from their application must be adequately exposed to the reader.

As an example, in factorial arrangements the treatments are defined by the combination of the different levels (quantitative or qualitative) of the factors studied. They start to build the aim of studies in terms of their possible interaction or their direct (independent) effects, should they not interact with themselves, on the response variables. Hence, this piece of information (interaction and/or independent effects) must be presented coherently to the reader.

Example:

Table 6 - Voluntary intake in ruminants fed low-quality forage supplemented with nitrogen compounds and/or starch

Item	WN		N		SEM	F-value ¹		
	WS	S	WS	S		N	S	N × S
	g kg ⁻¹ of body weight							
NDPcp	11.2	10.5	12.8	12.0	1.1	0.052	0.046	0.405

WN - without nitrogen compounds; N - with nitrogen compounds; WS - without starch; S - with starch; NDPcp - Neutral detergent fiber corrected for ash and proteins.

¹ N, S and N × S - effects of supplementation with nitrogen compounds, supplementation with starch and their interaction, respectively

3.5. Additional guidelines for style and units – Abbreviation

The use of defined abbreviations and acronyms by the authors, especially for treatments, should be avoided. When necessary, the abbreviation should be defined the first time it is used in the summary (abstract) and again in the body of the manuscript.

There is no need to define symbols for chemical elements or simple compounds. Units of weights and measures conform to international standards; therefore it is incorrect to create new abbreviations.

Abbreviations in the titles and tables should be avoided. Long terms or expressions that aesthetically do not fit as written in tables should be spelled out as footnote of the table or figure.

Example: "Average contents of dry matter (DM), crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), ether extract (EE), mineral matter (MM), organic matter (OM), total carbohydrates (TC), non-fiber carbohydrates (NFC), and total digestible nutrients (TDN) of the ingredients of the experimental diets." Suggestion: "Chemical composition of the experimental diets"

Do not start a sentence with an abbreviation, acronym or symbol.

Wrong: "TC is a parameter that influences the final quality of the silage."

Suggestion: Total carbohydrate composition influences the final quality of the silage.

The use of abbreviations and acronyms in the summary should be limited. Too many abbreviations in the text makes it aesthetically cluttered and impairs the comprehension. The description by using abbreviations is appropriate for the author, but difficult to interpret for the reader, who will need to stop reading to consult the descriptions in the text.

Units of measure are not abbreviated when they follow a number in full at the beginning of a sentence.

Wrong: 2 l. of water were added to the contents for analysis (...)

Suggestion: Two liters of water were added (...)

All abbreviations are written as singular, although they can be plural in the context (VFA instead of VFAs).

Abbreviations are generally not permitted in either the title or conclusions.

3.5.1. Abbreviations

AA = amino acid	EE = ether extract
AAI = essential amino acid(s)	EFA = essential fatty acid
ACTH = adrenocorticotrophic hormone	EIA = enzyme immunoassay
ADDM = apparent digestibility of dry matter	ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay
ADF = acid detergent fiber	EPD = expected progeny difference
ADFI = average daily feed intake (differs from DMI)	ETA = estimated transmitting ability
ADG = average daily gain	FA = fatty acid
ADIN = acid detergent insoluble nitrogen	FCM = fat-corrected milk
ADL = acid detergent lignin	FFA = free fatty acids
ADP = adenosine diphosphate	FSH = follicle-stimulating hormone
AI = artificial insemination	GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
AIA = acid insoluble ash	GC-MS = gas chromatography-mass spectrometry
AMP = adenosine monophosphate	GE = gross energy
ANOVA = analysis of variance	GH = growth hormone
ATP = adenosine triphosphate	GHRH = growth hormone-releasing hormone
ATPase = adenosine triphosphatase	GLC = gas-liquid chromatography
avg = average (use only in tables)	GLM = general linear model
BCS = body condition score	GnRH = gonadotropin-releasing hormone
BHBA = β -hydroxybutyrate	h ² = heritability*
BLUE = best linear unbiased estimator	hCG = human chorionic gonadotropin
BLUP = best linear unbiased predictor	HCW = hot carcass weight
bp = base pair	HEPES = N-2-hydroxyethyl piperazine-N'-ethanesulfonic acid
BSA = bovine serum albumin	HPLC = high performance (pressure) liquid chromatography
bST = bovine somatotropin	HTST = high temperature, short time
BTA = <i>Bos taurus</i> autosome	Ld. = inside diameter
BUN = blood urea nitrogen	Im. = intramuscular
BW = body weight	Ip. = intraperitoneal
CCW = cold carcass weight	Iv. = intravenous
cDNA = complementary deoxyribonucleic acid	IFN = interferon
CF = crude fiber	Ig = immunoglobulin
CI = confidence interval*	IGF = insulin-like growth factor
CLA = conjugated linoleic acid	IGFBP = insulin-like growth factor-binding protein
CN = casein	IL = interleukin
CoA = coenzyme A	IMI = intramammary infection
Co-EDTA = Cobalt ethylenediaminetetraacetate	IR = infrared reflectance
CP = crude protein	IVDMD = <i>in vitro</i> dry matter disappearance
crRNA = complementary ribonucleic acid	LA = lactalbumin
CV = coefficient of variation*	LDSO = lethal dose 50%
DCAD = dietary cation-anion difference	LG = lactoglobulin
DE = digestible energy	LH = luteinizing hormone
df = degrees of freedom*	LHRH = luteinizing hormone-releasing hormone
DFD(meat) = dark, firm, and dry	Lig = lignin
DIM = days in milk	LM = <i>longissimus(dorsi)</i> muscle
DM = dry matter	LPS = lipopolysaccharide
DMI = dry matter intake	LSD = least significant difference*
DNA = deoxyribonucleic acid	LSM = least squares means*
DNase = deoxyribonuclease	mAb = monoclonal antibody
EBV = estimated breeding value	ME = metabolizable energy
eCG = equine chorionic gonadotropin	ME _N = metabolizable energy corrected for nitrogen balance
ECM = energy-corrected milk	MIC = minimum inhibitory concentration
EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid	ML = maximum likelihood
	MP = adenosine monophosphate

MP = metabolizable protein
 mRNA = messenger ribonucleic acid
 MS = mean square*
 mtDNA = mitochondrial deoxyribonucleic acid
 MUFA = monounsaturated fatty acids
 MUN = milk urea nitrogen
 n = number of samples*
 NAD = nicotinamide adenine dinucleotide
 NADH = reduced form of NAD
 NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
 NADPH₂ = reduced form of NADP
 NAGase = N-acetyl-β-D-glucosaminidase
 NAN = nonammonia nitrogen
 NDF = neutral detergent fiber
 NE = net energy
 NEFA = nonesterified fatty acids
 NEg = net energy for gain
 NEl = net energy for lactation
 NEm = net energy for maintenance
 NEm+p = net energy for maintenance and production
 NEp = net energy for production
 NFC = nonfiber carbohydrates
 NPN = nonprotein nitrogen
 NRC = National Research Council
 NS = nonsignificant*
 NSC = nonstructural carbohydrates
 o.d. = outside diameter
 OM = organic matter
 PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis
 PBS = phosphate-buffered saline
 PCR = polymerase chain reaction
 pfu = plaque-forming unity
 PG = prostaglandin
 PGF_{2α} = prostaglandin F_{2α}
 PMNL = polymorphonuclear neutrophilic leukocyte
 PMSG = pregnant mare's serum gonadotropin
 PSE = pale, soft, and exudative (meat)
 PTA = predicted transmitting ability
 FUPA = polyunsaturated fatty acids
 QTL = quantitative trait loci
 r = correlation coefficient*
 R² = coefficient of determination*
 RDP = rumen-degradable protein
 REML = restricted maximum likelihood
 RFLP = restriction fragment length polymorphism
 RIA = radioimmunoassay
 RNA = ribonucleic acid
 RNase = ribonuclease
 rRNA = ribosomal ribonucleic acid
 RUP = rumen-undegradable protein
 s.c. = subcutaneous

SCC = somatic cell count
 SCM = solids-corrected milk
 SD = standard deviation*
 SDS = sodium dodecyl sulfate
 SE = standard error*
 SEM = standard error of the mean*
 SFA = saturated fatty acids
 SNF = solids-not-fat
 SNP = single nucleotide polymorphism
 sp., spp. = one species, several species
 SPC = standard plate count
 SS = sums of squares*
 SSC = sus scrofa chromosome
 SSPE = saline-sodium phosphate-edta buffer
 ST = somatotropin
 TCA = trichloroacetic acid
 TDN = total digestible nutrients
 TLC = thin layer chromatography
 TMR = total mixed ration
 Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane
 TSAA = total sulfur amino acids
 UF = ultrafiltration, ultrafiltered
 UHT = ultra-high temperature
 UV = ultraviolet
 VFA = volatile fatty acids
 wt = weight (use only in tables)

Physical units and other units

× = crossed with, times
 °C = celsius (with number)
 μ (prefix) = micro
 μCi = microcurie
 μE = micro-einstein
 μF = microfarads
 μg = microgram
 μg kg⁻¹ = parts per billion
 μl = microliter
 amu = atomic mass unit
 atm = atmosphere
 bp = base pair
 ca. = circa
 cal = calorie
 cc, cm³ = cubic centimeter
 cfu = colony-forming unit
 Cl = curle
 cm = centimeter
 cM = centimorgan
 cm² = centimeter, square
 cP = centipoise
 cpm = counts per minute
 cps = counts per second
 CPU = central processing unit
 cu = cubic

* Use generally restricted to tables and parenthetical expressions.

D = density
 d = day(s)
 Da = dalton
 dL = deciliter
 Eq = equivalents
 g = gram
 g = gravity
 h = hour(s)
 ha = hectare
 Hz = cycles per second (hertz)
 IU = international unit
 J = joule
 K = Kelvin
 k (prefix) = kilo
 kb = kilobase
 Kbp = kilobase pair
 KB = kilobyte
 kcal = kilocalorie
 keV = kiloelectron volts
 kg = kilogram
 kPa = kilopascal
 KI = Klett units
 L = liter
 ln = logarithm (natural)
 log₁₀ = logarithm (base 10)
 lx = lux
 M (prefix) = mega
 m (prefix) = milli
 m = meter
 M = molar (concentration)
 mg kg⁻¹ = parts per million
 min = minute(s)
 mL = milliliter
 mM = millimolar (concentration)
 mm Hg = millimeters of mercury
 mm³ = cubic millimeter
 mmol = millimole (mass)
 mo = month(s)
 mol = mole (number, mass)
 n (prefix) = nano
 N = Newton
 N = normal (concentration)
 ng = nanogram
 p (prefix) = pico
 P = probability
 Pa = Pascal
 pfu = plaque-forming unit
 pg = picogram
 rpm = revolutions per minute
 RU = rennet activity unit
 s = second(s)
 U = unit

use lx = foot-candle
 use mmol kg⁻¹ = osmolality
 V = volt
 vol = volume
 vol vol⁻¹ (use parenthetically) = volume/volume
 W = Watt
 wk = week(s)
 wt vol⁻¹ (use parenthetically) = weight/volume
 yr = year(s)
 Time: The 24h clock should be used, e.g.: 14.00 hours;
 14.30 hours

4. Guidelines to submit the manuscript

4.1. The Manuscript Central™ online system

The journal editorial office of *Revista Brasileira de Zootecnia* is now using an online system, The Manuscript Central™, to manage the submission and peer review the manuscripts. Manuscript Central™ is a product of the ScholarOne® platform of Thomson Reuters (<http://scholarone.com/>).

Manuscripts are submitted online by accessing either the journal page (<http://www.revista.sbz.org.br>) or by using the portal of the Scientific Electronic Library, SciELO at <http://www.scielo.br/rbz>. By doing so, author will find a logo of Manuscript Central™, <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbz-scielo>.

User can access the author quick start guide by clicking the link in the top right corner of the page named Get Help Now.

Those who are not registered must proceed by Creating an Account. RBZ allows their users to create their own accounts. You will see a Create Account link in the top right corner of the page. Follow the step-by-step instructions for creating your account. To keep your account information current, use the Edit Account link in the upper right corner (Create Account changes to Edit Account after your account is created). You can also change your User ID and password here.

Please retain your new password information. Manuscript Central will not send your password via email. After completing the registration process, the user will be notified by e-mail and immediately will have the access to the author center and then submit a manuscript, if is the case.

4.1.1. Authorship

The name and institutions of authors will be asked to be filled in the step 3 of the submission process, named Authors & Institutions; therefore it should not be presented in the body of the manuscript. The corresponding author should provide co-authors' information. Manuscript Central™ will help the corresponding author to check whether an author already exists in the journal's database, just by entering the author's e-mail address and clicking "Find." If the author is found, their information will be automatically filled out.

4.2. The cover letter

It is expected that the corresponding author writes a letter that explains the reasons why the editor would want to publish your manuscript.

See an example of what should go in this letter:

- Inform the title of the manuscript and the last name of the author;
- Primarily it is important to emblazon the relevance of the subject studied in a concise manner.
- If there is any novelty on your work, please report this to the editor. It is also important to stress the originality of the research, if it is the case.
- What is the main finding of the study?

- Additional results but less relevant shall be mentioned then.
- What is the implication of the findings of the study?
- Inform the editor if there is any patent related to your study.
- If any part of this study has already been published, tell the editor that this is the case of preliminary result, or only partial. Also inform the location, the event and the date of such publication. Otherwise, state that this is an original study that has not been published either in part or as a whole.

In the step 5 (Details & Comments) the corresponding author will be asked to upload a file containing the **Cover letter**.

In that step 6 (File Upload) of the submission process the corresponding author will upload files.

Files that ought to be sent besides the Main body: Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated file and not as part of the body of the manuscript.

The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of all coauthors and send the Assurance of contents and assignment of copyright. Manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms after which the editorial office act by withdrawing.