

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDUARDO FRANZ LUVISION

ÓLEOS FUNCIONAIS COMO ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

CURITIBA

2014

EDUARDO FRANZ LUVISON

ÓLEOS FUNCIONAIS COMO ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Trabalho apresentado como requisito parcial
à obtenção do grau de Zootecnista no curso
de graduação em Zootecnia, Setor de
Ciências Agrárias da Universidade Federal
do Paraná.

Orientador: Paulo Rossi Junior

Orientador no Local de Estágio: Med. Vet.
Emílio Zanetti Junior

CURITIBA

2014

TERMO DE APROVAÇÃO

EDUARDO FRANZ LUVISON

ÓLEOS ESSENCIAIS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Trabalho apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Zootecnista no curso de Graduação em Zootecnia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Rossi Jr.

Departamento de Zootecnia - UFPR

Presidente da Banca

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

Departamento de Zootecnia – UFPR

Prof. Dr. Luciano Andriguetto

Departamento de Zootecnia – UFPR

Curitiba, 14 de Julho de 2014

Dedico este trabalho a minha família que durante toda a minha graduação esteve ao meu lado, me apoiando, ajudando e incentivando em tudo. Dedico a Rogério, Marise, Bárbara, Letícia, Heloisa e Leonardo, Obrigado por tudo, amo muito vocês!

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma fizeram parte dele, e também aquelas de que alguma forma, marcaram um momento durante a minha graduação.

À minha família, que representa a parte mais importante dessas pessoas, eles que sempre estiveram ao meu lado me incentivando, me ajudando, me aconselhando, pegando no meu pé, e o mais importante, sempre me apoiando e mostrando que eu estava no caminho certo. E agora a prova, estamos todos aqui, para vencermos juntos essa etapa, e comemorarmos juntos mais uma vitória.

Em especial a Marise e o Rogério, que gerem essa família moderna com muito amor e união, que conseguiram ensinar a todos nós os verdadeiros valores da vida. Ela sempre sendo um exemplo de superação e dedicação, nunca deixando pensar em desistir, incentivando e apoiando tudo da melhor forma possível. E ele pela sua incansável determinação, até nas coisas mais simples, sempre com conselhos incomparáveis e certeiros, ajudando a passar pelos desafios mais difíceis, da melhor forma possível.

A equipe da Fazendas Stein, que teve muita paciência e agora também está preparada para entrar numa nova fase, uma nova vida, de muitas realizações para todos e muito sucesso.

Aos amigos do Lapbov, que me ensinaram muito, que me mostraram a importância de uma equipe unida, estavam sempre juntos para ajudar e garantir que o trabalho do grupo Lapbov fosse feito da melhor forma possível. Eles que dia a dia estavam lá atrás do bom e velho José Hélio, ligando incansavelmente aos frigoríficos, todos os dias, sempre com muito bom humor, o que dava gosto e orgulho de trabalhar com aquela equipe.

Aos amigos de faculdade que estavam juntos sempre nas aulas e na rotina da faculdade, tomando aquela cervejinha, mas estudando as vezes também, é

pessoal agora estamos chegando ao fim dessa etapa, mas ainda temos uma longa história para escrever na Zootecnia.

Aos Professores, em especial o Professor Paulo Rossi Jr, que me fez acreditar de verdade na minha profissão, e no potencial que ela tem, me fez acreditar que estava no caminho certo, e que acreditando em si mesmo, o tempo e a experiência iriam dar o valor que cada um merece.

Espero que durante esses 5 anos, eu tenha conseguido deixar minha dedicatória, em cada um que penso ao escrever esse pequeno texto, da forma e na intensidade que lembro de cada um, todos que participarão das minhas lembranças para sempre e espero que continuem na minha vida para sempre.

RESUMO

A busca pela eficiência no uso dos recursos disponíveis no planeta, está em constante evolução, nesse contexto, a pecuária de corte está desafiada, pois depende que seja dispendida uma grande área para o seu desenvolvimento, e junto disso enfrenta uma série de barreiras e exigências impostas pela sociedade. Visando essa eficiência a nutrição de ruminantes busca constantemente, alternativas para que esses animais sejam mais eficientes, com isso atualmente uma série de aditivos vem sendo desenvolvidos, à medida que entendemos melhor como se dá o processo de digestão desses animais e de que forma podemos o maximizar. Uma classe desses aditivos visa selecionar a microbiota presente no rúmen, câmara de fermentação pré gástrica, que dá condições ambientais favoráveis ao crescimento de microrganismos capazes de degradar as fibras de celulose e hemicelulose presente nos alimentos volumosos.

É o caso de alguns óleos funcionais, que são obtidos de diferentes partes das plantas, e apresentam uma boa concentração de metabólitos secundários, que promovem uma resposta econômica e maximize o processo digestivo dos animais. Esses óleos têm caráter antimicrobiano, antifúngico, antioxidante ou em alguns casos atua como metabólito secundário, em reações enzimáticas, e quando adicionado a dieta dos animais otimiza o processo digestivo.

Durante o estágio curricular obrigatório, realizado na empresa Natupremix nutrição e suplementos naturais, além de adquirir experiência profissional, pessoal e comercial o conhecimento a respeito dos óleos foi fundamental, mas o que deixou o estágio mais completo possível, foi a possibilidade de trabalhar com 3 espécies de animais produtores de carne (bovinos, aves e suínos) e uma produtora de leite (bovinos).

Palavras chave: pré gástrico, metabólito, ruminante, celulose, hemicelulose.

SUMÁRIO

1.Introdução	1
2.Revisão Bibliográfica	4
2.1 Aspectos Gerais.....	4
2.2 Ambiente Ruminal.....	6
2.3 Microbiologia do Rúmen.....	9
2.3.1 Fermentadores de Carboidratos Estruturais.....	9
2.3.2 Fermentadores de Carboidratos Não Estruturais.....	10
2.3.3 Lipolíticas.....	11
2.3.4 Proteolíticas.....	11
2.3.5 Anaeróbios Facultativos.....	12
2.3.6 Metanogênicos.....	12
2.3.7 Protozoários.....	12
2.3.8 Fungos.....	13
2.4 Estabelecimento dos Microrganismos no Rúmen.....	13
2.5 Principais Produtos da Fermentação Ruminal.....	14
2.5.1 Ácidos Graxos Voláteis.....	14
2.5.2 Peptídeos, Aminoácidos e Amônia.....	16
2.5.3 Metano, Dióxido de Carbono e Hidrogênio.....	16
2.5.4 Proteína Microbiana.....	17
2.6 Fatores que Afetam a Fermentação.....	17
2.6.1 Dieta.....	18
2.6.2 pH.....	19
2.6.3 Tampões.....	20
2.6.4 Taxa de Passagem.....	21
2.6.5 Nutrientes Protegidos.....	21
2.6.6 Leveduras.....	22
2.6.7 Iónoforos.....	23

2.6.7.1 Modo de Ação.....	25
2.6.8 Óleos Funcionais.....	27
2.6.8.1 Modo de Ação.....	31
2.6.8.2 Óleo de Mamona.....	32
2.6.8.3 Óleo de Caju.....	33
3. Relatório de Estágio	36
3.1 Plano de Estágio.....	36
3.2 A Empresa.....	37
3.3 Relatório de Aves.....	38
3.4 Relatório de Suínos.....	39
3.5 Relatório de Bovinos de Leite.....	40
3.6 Relatório de Bovinos de Corte.....	41
3.6.1 Desenho Experimental.....	42
4.Referências	43
5. Anexos.....	54

1. INTRODUÇÃO

Segundo o relatório do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) que trata das projeções de longo prazo para produção e demanda mundial de carne, o comércio mundial de carne deve crescer 22% até 2023. Além disso o relatório aponta o Brasil como o principal exportador de carne bovina no período.

Este cenário indica um ótimo potencial de crescimento para a pecuária de corte brasileira, mas algumas modificações podem ser necessárias para adequação do setor visando condições de crescimento para suprir a demanda mundial. Apesar de estar se aprimorando ano a ano o setor ainda vive uma realidade na qual os baixos índices de produtividade e a baixa qualidade da carne produzida podem ser um obstáculo.

Quando comparamos a pecuária dos países mais desenvolvidos - do ponto de vista da criação e exportação de carne - ao cenário nacional, é possível inferir que o país deve buscar melhorar seus índices de produtividade e modernizar toda a cadeia de produção para viabilizar uma maior rentabilidade da cadeia e um produto de melhor qualidade. Apesar de o relatório do USDA indicar que os principais importadores da carne brasileira são a Rússia e os países asiáticos que buscam carne a um preço baixo, admitindo menor qualidade, outros estudos recentes indicam que os consumidores estão se tornando mais críticos em relação a qualidade e a procedência dos alimentos, exigindo certificados que atestem e garantam tais características, além de outras especificações nos produtos adquiridos (VELHO, 2009). A tendência mundial é de padronização porém são necessárias adequações aos padrões de consumo de cada país e de cada mercado consumidor.

O aprimoramento deverá envolver toda cadeia desde a capacitação da mão de obra no campo e a gestão das fazendas, até a indústria frigorífica, o transporte e embarque da carne nos portos brasileiros. Outro ponto fundamental para tal refinamento é a nutrição animal, pois além de representar 60% – 70% dos custos de produção, garante avanços imediatos de produtividade e qualidade. Ao ajustar

a nutrição os avanços na produtividade já são observados em poucas semanas nos animais submetidos as mudanças. Além disso ela permite planejar a idade de abate dos animais, melhorar a capacidade de manter escala adequada a demanda bem como buscar melhoria na qualidade do produto final.

O estudo da nutrição moderna está em uma constante busca de novas alternativas visando aumentar a eficiência. Entre as opções utilizadas está o uso de aditivos, na maioria não nutritivos, que garantam o melhor aproveitamento dos alimentos ingeridos. Nos bovinos são utilizados uma série de aditivos como ionóforos, leveduras, óleos funcionais e tamponantes, todos visando garantir um ambiente ruminal ideal que proporcione uma maior eficiência na digestão microbiana ruminal.

Os ionóforos, entre eles a monensina, estão entre os mais pesquisados e vem sendo utilizados a mais tempo que os demais (SCHELING, 1984). Nos Estados Unidos são empregados em larga escala, desde 1976, nas dietas de gado de corte confinado, e em animais de pastejo desde 1978 (CONEGLIAN, 2009). Entretanto a partir de 2006 a União Europeia (UE) proibiu a utilização destes como aditivos alimentares. Esta é uma prerrogativa das autoridades da UE, que mesmo na ausência de dados científicos conclusivos alegam estarem adotando uma “postura preventiva” em relação a questão (LOYOLA & PAILE, 2006).

Outros países adotam o “princípio da prova”, promovendo a proibição apenas embasados em dados científicos que comprovem o fato, como é o caso do Brasil e dos Estados Unidos.

No entanto a proibição da UE, despertou a busca de alternativas a esses aditivos, assim os compostos naturais vêm de encontro com as necessidades especiais dos mercados nacionais e principalmente dos mercados internacionais (CONEGLIAN, 2009).

Umas destas alternativas são os óleos funcionais, que vem com o intuito de substituir a utilização dos ionóforos e dos diferentes aditivos nutricionais, mantendo a produtividade da cadeia e garantindo a segurança alimentar da população. Atuam de diferentes formas garantindo o bom funcionamento e maior

eficiência do rumem e também aperfeiçoam outras questões metabólicas e da sanidade animal.

Neste cenário o presente trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão sobre o uso e efeitos de óleos funcionais na alimentação dos animais ruminantes, buscando informações para a introdução do mesmo na cadeia de produção de bovina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos Gerais

A principal diferença entre herbívoros e carnívoros é a habilidade que os primeiros têm de utilizar carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) como fonte de energia. As enzimas glicosídases, necessárias ao desdobramento dos carboidratos estruturais, geralmente são fornecidas por microrganismos que estabelecem uma relação simbiótica com os herbívoros. A digestão por meio de simbiontes consiste primariamente na fermentação dos alimentos (PEIXOTO et al, 1995).

Durante a evolução os animais ruminantes desenvolveram características anatômicas e simbióticas que lhes permitiram utilizar eficientemente carboidratos estruturais como fonte de energia, e compostos nitrogenados não proteicos como fonte de proteína (BERCHIELLI, 2006).

O sucesso evolutivo dos animais ruminantes se deu por essa fermentação ocorrer antes da digestão química, caracterizando assim uma fermentação pré-gástrica, que acontece no complexo rúmen, reticulo, omaso, que são os tidos como pré estômagos. As superfícies dos pré estômagos têm características próprias, relacionadas com suas funções no processo de digestão (fermentação microbiana) e absorção (BERCHIELLI, 2006).

O epitélio que reveste os pré-estomagos é escamoso estratificado com intensa cornificação que tem papel importante na ação mecânica e protetora. Não há no epitélio queratinização completa, no extrato basal existem células com organelas que são relevantes a absorção dos produtos derivados da fermentação ruminal, como ácidos graxos voláteis (AGV's) e amônia (NH_3). A musculatura, sob inervação parassimpática, tem papel relevante na motilidade do rúmen, estando o desenvolvimento dessa associada ao tipo de alimento. Quanto mais fibroso o alimento maior será o desenvolvimento da camada muscular (BERCHIELLI, 2006).

A fermentação em ruminantes é o resultado da atividade física e microbiológica (Figura 1), que converte os componentes dietéticos a ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e vitaminas do complexo B e vitamina K, metano e dióxido de carbono, amônia, nitrato e etc (OWENS E GOETSCH, 1993).

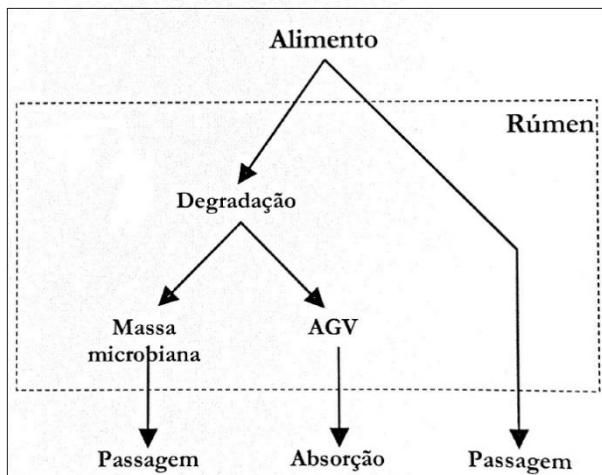


Figura 1. Representação esquemática resumida dos processos metabólicos no rúmen

Fonte: BERCHIELLE (2006)

O estômago químico ou abomaso tem características similares a dos outros mamíferos, pois possui mucosa gástrica glandular e tecido não glandular (BERCHIELLI, 2006). O abomaso funciona como o local de digestão ácida e enzimática, além de controlar o fluxo da ingesta que vai para o duodeno (DUKES, 1996), pois apesar de receber um fluxo contínuo de líquido proveniente do rúmen-retículo, faz o controle do efluxo para o duodeno de acordo com o volume de ingesta presente no intestino, controlado através de quimiorreceptores e mecanorreceptores presentes no duodeno (BERCHIELLE, 2006).

Além destas características também é importante ressaltar outras duas características: a mastigação e ruminação dos alimentos. A primeira não ocorre somente na ingestão do alimento. Neste momento, a mastigação é apenas superficial e serve para misturar o alimento com a saliva e formar um bolo de consistência adequada a deglutição. Posterior a isso o alimento deglutido segue

para o retículo-rumen onde sofre a digestão microbiana. Parte da porção líquida e a fração do alimento que tem tamanho físico suficiente, passa pelo orifício reticulomasal para posterior digestão química no abomaso e o restante continua a fermentação microbiana sendo então submetido a ruminação. Esse processo envolve a regurgitação da ingesta do retículo-rumen, seguido da deglutição do líquido regurgitado, e a remastigação da porção solida acompanhada da reinsalivação e posterior redeglutição (PEIXOTO, 1995).

2.2 Ambiente Ruminal

Como já foi dito, nenhum mamífero é capaz de digerir diretamente os carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose), que constituem a parede celular dos alimentos volumosos, porque não produzem as enzimas necessárias para digerir as fibras de celulose e hemicelulose, assim os ruminantes devem fornecer um ambiente ideal para o crescimento de bactérias, protozoários e outros microorganismos que cumpram esta função (FRANDSON, 2003). O ambiente favorável deve apresentar características específicas de temperatura, pH, anaerobiose, osmolaridade, substrato e taxa de passagem dos alimentos pelo trato digestivo (OLIVEIRA, 2013).

A ausência de oxigênio no ambiente ruminal é a condição fundamental para que haja a ação dos microrganismos que fermentam o alimento em ambiente anaeróbico. As vias de entrada de oxigênio no rúmen são através da ingestão de alimento e água e por meio de difusão do sangue, no entanto esse oxigênio é rapidamente consumido pelas bactérias anaeróbicas facultativas, ou eliminado através da eructação (FURLAN et al., 2006). Isso é visto no potencial redox do rúmen, que normalmente está entre -250 e -450 mV, demonstrando a ausência de oxigênio e elevado potencial redutor (VAN SOEST, 1994).

De acordo com Orskov & Tyle (1990) os substratos disponíveis para fermentação juntamente com o pH ruminal são os principais fatores determinantes da prevalência dos microrganismos no ecossistema ruminal. A faixa ideal de pH para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos do rúmen varia de 5,5

a 7,0. Porém as diferentes espécies de microrganismos presentes no rúmen crescem em diferentes valores de pH ideal. As bactérias celulolíticas, por exemplo, têm como valor de um pH ideal 6,2 ou mais alcalino, enquanto que as amilolíticas são ativas em condições mais ácidas, em torno de 5,8, assim o fluído ruminal afeta a degradação dos alimentos (BERCHIELLI, 2006).

Os ruminantes mantêm níveis adequados de pH do meio ruminal através da saliva, que é rica em bicarbonato de sódio e possui pH em torno de 8,1. A secreção de saliva depende do tipo de dieta a que o animal é submetido. Dietas com alto teor de umidade diminuem a produção de saliva, no entanto alimentos ricos em fibra induzem maior secreção de saliva (BERCHIELLI, 2006).

De acordo com Manella et al. (2003) o tipo de alimento altera os produtos da fermentação ruminal, pois há especificidade por parte dos microrganismos em digerir determinados nutrientes da dieta. A fermentação de amido e açúcares, realizada pelas amilolíticas, diminui o pH ruminal, por produzir maior quantidade de AGVs, principalmente propionato pela via do ácido láctico, que pode se acumular no rúmen, reduzindo a digestão da fibra (VAN SOEST, 1994).

Santos et al. (2004) avaliaram os parâmetros ruminais em tourinhos Limousin-Nelore submetidos a um suplemento composto por mineral e outro rico em milho e farelo de soja quebrado, na época seca, em pastagem deferida de *Brachiaria decumbens* e encontraram valores de pH entre 7,13 a 5,92 respectivamente.

A granulometria do alimento fornecido na dieta influencia na taxa de passagem do alimento pelo rúmen, na ruminação e na fermentação ruminal. Segundo Valadares Filho & Pina (2006), dietas com moagem fina, aumentam a densidade e a ingestão, promovendo rápida passagem do material insolúvel. De acordo com esses autores, dietas totalmente moídas leva ao desaparecimento da estratificação do conteúdo ruminal, que é encontrada normalmente em animais com dietas de altos teores de volumoso, permitindo dessa forma a rápida passagem das partículas grosseiras, diminuindo sua degradação e aproveitamento por parte dos microrganismos ruminais.

Dietas com alto teor de fibra com granulometria adequada estimulam maior taxa de ruminação e maior produção de saliva, o que leva ao aumento da diluição do conteúdo ruminal e tamponamento do mesmo, mantendo condições adequadas para o desenvolvimento de bactérias celulolíticas e protozoários (OLIVEIRA, 2013).

A quantidade de Nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no rúmen também é um fator importante, visto que os microrganismos ruminais são capazes de utilizar como fonte de N na sua síntese proteica. As bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais utilizam a amônia presente no rúmen como a principal fonte de N para síntese de proteína (RIBEIRO et al., 2001). Para que a flora microbiana cresça adequadamente, a concentração de N amoniacal no rúmen deve ser no mínimo de 5,0 mg/dL de fluido ruminal (SATTER & SLYTER, 1974). Para que a síntese de proteína microbiana alcance seu potencial máximo, segundo Mehrez et al. (1977) a concentração deve ser 23 mg de N-NH₃/100 mL.

A concentração de N-NH₃ no rúmen depende da taxa de degradação, da fonte protéica utilizada e do equilíbrio entre sua produção e utilização por parte dos microrganismos ruminais (MANELLA et al., 2003). Para que a produção de proteína microbiana no rúmen seja otimizada, é necessário que haja um equilíbrio entre a quantidade de N e de energia disponíveis no rúmen (FIRKINS, 1996).

A temperatura no interior do rúmen está em torno de 39°C e é mantida relativamente constante pelos mecanismos de homeostase (BERCHIELLI, 2006).

E é também importante abordar a fermentação normal que processa-se numa faixa de osmolaridade variando entre 260 e 340 mOsm, sendo mantida próxima a 280 mOsm, porém numa dieta rica em concentrado pode variar a até 400 mOsm, nesse cenário a digestão da fibra e do amido é inibida (BERCHIELLI, 2006). Mas o fluxo resultante de água do epitélio, que é pequeno em condições normais, é alterado quando detectadas condições de alteração na pressão osmótica e atua, direcionando o rúmen novamente a condições normais (OWENS & GOESTCH, 1993).

2.3 Microbiologia do Rúmen

A microbiologia do rúmen é extremamente complexa, devido ao grande número de organismos presentes, sendo que suas diferentes naturezas e as mudanças da população, resultam da mudança na dieta do animal hospedeiro (TEIXEIRA, 1991).

Segundo Berchielli (2006), esse ambiente possui alta concentração de microrganismos, que por sua vez são altamente especializados, devido ao fato de estarem muito bem adaptados ao ambiente por estarem sendo selecionados desde os primórdios evolutivos dos ruminantes, o que é agravado ainda nessa seleção é a multiplicação rápida desses organismos. Em outras palavras, sobrevivem e predominam as espécies que possuem em seu material genético as informações para síntese de enzimas que compõem as vias mais eficientes no aproveitamento da energia contida no substrato (STEWART, 1997).

Existem três tipos principais de microrganismos ativos no interior do rúmen: bactérias, protozoários e fungos. Sendo as bactérias constituintes de 60 a 90% da biomassa microbiana (KOZLOSKI, 2002). Segundo Berchielli et. al. 2006, as bactérias são classificadas em 6 grandes grupos, de acordo com os nichos tróficos dos substratos assimilados por cada grupo: fermentadores de carboidratos estruturais (celulolíticas), fermentadores de carboidratos não-estruturais (amilolíticas e pectinolíticas), lipolíticas, proteolíticas, anaeróbios facultativos e por último os metanogênicos.

2.3.1 Fermentadores de carboidratos estruturais

A fermentação da celulose é lenta, devido as bactérias celulolíticas possuírem baixa taxa metabólica, e também ao processo de degradação da fibra ser mais complexo e lento.

As espécies celulolíticas produzem, principalmente, acetato, propionato, butirato succinato, formato, CO₂ e H₂. Também são liberados etanol e lactato (HUNGATE, 1966). As principais espécies celulolíticas são: *Ruminococcus*

flavefaciens, *R. albus* e *Fibrobacter succinogenes* (BERCHIELLI, 2006). Na sua maioria são gram negativas; o número de gram positivas tende a aumentar com a elevação do concentrado da dieta (OLIVEIRA, 2007). Essa classe tem uma faixa ideal de pH, entre 6,2 e 6,8, valores de pH tipicamente encontrados em animais com dietas a base de forragem, além disso elas necessitam praticamente apenas de fontes de nitrogênio não proteico para sua síntese proteica (DUKES, 2006), mas possuem requerimentos específicos de aminoácidos essenciais de cadeia ramificada para maximizar seu crescimento (TEDESCHI et al., 2000). Pode-se garantir que alimentos que apresentem maior proporção de fontes de nitrogênio na forma de proteína verdadeira, juntamente com o uso de compostos nitrogenados não proteicos, podem maximizar o desempenho, pelo fato destas combinações favorecerem o ótimo crescimento das bactérias que utilizam carboidratos estruturais e não estruturais (SNIFFEN et al., 1992).

2.3.1 Fermentadoras de carboidratos não estruturais

A degradação dos amidos e açúcares simples por sua vez, é mais rápida, as bactérias possuem taxas de desdobramento também mais rápidas (0,25 a 4h), e é o que equilibra os valores mais baixos de pH ruminal em dietas ricas com concentrado, devido as maiores proporções relativas de propionato, nessas dietas comumente se encontra o pH na faixa entre 5,5 e 6,6, valores tido como ideais para essas espécies (DUKES, 2006).

Porém a ingestão exagerada e súbita de dietas ricas em carboidratos solúveis, em ruminantes não adaptados as mesmas, pode resultar em um quadro de acidose ruminal ou acidose láctica. Esses carboidratos são rapidamente fermentados no rúmen gerando uma elevada produção de ácido láctico. O acúmulo desse ácido provoca uma queda no pH, iniciando um quadro de acidose, inicialmente ruminal e em seguida sistêmica (ORTOLANI et. at., 2010).

O amido é fermentado principalmente por bactérias do gênero *Bacteroides*. Dentre essas, *Bacteroides amylophilus* utiliza amido, mas não é capaz de assimilar monossacarídeos (MIURA et. al., 1980). *Streptococcus bovis* e

Selenomonas ruminantium fermentam amido e açúcares solúveis, todas produzindo acetato, quando há substrato em abundância, mas alteram as vias para acetato, formato e etanol, ou acetato e propionato, quando as concentrações de substratos prontamente fermentáveis decrescem (BERCHIELLE, 2006). Estas ultimas maximizam a produção de ATP num ambiente anaeróbio (RUSSEL, 1990).

A *Lachnospira multiparus* e *Streptococcus bovis*, são as principais fermentadoras de pectina (DUSKOVA & MAROUNEK, 2001), além de algumas espécies celulolíticas (OSBORNE & DEHORITY, 1989).

Estas espécies, além de NH₃, precisam também de alguns aminoácidos para a sua síntese proteica (DUKES, 2006).

2.3.2 Lipolíticas

Devido ao ambiente anaeróbio encontrado no rúmen, com baixa concentração de oxigênio e baixo potencial de oxidação, as lipolíticas são as menos numerosas encontradas no rúmen (BERCHIELLE,2006).

A espécie *Anaerovibrio lipolytica* hidrolisa lipídeos, e frequentemente, utiliza ribose, frutose, glicerol e lactato como fonte de energia (STEWART et. al., 1997). Esses substratos são fermentados a acetato, propionato e CO₂, enquanto que o glicerol é substrato de propionato e succinato (BERCHIELLE,2006).

2.3.3 Proteolíticas

Essa classe, era desconhecida até 1980, quando o cultivo in vitro de líquido ruminal enriquecido com tripticase (produto da cocção de carnes) permitiu o isolamento de três espécies, fermentadoras específicas de aminoácidos: *Peptostreptococcus* sp., *Clostridium amminophilum* e *C. sticklandii* (PASTER et. al., 1993). Essas espécies utilizam carboidratos, mas não como fonte de energia, essas por sua vez desaminam os aminoácidos a taxas 20 vezes superiores às observadas em outras bactérias ruminais (KRAUSE & RUSSEL, 1996).

Os principais produtos das vias dessas espécies são: acetato, butirato, propionato e amônia. O último caracteriza a principal importância da presença delas no rúmen, pois se a taxa de desaminação supera a taxa de utilização de

amônia, há uma queda na eficiência alimentar e uma significativa perda energética na amônia convertida a metano e outros gases, indicando a ineficiência da dieta com relação a sobra de proteína dietética (DUKES, 2006). Além disso a excessiva degradação proteica, promove uma diminuição na retenção de nitrogênio pelo hospedeiro (TEIXEIRA, 1991).

2.3.4 Anaeróbios facultativos

São as bactérias que aparecem em menor proporção no rúmen, representam 1% da população total. Se localizam aderidas a parede celular, e digerem as células epiteliais mortas. E tem papel fundamental na manutenção da baixa concentração de oxigênio no ambiente ruminal (BERCHIELLE, 2006).

2.3.5 Metanogênicos

Concluem a formação do metano, através das moléculas de CO₂ e H₂, oriundas dos outros processos metabólicos. Com isso mantém a pressão parcial de H₂ baixa, permitindo a ação das hidrogenases (BERCHIELLE, 2006).

2.3.6 Protozoários

São microorganismos unicelulares, anaeróbios, e são em média 100x maiores que as bactérias. Apresentam organização interna complexa e altamente diferenciada, com estruturas funcionais similares à boca, esôfago, estômago, reto e ânus (DEHORITY, 1993).

Uma característica peculiar dos protozoários é o quimiotactismo, isto é, a capacidade de se locomoverem num gradiente de concentração de açúcares ou glicoproteínas (BERCHIELLE, 2006).

Alguns protozoários são celulolíticos, mas os principais substratos utilizados pela fauna ruminal como fonte de energia, são os açúcares e amidos, que são assimilados rapidamente e estocados na forma de amilopectina ou amido protozoário (WILLIANS, 1986). Isso afere uma capacidade tamponante aos protozoários, pois diminuem a quantidade de amido prontamente fermentável que a população bacteriana tem acesso (BERCHIELLE, 2006). Essa característica

diminui relativamente o risco de acidose ruminal, e faz com que eles atuem como uma reserva de substrato, pois o amido armazenado é liberado com a morte do protozoário (DEHORITY e ORPIN, 1997).

Em alguns programas de alimentação, como em dietas com alta energia, alta disponibilidade de amido, dietas de alto grão e ricas em nitrogênio não proteico resultam na ausência dos protozoários que reflete em uma melhoria da performance do animal (TEIXEIRA, 1991). A utilização de alguns aditivos nutricionais também provoca a defaunação ruminal.

2.3.7 Fungos

Aparecem em animais alimentados com dietas fibrosas (GORDON e PHILLIPS, 1998). Degradam a fibra durante o processo de reprodução, resumidamente após o período de crescimento vegetativo, ocorre a formação de estruturas reprodutivas, denominadas esporângios, estes liberam os chamados zoósporos maduros, que irão colonizar o material recém ingerido pelo hospedeiro (BERCHIELLE, 2006). Os zoósporos móveis se aderem aos fragmentos das forragens invadindo e rompendo os tecidos vegetais por meio de talos rizoides, degradando e rompendo a fibra (BAUCHOP, 1989). Além disso, há indícios de que algumas espécies são capazes de atacar tecidos vasculares lignificados, aumentando a área de ação das bactérias (AKIN & RIGSBY, 1987).

2.4 Estabelecimento dos microrganismos no rúmen

O desenvolvimento do rúmen se inicia no animal neonato, deste ponto em diante, há grande influência da dieta e do subsequente controle da sua fermentação, por meio de processos fisiológicos integrados com a nutrição do hospedeiro (VAN SOEST, 1994). O contágio dos bezerros pelos microrganismos ruminais ocorre principalmente pelo contato com animais já ruminantes, iniciado principalmente pela mãe ao lamber a cria após o parto, nos pelos, nos tetos das vacas, com o posterior contato com vias de alimentação (cochos e bebedouros), em alguns casos por microrganismos transportados pelo ar e além disso o esterco

presente no piso do curral, estão entre as principais fontes de contágio (BERCHIELLE, 2006).

O estabelecimento das bactérias é o mais rápido, se inicia com os primeiros lactobacilos, provenientes do leite materno e da saliva materna, esses geralmente anaeróbios facultativos, que garantem as condições anaeróbias, para a multiplicação das demais espécies (BERCHIELLE, 2006). No caso dos protozoários, a saliva é a principal fonte de contágio, pois esses organismos não possuem formas resistentes ou cistos, restando assim o contato direto para transmissão destes microrganismos (DUKES, 2006).

Da mesma forma que as bactérias e protozoários, os fungos são transmitidos por contato direto com animais adultos, via saliva, esses também podem ser transmitidos pelo ar, ou ainda alimentos contaminados (GRENÉT, 1989).

2.5 Principais produtos da fermentação ruminal

2.5.1 Ácidos graxos voláteis (AGVs)

Os ácidos graxos voláteis, como um grupo, possuem de 1 a 7 carbonos, que formam cadeias lineares ou ramificadas, os quais incluem os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanóico e heptanóico. Todos são produzidos em diferentes proporções junto com pequenas quantidades de outros compostos orgânicos como metano, dióxido de carbono, lactato e álcool, durante o processo de fermentação. Os ácidos acético, butírico e propiônico são os produtos predominantes na fermentação dos principais substratos presentes no rúmen, tais como, celulose, hemicelulose, pectina, amido e açucares (BERCHIELLE, 2006).

Os ácidos acético, propiônico e butírico podem ser usados para gerar ATP no metabolismo intermediário (figuras 2, 3 e 4). O acético e butírico são precursores de acetil-CoA e o ácido propiônico é um precursor de glicose, entrando no ciclo da gliconeogênese hepática (HUNTINGTON, 1990).

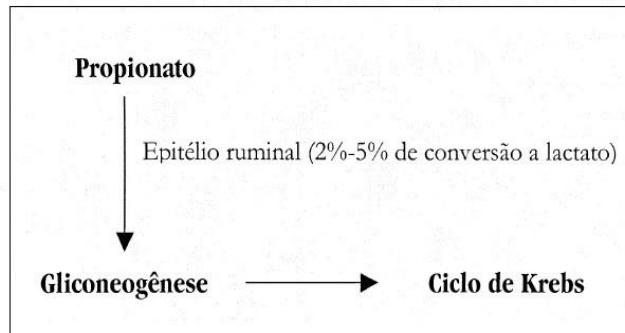


Figura 2. Metabolismo do propionato

Fonte: BERCHIELLE (2006)

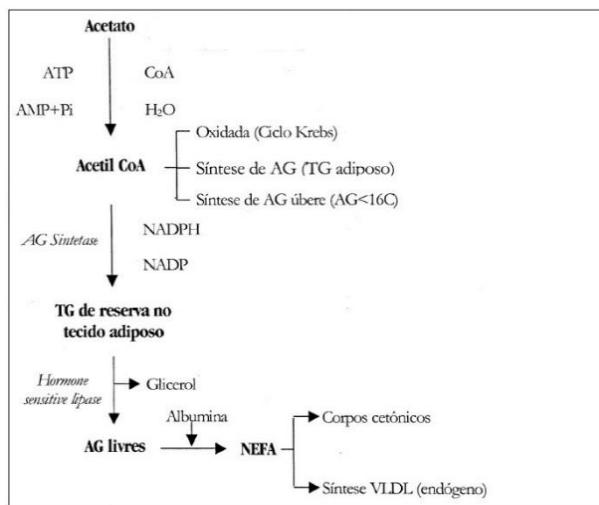


Figura 3. Metabolismo do acetato

Fonte: BERCHIELLE (2006)

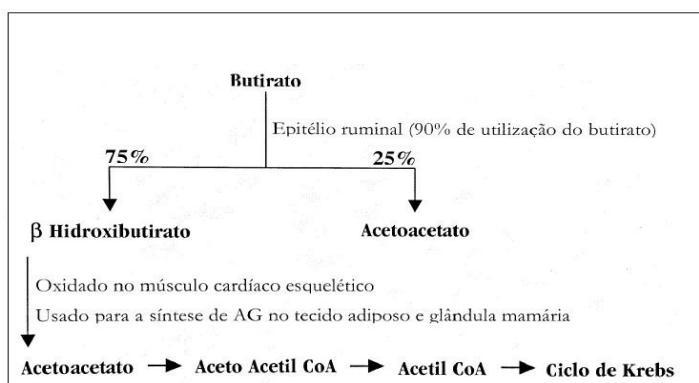


Figura 4. Metabolismo do butirato

Fonte: BERCHIELLE (2006)

Comumente a relação molar, acetato, propionato e butirato, varia de 75:15:10 a 40:40:20, variando de acordo com a relação volumoso:concentrado na dieta (BERGMAN, 1990).

Black (1990), estudando a nutrição de ruminantes em pastejo, relatou que a proporção dos AGVs produzidos quando o animal alimenta-se somente com forragens, é de 73:20:7 (acetato:propionato:butirato), comparado com 60:30:10 em animais alimentados com forragens e recebendo suplementação a base de concentrado, e 50:40:10 para animais recebendo alto teor de concentrado

2.5.2 Peptídeos, aminoácidos e amônia

A proteólise, realizada principalmente pelas bactérias proteolíticas, é um processo de fermentação que produz peptídeos e aminoácidos, os quais são usados como fonte de energia ou para processos biossintéticos. Além disso muitos aminoácidos são desaminados para formarem amônia, dióxido de carbono e AGVs de cadeia ramificada (Isobutírico, isovalélico e 2-metilbutírico) (BERCHIELLE, 2006).

A amônia também se origina da hidrolise de compostos não nitrogenados endógenos e da dieta, sendo a uréia o principal substrato hidrolisado (Vitanen, 1966).

2.5.3 Metano, dióxido de carbono e hidrogênio

O metano é um gás composto de carbono e hidrogênio, que é produzido pela fermentação ruminal, na concentração de 30% a 40%, juntamente com CO₂ (60%) e H₂ (VALADARES FILHO & PINA, 2006).

Nenhuma das bactérias e protozoários que fermentam carboidratos produzem metano, mas muitos deles produzem, H₂, CO₂ e formato como produtos finais. O formato é convertido a CO₂ e H₂, pelas espécies metanogênicas, sendo essa síntese de um mecanismo gerador de energia nessas espécies, que são capazes de transformar CO₂ e H₂ em metano (BERCHIELLE, 2006).

2.5.4 Proteína microbiana

Trata-se da proteína microbiana ruminal, que passa para o trato gastrointestinal como forma de proteína alimentar. A quantidade de proteína que passa para o abomaso na forma de massa microbiana do rúmen, é uma função da quantidade de matéria digerida no rúmen e da eficiência com qual os microrganismos ruminais utilizam a energia disponível para o seu crescimento (BERCHIELLE, 2006).

2.6 Fatores que afetam a fermentação ruminal

A manipulação da fermentação ruminal para melhorar o desempenho produtivo de bovinos e ruminantes em geral tem sido almejada por vários nutricionistas há décadas (DILORENZO, 2004). Essa manipulação da fermentação é um esforço que levou a extensa pesquisa na área de microbiologia ruminal nas últimas décadas, com o objetivo de controlar algum processo metabólico no rúmen, atingindo assim uma utilização mais eficiente dos nutrientes (NAGARAJA, 2003).

Alguns dos objetivos da manipulação da fermentação ruminal, segundo NAGARAJA et al. (1997), incluem: melhorar processos benéficos e minimizar, alterar ou eliminar processos ineficientes que levem prejuízos tanto para os microrganismos do rúmen quanto para o hospedeiro.

As características ideais para a fermentação ruminal seriam: altas taxas de digestão da fibra, ausência de ácido láctico, mínima produção de amônia e de metano, e elevada síntese de proteína microbiana. A modificação na fermentação ruminal pode ocorrer em três níveis: da dieta, do animal e da população microbiana (BERCHIELLE, 2006).

2.6.1 Dieta

Segundo BERGMAN (1990), os produtos da fermentação ruminal são parcialmente determinados pela natureza da dieta, que pode alterar a atividade metabólica dos microrganismos ruminais, disponibilizando novos ou diferentes substratos que influenciem os produtos.

A dieta é, provavelmente, o fator mais importante que influencia a quantidade e as proporções das espécies de microrganismos ruminais. Uma mudança na dieta, reflete em um período de transição na população de microrganismos, exigindo um novo balanço que melhor se adapte a nova dieta (BERCHIELLE, 2006). Esse fato se refere a adaptação da população que pode demorar dias ou semanas, dependendo de quão drástica foi a mudança (OWENS & GOETSCH, 1993).

A mudança abrupta da dieta, pode abrir portas para organismos facultativos oportunistas dominarem a fermentação, por meio da produção de ácidos e abaixamento do pH, sendo assim o principal fator que determina a perturbação na fermentação ruminal, e apresenta o maior potencial ao aparecimento de distúrbios metabólicos (VAN SOEST, 1994).

A composição da dieta, geralmente determina a população microbiana que utiliza os nutrientes dos alimentos. Assim dietas com altos teores de proteína, favorecem o crescimento de microrganismos proteolíticos, enquanto que as altas em amido, que são baixas em fibra, estão associadas a uma grande população de utilizadores de amido (VAN SOEST, 1994). A ocorrência de microrganismos celulolíticos em um número elevado, com dietas ricas em concentrado, dependerá do tamanho de partículas da fibra e da taxa de passagem. Com uma pequena quantidade de forragem grosseira, a taxa de passagem da fibra pode ser lenta e os microrganismos celulolíticos, comparativamente numerosos (BRYANT & BURKEY, 1953).

Dietas baixas em fibras e que tendem a ter altas taxas de digestão e elevada produção de ácidos, necessitam maior grau de tamponamento ruminal, assim como favorecem o crescimento de espécies capazes de tolerar o

abaixamento do pH. Geralmente as celulolíticas e as metanogênicas são menos tolerantes (SLYTER, 1976).

As bactérias metanogênicas são as mais sensíveis a mudanças de ambiente e são afetadas por muitos fatores dietéticos. Como são as principais utilizadoras de hidrogênio, o equilíbrio de sua população afeta todo o ambiente ruminal e o balanço de carbono (BERCHIELLE, 2006).

Embora muitas espécies de microrganismos estejam sempre presentes no rúmen, a taxa de crescimento e a ação digestiva de cada espécie pode variar de acordo com as condições ruminais. Alterações na função ruminal ocorridas após a alimentação podem ser maiores quando a ingestão de alimento por unidade de volume ruminal é maior e quando as rações são consumidas frequentemente. Com acesso livre ao alimento, os animais podem desenvolver um padrão de ingestão que pode reduzir as flutuações na fermentação; logo nos animais que não tem acesso livre, o fornecimento de um número maior de vezes, também provoca esse efeito (BERCHIELLE, 2006).

2.6.2 pH

Comumente o pH abaixo de 6 inibe a degradação da celulose. Sob condições normais, os microrganismos celulolíticos crescem bem em pH 6,7, uma variação de 0,5 unidades mantém a atividade próxima do normal. Valores inferiores a 6,2 diminuem a taxa de digestão, aumentando o tempo de colonização para degradação da parede celular (VAN SOEST, 1994).

O rúmen é bem tamponado pela secreção salivar, mas se a quantidade de fibra dietética for restrita e a taxa de fermentação de carboidratos for rápida, o pH pode cair (BERCHIELLE, 2006). Como foi visto por STROBEL & RUSSEL (1986), em uma mistura de bactérias ruminais, analisadas *in vitro*, produziram 50% a menos de proteína microbiana em pH 5,7 em relação a pH 6,7.

Um conceito importante nesse caso, é o de FDN fisicamente efetivo(FDNfe), ou seja a porção fibrosa que efetivamente estimula a mastigação, ruminação e a motilidade ruminal, que colabora para um ambiente ruminal mais estável, com menores oscilações de pH. Com base nesse conceito, atualmente se

encontra limites mínimos adequados, entre 5 -8 % da matéria seca de FDNfe (NRC, 1996).

Quando o pH cai, geralmente durante as adaptações de novas dietas, as bactérias amilolíticas e resistentes à acidez aumentam, enquanto que os microrganismos celulolíticos diminuem, com isso a atividade relativa da amilase aumenta em relação a celulase (BERCHIELLE, 2006). Tem sido sugerido valores de pH 5,7 como ideal para a atividade da amilase (OWENS & GOETSCH, 1993).

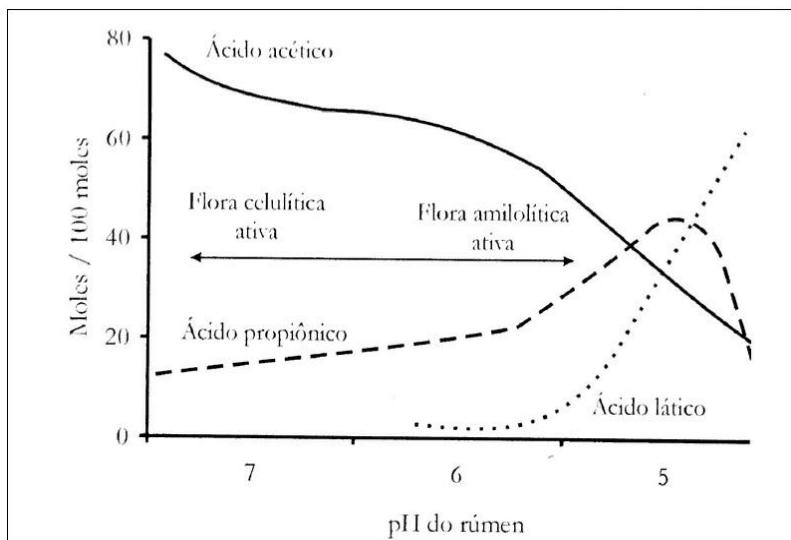


Figura 7. Relação entre as concentrações dos ácidos acético, propiônico e láctico e pH ruminal
Fonte: BERCHIELLE (2006)

2.6.3 Tampões

Os tampões, são uma combinação de um ácido fraco e seu sal, e têm a função de neutralizar o excesso de ácidos produzidos no rúmen em situações onde os sistemas tamponantes, principalmente o fluxo salivar, são insuficientes (BERCHIELLE, 2006). Os tampões devem ser solúveis em água e seu pKa deve ser próximo ao pH fisiológico do rúmen; tem se o bicarbonato como um tampão verdadeiro, com pKa de 6,25 (HUTJENS, 1991). Outros exemplos de tampões são: óxido de magnésio, carbonato de potássio, sesquicarbonato de sódio,

bentonita de sódio, incluídos nas dietas em média de 100 a 200g por cabeça por dia (BERCHIELLE, 2006).

Porém deve se avaliar cuidadosamente a utilização destes compostos, porque, segundo RUSSEL & CHOW (1993), a ação dos tampões seria explicada pelo aumento da ingestão de água e aumento na taxa de passagem de líquidos e no escape ruminal dos carboidratos solúveis, isso diminui a produção de propionato no rúmen e, consequentemente, aumenta a produção de gordura no leite.

2.6.4 Taxa de passagem

A taxa de passagem também influencia os padrões de fermentação, taxas de passagem rápidas do líquido ruminal, geralmente estão associadas com altas concentrações de acetato. A duração e a intensidade da ruminação são grandemente determinadas pelo nível e forma da fibra ingerida. Quando ruminantes aumentam a produção de saliva, ambos, tamponamento e diluição também são aumentados. A diluição faz com que a concentração de ácidos ruminais seja menor em dietas a base de forragens em relação as a base de concentrado (BERCHIELLE, 2006)

2.6.5 Nutrientes protegidos

Determinadas proteínas vegetais não degradáveis no rúmen (PNDR), são prontamente digeridas no abomaso e no intestino. De forma semelhante muitas proteínas desnaturadas escapam da degradação ruminal. Comercialmente isso foi explorado, submetendo proteínas degradáveis no rúmen (PDR), a desnaturação por formaldeído, tornando as PNDR. Esse processo impede a degradação microbiana das proteínas de alta qualidade, de forma que seu conteúdo fique disponível apenas no intestino delgado (DUKES, 2006).

Uma extensão das proteínas protegidas é a proteção de outros suplementos dietéticos, como o exemplo dos lipídeos, eles podem ser encapsulados em cobertura não degradável no rúmen, e se tornará disponível, após a digestão no abomaso. Esse dispositivo, evita a saturação dos ácidos

graxos polinsaturados (AGPI) e permite níveis elevados de lipídeos, a serem ministrados na dieta, fornecendo seu teor rico em energia diretamente ao animal ruminante (DUKES, 2006).

2.6.6 Leveduras

Leveduras são citadas por alguns autores como probióticos, e outros preferem citar esses fungos em uma classe separada, o presente trabalho ficará também com a segunda opção.

Leveduras são, fungos unicelulares, principalmente do gênero *Saccharomyces*, que são tradicionalmente utilizados na fermentação do açúcar em alimentos para consumo humano. O uso na nutrição de ruminantes foi ligado a melhora na digestibilidade da matéria seca, em especial a fibra, melhorando desempenho e a eficiência alimentar. Existe variação na eficiência das diferentes cepas de *Saccharomyces cervisae* em promover melhorias no desempenho dos bovinos (NEWBOLD, 1996).

O pH ótimo para crescimento das leveduras do gênero *Saccharomyces* é próximo a 4,5, com o pH ruminal próximo a 6,5, a taxa de crescimento do fungo é menor, e ele secreta compostos químicos como nucleotídeos, aminoácidos e enzimas (NICODEMO, 2001). Tais compostos servem de fator de crescimento para as bactérias ruminais, além de contribuir com a nutrição do próprio animal (NEWBOLD, 1995).

O aumento no número de bactérias do rúmen, principalmente bactérias celulolíticas, é tido como o efeito mais comum da suplementação de levedura (NEWBOLD, 1995). Algumas bactérias apresentam melhor desempenho devido a presença de alguns dos fatores relacionados com a suplementação com levedura, fornecimento de fatores de crescimento: vitaminas (complexo B, ácido paraamino benzóico), ácidos dicarboxílicos (fumarato, malato etc.), remoção de O₂ por *Saccharomyces*, efeito tampão, e redução no número de protozoários (CALLAWAY & MARTIN, 1997).

O aumento no número de bactérias viáveis, principalmente celulolíticas, parece ser o efeito mais consistente em resposta ao uso de *Saccharomyces cerevisiae*, nos 14 experimentos citados por NAGAJARA (1997), mostraram um aumento médio acima de 100% no número de bactérias viáveis e de bactérias celulolíticas. Acredita ser o aumento no número de bactérias viáveis, seja responsável pelo aumento na degradação da fibra e do escape de proteína microbiana para o abomaso (BERCHIELLE, 2006).

O uso de *Saccharomyces* estimulou o crescimento da bactéria utilizadora de ácido láctico, *Selenomonas Ruminantium* (BERCHIELLE, 2006).

Outro fator é a grande afinidade do *Saccharomyces cerevisiae* por oxigênio, melhorando as condições anaeróbias do rúmen. O conteúdo ruminal é essencialmente anaeróbico, mas pequenas concentrações de oxigênio dissolvido podem ser encontradas. O oxigênio entra no rúmen (60 mmol/min/L a 100 mmol/min/L) junto da ingestão de água, alimento e saliva. Ele é tóxico a bactérias anaeróbicas e diminui a adesão das bactérias celulolíticas à celulose. Os carboidratos estruturais da planta, dos quais a celulose é o principal componente, são as principais fontes de energia para o ruminante. Como a atividade respiratória de *S. cerevisiae* (200 mmol/min/g a 300 mmol/min/g) é muitas ordens de magnitude maior que a concentração de oxigênio no fluido ruminal, pequenas quantidades de levedura (1,33 g/L) incluídas nas dietas de ruminantes podem ser benéficas. Bactérias celulolíticas parecem especialmente sensíveis ao teor de oxigênio dissolvido, e respondem mais favoravelmente à presença de levedura (NEWBOLD, 1996).

As respostas obtidas com o uso dos fungos do gênero *Aspergillus*, são geralmente similares àquelas encontradas com o *Saccharomyces*, principalmente no que se refere ao aumento do número de bactérias totais e celulolíticas (BERCHIELLE, 2006).

2.6.7 Ionóforos

Segundo PRESSMAN, em 1968, citado por NAGARAJA (1997), antibióticos ionóforos, assim chamados por sua propriedade de carreadora de íons, fazem

parte de um crescente grupo de compostos que possuem capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte através das membranas lipídicas. Inicialmente esses compostos foram conhecidos por sua capacidade coccidiostática em aves. Os ionóforos, são os aditivos mais pesquisados em dietas de ruminantes. A monensina, o principal ionóforo estudado em dietas de ruminantes, é um antibiótico produzido pelo *Streptomyces cinnamonensis*, sendo o seu uso aprovado nos EUA para alimentação de bovinos de corte confinados em 1976 (BERCHIELLE, 2006).

Atualmente há mais de 120 ionóforos descritos, porém somente a monensina, lasalocida, salinomicina e laidomicina e outros citados na Tabela 1, são aprovados para o uso de dietas de ruminantes (NAGARAJA, 1997).

Ionóforos	Organismos produtores	Sequencia de seletividade aos Cations
Monensina	<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	Na > K, Li > Rb > Cs
Lasalocida	<i>Streptomyces lasiliensis</i>	Ba, K > Rb > Na > Cs > Li
Laidomicina	<i>Streptoverticillium eurocidicum</i>	Não determinado
Lisocelina	<i>Streptomyces longirodensis</i>	Na > K, Ca, Mg
Narasina	<i>Streptomyces aureafaciens</i>	Na > K > Rb > Cs > Li
Salinomicina	<i>Streptomyces albus</i>	Rb, Na > K > Cs, Sr, Ca, Mg
Tetronasina	<i>Streptomyces longisporoflavus</i>	Ca > Mg > Na, K > Rb

Tabela 1. Antibióticos ionóforos usados ou sob investigação para o uso

Fonte: BERCHIELLE (2006)

Os ionóforos atuam com eficiência contra bactérias gram-positivas, mas são pouco atuantes ou com nenhuma atividade contra gram-negativas, que possuem uma membrana externa que contém porinas (canais de proteína) com um tamanho limite menor do que o tamanho dos ionóforos, o que impede a passagem das moléculas dos ionóforos (NAGARAJA, 1997). As bactérias gram-positivas não possuem essa membrana externa, e os ionóforos podem penetrar livremente a membrana celular. Apesar dessas bactérias possuírem espessa estrutura porosa peptidoglycan, essa não é barreira para ionóforos (BERCHIELLE, 2006).

Varios autores já relataram efeitos benéficos dos ionóforos como, melhoria na eficiência do metabolismo energético, alterando as proporções de AGVs produzidos no rúmen, por meio do aumento da concentração de propionato e redução nas concentrações de acetato e butirato, com diminuição na perda de energia na forma de metano (BERGEN & BATES, 1984). Essa perda normalmente representa de 2% a 12% da energia do alimento (NICODEMO, 2002). Outro benefício seria a redução na degradação da proteína dietética, aumentando a quantidade de proteína alimentar que chega ao intestino delgado (NAGARAJA, 1997). Além também do aumento da digestibilidade dos alimentos, redução na incidência distúrbios metabólicos como: acidose ruminal (RUSSEL & STROBEL, 1989), timpanismo (LOWE, 1996) e de coccidiose (TYLER, 1992), pelo aumento do pH, e inibição das bactérias produtoras de ácido láctico (RUSSEL & STROBEL, 1989).

2.6.7.1 Modo de ação

A ação dos ionóforos no rúmen ocorre pela alteração na população microbiana, selecionando as bactérias gram-negativas produtoras de propionato pela via do ácido succínico, ou que fermentam ácido láctico e inibindo as gram-positivas produtoras de ácidos acético, butírico, láctico e H₂ (CONEGLIAN, 2009).

Os ionóforos podem atuar de duas maneiras no metabolismo do ruminante, uma vez que é absorvido pelo trato gastrointestinal, e sobre a população microbiana do rúmen, atuando na membrana celular dos microrganismos. Por serem solúveis em membranas depois de serem combinados com íons, os ionóforos passam a fazer parte destas e desempenhar funções de transporte de íons de um lado a outro da membrana (MACHADO & MADEIRA, 1990).

A monensina, o principal ionóforo estudado em dieta de ruminantes, catalisa principalmente as trocas de sódio (Na⁺) por hidrogênio (H⁺), uma vez que a afinidade pelo sódio é dez vezes maior que por potássio (K⁺). Já a lasalocida tem afinidade maior por potássio (K⁺) em relação ao sódio (Na⁺) e cálcio (Ca⁺), sendo que a afinidade pelos dois últimos é semelhante (SILVA, 1990).

A figura 5 exemplifica o mecanismo proposto por RUSSEL (1987) e RUSSEL & STROBEL (1989), em relação à ação da monensina sobre o *Streptococcus bovis*, trata se de um exemplo completo do modo de ação dos ionóforos.

Em condições normais as bactérias mantêm as concentrações internas de K⁺ muito altas, maiores que no meio externo. Essas concentrações são necessárias para síntese de proteína e também para tamponar o pH intracelular por meio do mecanismo de troca de K⁺/H⁺. Quando a monensina se instala na parede do *Streptococcus bovis*, ocorre rápida perda de K⁺ e influxo de prótons (H⁺), assim, alterando o potencial elétrico da bactéria. O H⁺ acumulado no interior da célula ocasiona a diminuição do pH. O potencial elétrico e o gradiente de pH são responsáveis pela formação da forma motriz de prótons, utilizada para importar solutos para o meio interno. Dessa forma, a célula exporta o H⁺ para fora da célula e permite a entrada de Na⁺ para o interior (BERCHIELLE, 2006).

Outra forma de exportar H⁺ para fora da célula é através da bomba de prótons ATPase, com gasto de energia. Assim grande parte da energia produzida pela célula é utilizada para normalizar o balanço iônico. Com o passar do tempo a esses gastos energéticos vão mudando o metabolismo interno, essencial para sobrevivência, cessão crescimento e reprodução, até a exaustão. Desse modo, as bactérias acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano sem expressão ruminal (BAGG, 1997).

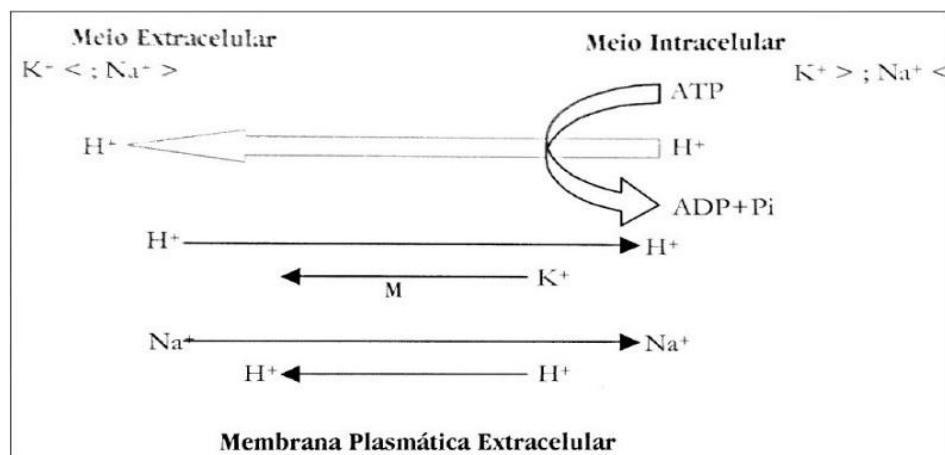


Figura 5. Representação esquemática mostrando os efeitos da monensina sobre o fluxo de íons na membrana celular da bactéria *S. bovis*

Fonte: BERCHIELLE (2006)

O que ocorre em relação às bactérias metanogênicas é que com a utilização do hidrogênio por outras bactérias, ocorre a diminuição na produção de metano (CONEGLIAN, 2009).

Geralmente os ionóforos causam redução do consumo de matéria seca, sem alterar o ganho de peso, ou promovem melhoria no ganho de peso, sem alterar o consumo, isso varia de acordo com o sistema de produção, porém sempre resultam em uma melhoria na conversão alimentar (BERCHIELLE, 2006).

GOODRICH (1984) relataram melhoria de 7,5% na conversão alimentar (resultado de 228 experimentos). Já NAGARAJA (1997) citaram redução de 4% no consumo de matéria seca, aumento de 5% no ganho de peso e melhoria de 9% na conversão alimentar (resultados de 35 experimentos em países da europa). Independente dos efeitos do ganho de peso ou no consumo de matéria seca, geralmente ocorre uma melhoria de aproximadamente 7% na conversão alimentar, e esses dados não tem apresentado variação ao longo dos anos. Assim o que determina a utilização de ionóforos na bovinocultura é a relação custo/benefício que essa tecnologia proporciona a cada produtor (BERCHIELLE, 2006).

2.6.8 Óleos Funcionais

Pesquisas, utilizando os compostos químicos provenientes de extratos vegetais, isolados ou mesmo em sinergia, ou até a utilização de extratos vegetais na nutrição e manejo dos ruminantes, tornaram-se importantes nos últimos anos, apesar dos trabalhos ainda não apresentarem dados conclusivos (CONEGLIAN, 2009).

Os óleos funcionais são uma mistura de terpenóides aromáticos, líquidos e lipofílicos (KOHLERT et al., 2000), obtidos a partir de diferentes partes da planta, tais como, folhas, raízes, caule ou de mais de uma parte, a extração destes óleos essenciais é feita por destilação a vapor, extração com metanol ou hidroxiacetona, sendo a primeira a mais eficiente (BURT, 2004). Vários óleos essenciais

tem potencial de utilização na nutrição animal, exemplos como o thymol (extraído do tomilho – *Thymus vulgaris*), carvacrol (extraído do orégano – *Origanum sativum*), alina e alicina (extraídos do alho – *Allium sativum*), citrol e citronolol (extraídos de diversas plantas cítricas), menthol (extraído da menta – *Mentha piperita*), cinamaldeído (extraído da canela – *Cinnamomum zeylanicum*), óleo de rícino (extraído da mamona – *Ricinus communis*), óleo de caju, já possuem sua funcionalidade conhecida, além dos métodos de extração (VELLUTI et al., 2003).

Os óleos funcionais atuam em diversas funções orgânicas, porém o mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido. Possuem funções antimicrobianas (BURT, 2004), antifúngicas (RASOOLI & ABYANEH, 2004), atividade antioxidante e de proteção celular, principalmente em glóbulos vermelhos e glóbulos brancos (ASGARY, 2003).

O óleo funcional de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tem o cinamaldeído como principal princípio ativo, acompanhado de ácido cinâmico, eugenol e linalol; apresenta atividade antimicrobiana e antiviral já comprovadas (LORENZY & MATOS, 2002).

O óleo funcional de orégano é rico em carvacrol, timol e terpineol (CÁCERES, 1999). Höferl et. al (2009) relataram forte atividade do óleo de orégano contra *Escherichia coli*. Já Santurio et al. (2007), observou forte atividade microbiana do óleo, contra diversos sorovares de *Salmonella entérica*, de origem avícola.

Em ruminantes, grande parte dos trabalhos investiga a ação dos extratos vegetais, no metabolismo do animal, principalmente a ação desses no ambiente ruminal. Nestas condições, verificam se resultados semelhantes à utilização de ionóforos quanto aos produtos resultantes do processo fermentativo e as proporções populacionais de bactérias e protozoários no ambiente ruminal (CONEGLIAN, 2009).

Esses produtos parecem exercer atividade antimicrobiana sobre bactérias gram negativas e gram positivas (HELANDER, 1998). Estudos indicam que os óleos funcionais modificam a concentração de ácidos graxos voláteis quanto incubado in vitro (EVANS & MARTIN, 2000). Existem também evidências que

muitos óleos funcionais reduzem a taxa de deaminação de aminoácidos, a taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiperprodutoras de amônia, com aumento no escape de N para o intestino (MCINTOSH, 2003). A suplementação com uma mistura de óleos funcionais aumentou a concentração de ácidos graxos voláteis sem afetar outros parâmetros de fermentação, indicando que a fermentabilidade da dieta foi afetada (CASTILLEJOS, 2005).

Trabalhando com novilhos fistulados, da raça Holandesa, Ando et al. (2001) utilizaram uma combinação de óleos essenciais e observaram diminuição na concentração de amônia ruminal e do número de protozoários dos animais tratados. Para tanto, levanta-se a hipótese que eles atuem na redução da taxa de desaminação ruminal e no decréscimo da população e na colonização das bactérias proteolíticas aos seus substratos (MCEWAN et al., 2002). Newbold et al. (2004) trabalhando com ovinos fistulados, observou uma ação microbiana seletiva sobre a flora ruminal, com alteração na degradação da proteína e no processo de desaminação no rúmen.

Molero et al. (2004) trabalhando com duas dietas distintas, uma com alto concentrado e a outra com baixo concentrado, verificaram melhor modificação dos parâmetros fermentativos e adaptação da flora microbiana ruminal, na segunda dieta.

Cardozo et al. (2004), trabalhando com digestibilidade *in vitro* em animais recebendo isoladamente extrato de canela, orégano, anis e alho, obtiveram modificações nos padrões de fermentação ruminal e de população microbiana ruminal, quando comparados aos animais do grupo controle.

Alguns pesquisadores acreditam que, para a obtenção de melhores resultados, deve se buscar combinações de óleos funcionais de diferentes plantas (LANGHOUT, 2000) e reforçados pelos princípios ativos mais relevantes (KAMEL, 2000).

Berchaar et al. (2006), avaliando bovinos de corte alimentados com dieta a base de silagem de milho, suplementados com um composto a base de óleos funcionais, observou um aumento do consumo de matéria seca (CMS), quando comparado aos animais não suplementados. No entanto Coneglian et al.(2009),

não encontrou diferença no CMS, em bovinos de corte alimentados em dietas ricas em concentrado. Assim como Berchaar et al. (2003) também não constatou essa diferença no CMS de vacas em lactação alimentadas com dietas de alto concentrado.

Coneglan et al. (2009), encontrou diferença significativa na digestibilidade aparente dos alimentos, houve um aumento na digestibilidade aparente em bovinos alimentados com dietas de alto grão e suplementados com 2g e 4g por animal por dia, de um blend de óleos essenciais a base de óleo de mamona e caju, quando comparado aos tratamentos de 1g e 8g por animal por dia do mesmo produto. Além disso, não houve diferença significativa dos primeiros tratamentos, frente a um tratamento controle positivo, onde foi fornecido 200mg de monensina por animal por dia, isso indica o potencial dos óleos funcionais como substitutos dos antibióticos ionóforos (CONEGLIAN, 2009).

Chagas (2011) propôs uma relação econômica, avaliando o desempenho dos animais com um blend a base óleos funcionais de mamona e caju, observou uma melhora no desempenho de bovinos confinados durante a fase de adaptação às rações com teores altos de concentrado, que aparentemente influenciou o desempenho positivo dos animais durante todo o confinamento, com 7,3kg a mais de carcaça por animal, obteve-se quase ½ arroba a mais por unidade abatida, assumindo uma arroba a US\$ 62,50, em um lote de 100 animais isso representaria US\$ 1.460,00 a mais na receita bruta. Ainda segundo Chagas (2011) os óleos funcionais como melhoradores de desempenho animal podem ser uma opção viável à pecuária, porém são necessários mais estudos que comprovem cientificamente o mérito de produtos destinados à comercialização.

Observa se também uma melhora no ambiente ruminal, Coneglan et al. (2009), observou um acréscimo de 3,4 % no pH ruminal, em animais suplementados com 3,54g por dia de um blend de óleos funcionais a base de óleo de mamona e caju, frente a um tratamento com 200 mg de monensina sódica.

Castillejos et al. (2006) após observar que 50mg/L de timol maximizaram a digestibilidade de MS, enquanto que 5 e 500mg/l não causaram o mesmo efeito, sugere que os efeitos dos óleos funcionais dependem do tipo e da dose, provável

explicação para perda do efeito quando de administra maiores doses. Evans & Martin (2000) relataram que inclusão de óleos funcionais na dieta de ruminantes reduziu as concentrações de metano e lactato, embora em doses mais elevadas reduziu também a digestão dos nutrientes e produção total dos ácidos graxos de cadeia curta, indicando claramente que o metabolismo da microbiota ruminal foi inibido.

Marsiglio (2012), observando um ovinos suplementados com um blend de óleos funcionais, a base de óleo de mamona e caju, frente a um grupo controle suplementado com monensina, concluiu que os óleos funcionais constituem um bom substituto aos antibióticos ionóforos.

2.6.8.1 Modo de ação

Não há muitos trabalhos desenvolvidos com óleos essenciais e por isso os mecanismos de ação ainda não estão exatamente definidos, no entanto, os trabalhos desenvolvidos até o momento indicam o potencial dos óleos funcionais tem de manipular os produtos da fermentação ruminal (BERCHIELLE, 2006). Apesar do modo de ação não estar completamente elucidado, algumas hipóteses têm sido levantadas: ação antimicrobiana, atividade antioxidante, benefícios na atividade enzimática.

A atividade antimicrobiana é um efeito intrínseco dos extratos de plantas (CONEGLIAN, 2009). Diversas referências na literatura científica demonstram uma clara atividade bactericida e fungicida e anti viral de muitos extratos contra patógenos dos animais e alimentos (BRUGALLI 2003).

O mecanismo pelo qual a maioria dos óleos essenciais exerce seu efeito antimicrobiano, é pelo seu caráter ionóforo, semelhante aos antibióticos ionóforos promotores de crescimento, sua atividade na estrutura da parede celular bacteriana atua alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática por íons hidrogênio, sódio e potássio. A alteração dos gradientes de íons conduz a distúrbios nos processos fundamentais da célula, como transporte de elétrons, translocação de proteínas, etapas da fosforilação e outras reações, resultando na

perda do controle quimiosmótico da célula afetada, e posterior morte bacteriana (DORMAN & DEANS, 2000).

A atividade antioxidante dos óleos essenciais está ligada a presença de compostos fenólicos. No entanto, compostos como os flavonoides e terpenóides também apresentam atividade antioxidante. Tais substâncias podem interceptar e neutralizar radicais livres, impedindo a propagação do processo oxidativo (HUI, 1996).

Acredita-se que os óleos essenciais possam estimular a produção de saliva, o que pode maximizar o efeito tampão realizado por ela, e dos sucos gástrico e pancreático, beneficiando e aumentando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos nutrientes (MELLOR, 2000).

2.6.8.2 Óleo de mamona (Natupremix)

O óleo de mamona – *Ricinus communis*, é obtido a partir da prensagem das sementes, contém 90% de ácido graxo ricinoléico (Figura 6), o qual confere características singulares ao óleo, possibilitando ampla gama de utilização, assim tornando a cultura da mamoneira importante no potencial econômico do país (CONEGLIAN, 2009). A cadeia carbônica do ácido ricinoléico proporciona sítios em que são realizadas reações químicas e também possibilita a obtenção de vários derivados pela modificação estrutural na cadeia carbônica (CONEGLIAN, 2009). O ácido graxo ricinoléico funciona como um ionóforo divalente (VIEIRA, 2001).

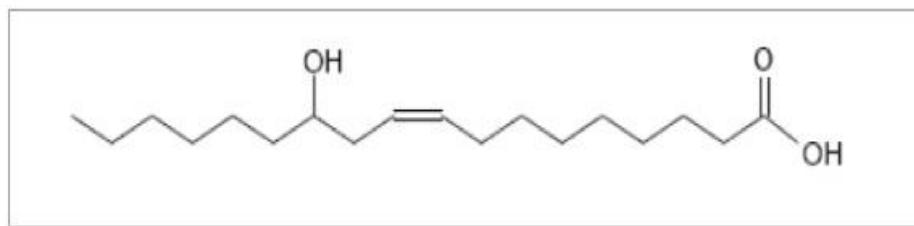


Figura 6. Molécula do ácido ricinoléico.

(MARSIGLIO, 2012).

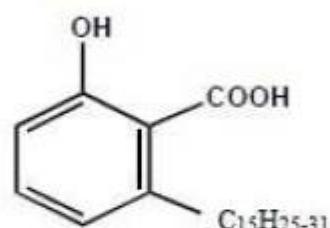
Segundo a comissão Européia o óleo de rícino e o ácido ricinoléico, apesar de não serem gorduras alimentares, em pequenas doses são consideradas como tais (Opinion of the Scientific Committee on Food the 23rd additional list of

monomers and additives for food contact materials). Portanto, do ponto de vista de resíduos na carcaça, não há nenhum tipo de problema (CONEGLIAN, 2009).

Derivados do ácido ricinoleico e oleico foram estudados a fim de verificar a existência de atividade antimicrobiana contra várias espécies de bactérias e leveduras, sob ótimas condições para crescimento, e exibiram considerável atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana, dos derivados de ácido ricinoleico e isooleico, contra alguns microorganismos, foi comparada a do ácido sórbico um ácido graxo insaturado com atividade antimicrobiana contra um largo espectro de leveduras, fungos e bactérias; e a do ácido 10-undecenóico, outro conhecido agente antimicrobiano (Novak et al., 1961).

2.6.8.3 Óleo de Caju (Natupremix)

Os princípios ativos do óleo de caju são o ácido anacárdico (2-3%), cardol (15-18%) e cardanol (75-80%) (CONEGLIAN, 2009) os quais têm as moléculas representadas na figura 7, 8 e 9 respectivamente. Os dois primeiros são componentes com ação antimicrobiana, são compostos fenólicos que funcionam como um ionóforo monovalente (NAGABHUSA, 1995). Já o cardanol tem atividade anti-inflamatória e antioxidante (TREVISAN, 2006; AMORATTI, 2001). Estes tipos de compostos ativos que protegem as plantas do ataque de fungos e bactérias. (CONEGLIAN, 2009).



Ácido anacárdico

Figura 7. Representação molecular do Ácido Anacárdico.

Fonte: MARSIGLIO (2012)

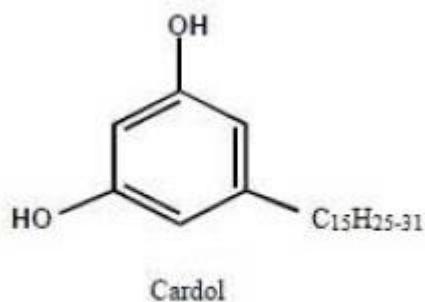


Figura 8. Representação molecular do Cardol.

Fonte: MARSIGLIO (2012)

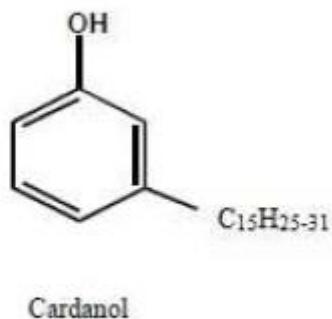


Figura 9. Representação molecular do Cardanol

Fonte: MARSIGLIO (2012)

Lima et al. (2000) constataram a atividade antimicrobiana do ácido anacárdico do óleo de caju sobre as bactérias Gram-positivas *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* e, observaram também fraca atividade inibitória sobre leveduras como a *Candida albicans* e *Candida utilis*.

Toyomizu et al. (2003) observaram que a suplementação com ácido anacárdico e com LCC natural resultou em redução nas lesões de ceco em frangos durante uma infecção experimental de coccidiose, sugerindo que o ácido

anacárdico e o LCC podem atuar como um agente anti-inflamatório, mas não como coccidiostático, pois não inibiu a produção de oocistos.

3. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

3.1 Plano de estágio

O estágio teve como objetivo buscar conhecimento a respeito do aditivo Natupremix, um blend de óleos essenciais e alga marinha. O estágio abrangeu a atuação do produto processo de digestão, alterações fisiológicas e modo de ação nas principais espécies passíveis de uso; bovinos, aves e suínos, até a inserção do produto na cadeia de produção de carne, buscando parceiros para a aprovação do produto, venda e acompanhamento da utilização nas propriedades.

O período de estágio ocorreu do dia 14/03/2014 a 11/06/2014, com carga horária de 8 horas por dia, de segunda a sexta feira, totalizando 450 horas, as atividades realizadas se deram de acordo com as necessidades da empresa Natupremix Nutrição e Suplementos Naturais Ltda.

De uma forma geral as atividades se deram da seguinte forma:

- Busca de informações e conhecimento a respeito do produto, para montar uma palestra de apresentação do produto, relacionando seu modo de ação e utilização na cadeia de produção de carne bovina e leite, para profissionais e produtores que seriam potenciais parceiros. O objetivo dessa palestra era levantar as principais dúvidas dos profissionais e produtores, buscando um feedback para posterior evolução da apresentação.

- Revisão do registro do produto frente ao MAPA, e busca de possíveis alterações que melhorassem a posição do produto frente a essa questão.

- Busca de parceiros para aprovação do produto.
- Acompanhamento da utilização do produto na granja Biribas Genética de Suínos.

- Desenho experimental e medidas iniciais para o começar os testes em uma granja multiplicadora, parceira da Biribas Genética de Suínos.

- Medidas iniciais para começar os testes com frangos, em parceria com a Professora Patrícia Rossi da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Dois Vizinhos.

- Início uma parceria com o laticínio da chácara, tomando as medidas iniciais para acompanhamento de 3 produtores de leite parceiros.
- Desenho de um experimento para teste e aprovação do produto com bovinos de corte.

3.2 A Empresa

A Natupremix Nutrição e Suplementos Naturais Ltda, localizada na rua Minas Gerais, 976, no município de Cascavel –PR, a empresa iniciou suas atividades em 2009. O seu idealizador Mauricio Gnoato junto ao seu antigo sócio, realizaram os primeiros testes em parceria com a Universidade Estadual de Maringá – UEM, e posteriormente iniciaram as atividades acreditando no potencial do seu único produto, que leva o nome da empresa o Natupremix aditivo, assim iniciaram as visitas e tentaram alavancar as vendas.

Com poucos testes e pouca experiência na área, a empresa encontrou bastante dificuldade frente ao meio tão concorrido e exigente, que é o da cadeia de produção de carne. Devido as barreiras sempre se fixarem nas questões técnicas, no final de 2013 a empresa remodelou sua sociedade e optou por direcionar os investimentos na aprovação técnica efetiva do produto e buscar parceiros iniciais com respaldo técnico e credibilidade que no futuro promovessem o sólido estabelecimento do produto e da sua empresa no mercado. Nessa fase a empresa expandiu seu corpo técnico e está focada em aprofundar o conhecimento no seu produto, para posterior inserção de forma inteligente no mercado.

Agora com parcerias fixadas com universidades e empresas do ramo, a Natupremix vem observando a sua evolução e percebendo o aparecimento dos resultados.

3.3 Relatório Aves

Na cadeia de produção de aves, o Natupremix aditivo, entra como substituto natural de antibióticos promotores de crescimento, contra bactérias gram positivas, assim melhora o processo de digestão, garantindo a integridade das vilosidades intestinais, a sanidade do trato gastrointestinal, além de otimizar os processos enzimáticos e metabólicos. Tendo isso em vista a empresa firmou uma parceria com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, através da Professora Patrícia Rossi, e juntos desenvolvem um experimento para o teste e aprovação do produto na cadeia de produção de aves.

Essa parceria busca trazer argumentos técnicos com a credibilidade de uma instituição de pesquisa idônea, que irá permitir a empresa Natupremix realizar a venda frente aos seus clientes, geralmente cooperativas e industrias de nutrição animal.

Materiais e métodos

170 pintinhos machos da linhagem Cobb, serão alojados em um galpão de 96 metros quadrados (8m x 12m), receberam tratamento similar do dia 0 ao dia 21, com ração pré inicial com 21% PB, a partir do dia 22 até 47º dia, serão divididos ao acaso em 16 boxes de 4 m², sendo que cada box terá 10 frangos de 22 dias, 8 boxes irão receber ração de crescimento, com 18% de PB, sem a inclusão do Natupremix aditivo e 8 boxes irão receber a mesma ração, com a inclusão de 1,5kg do Natupremix aditivo por tonelada. Os animais serão abatidos aos 47 dias e serão comparadas as diferenças nos parâmetros de peso final, taxa de mortalidade, ganho de peso diário, conversão alimentar, entre os dois tratamentos.

3.4 Relatório Suínos

Na cadeia de produção de suínos, o Natupremix aditivo, entra como substituto de antibióticos promotores de crescimento, contra bactérias gram positivas, assim melhora o processo de digestão, garantindo a integridade das vilosidades intestinais, a sanidade do trato gastrointestinal, além de otimizar os processos enzimáticos e metabólicos. Buscando aprofundar o conhecimento sobre o produto e verificar a eficácia do mesmo como promotor de crescimento, a empresa firmou uma parceria com a Granja B3, multiplicadora da Biribas genética de suínos, garantindo a possibilidade de testar seu produto em uma realidade comercial.

A granja está localizada na comunidade Marco 3 em São Pedro do Iguaçu – PR, atualmente conta com 500 matrizes, sistema de produção USGMR (Unidade de seleção genética e multiplicação de reprodutores), nas linhagens Landrace, Large White, Duroc e Pietran.

Tendo em vista a necessidade de criação e desempenho de cada lote no fluxo de caixa e na rentabilidade da granja, o experimento técnico comercial teve que se adequar as exigências da granja, porém tentando com que as células experimentais ficassem com realidades mais próximas possível.

O objetivo do teste é observar a melhoria dos índices zootécnicos nos leitões descachados.

Para isso período de creche, 102 suínos 46 machos e 56 fêmeas, foram alojados em 2 baías de 35m² (5m x 7m), divididas em 4 meias baías, resultando em 2 células experimentais, a divisão foi feita, garantindo a homogeneidade do lote, o mesmo número de machos e fêmeas em cada tratamento, e garantindo a mesma quantidade de peso vivo por metro quadrado, em todas as baías com 5,08kg de Peso vivo por metro quadrado. Após randomização da pesagem, as 30 fêmeas mais leves e os 26 machos mais leves, foram separados em duas baías, totalizando 28 animais em cada baia, e nas outras duas ficaram os animais mais pesados, totalizando 21 animais em cada baia, sendo 10 machos e 11 fêmeas. Durante o período de creche, serão feitas adequações de lotação no momento das

trocas de ração, sendo que o produtos se comprometeu que as adequações sejam iguais para ambos os tratamentos, e ao final do período de creche serão feitas as comparações para ganho de peso do lote, taxa de mortalidade e conversão alimentar do lote, comparando as 4 baias como duas células experimentais ou dois tratamentos, com Natupremix e sem natupremix.

O teste será acompanhado pelo graduando em Zootecnia pela UFPR – Universidade Federal do Paraná, Eduardo Franz Luvison e o Médico Veterinário Rogério Paulo Tovo. Que estarão presentes acompanhando a coleta dos dados e também em eventuais necessidades demandadas pela granja.

3.5 Relatório Bovinos de Leite

Na bovinocultura de leite a parceria foi firmada com o Laticínio da Chácara, situado na rua Rio da Paz km-5, Nova Cidade, Cascavel. Esse projeto também vai permitir a empresa Natupremix, avaliar seu produto em uma situação comercial real, tendo em vista a pouca literatura encontrada sobre o produto na bovinocultura leiteira, esses dados serão muito importantes, como indicadores de parâmetros a serem avaliados no futuro em situações experimentais, além de iniciar a atuação da empresa no mercado e permitir a busca de novos clientes.

Para o teste selecionamos 3 produtores de leite que entregam seu produto para o laticínio da chácara e tem condições adequadas de sanidade e manejo, visando que a presença da equipe Natupremix fosse inicialmente apenas relacionada ao fornecimento do Natupremix aditivo, tentando minimizar outras alterações de nutrição, manejo e sanidade, que pudessem vir a mascarar o resultado do produto.

Na posse dos dados históricos de análise de qualidade do leite dos produtores do Laticínio da Chácara, e informações a respeito das condições das propriedades e principalmente aceitação da utilização do Natupremix aditivo por parte dos produtores. Os produtores definidos para o acompanhamento e avaliação da utilização do produto foram: Julio Cirico, Sidinei Meurer e Nicolau Meurer.

O passo seguinte será a visita as propriedades deles, juntamente com a indicação do fornecimento do produto aos animais, o produto será servido no método “on top”, onde o produtor irá dosar e colocar o produto individualmente sobre o trato dos animais, a dosagem do produto será de 4g por cabeça dia mais 1g a cada 3 litros de leite.

Posterior ao inicio do fornecimento, iremos acompanhar a evolução das 3 propriedades com relação ao aumento na produção de leite e melhora nos parâmetros de qualidade do leite: % gordura, % proteína, % lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total.

Esses primeiros acompanhamentos irão ajudar a equipe a planejar futuros testes, que irão permitir agregar um mérito técnico e científico aos testes na bovinocultura leiteira.

3.6 Relatório Bovinocultura de Corte

Nesse setor a empresa ainda está em busca de parceiros para a aprovação do produto, apesar de algumas propriedades já estarem utilizando o produto, mostrando que ele funciona, como é o caso da Fazenda Três Meninas em Cascavel – Pr e da Fazenda Stein em Nova Laranjeiras – Pr. Porém isso não tem força como argumentação técnica frente aos que devem ser os principais clientes.

Se tratando de um produto de micro inclusão, aliado a organização da cadeia de pecuária de corte, assim como nas outras espécies, é muito raro encontrar propriedades que tenham condição operacional de incluir esse produto nas suas dietas. E vai além, o pequeno volume utilizado por cada propriedade, não viabilizaria os custos, com a venda, número de técnicos para visitar as propriedades, logística de entrega as propriedades, além de outros fatores que também seriam complicadores para o estabelecimento do produto no mercado.

Sendo assim a empresa tem em mente que deve buscar como clientes outros agentes da cadeia da bovinocultura, que já atuem realizando esses fatores complicadores, por exemplo as indústrias de ração, cooperativas, empresas de nutrição, visando que essas incluam o Natupremix aditivo, nas suas formulações.

Após definido esse tipo de clientes, a empresa deve buscar a comprovação sólida e confiável de seu produto, como visto na revisão bibliográfica, a dados e literatura que indicam que o produto de fato funciona, porem só isso não serve como argumento frente a grandes empresas, com isso a empresa Natupremix se ve necessário a realização de um experimento junto a uma instituição de pesquisa idônea e com credibilidade frente a cadeia de produção de carne.

3.6.1 Desenho experimental para bovinos

Para ter um experimento que refletisse confiabilidade e bons argumentos de venda, a empresa Natupremix deve buscar uma instituição de pesquisa idônea e renomada para realizar um experimento, que preferencialmente possa resultar em uma dissertação de mestrado ou doutorado.

O experimento deve decorrer da seguinte forma, 50 novilhos com características genéticas próximas, idade e aproximadamente 350 kg de Peso vivo. Preferencialmente os animais devem ser alojados em baias individuais, ou em algum sistema moderno (Ex: Growsafe), que permita a mensuração dos parâmetros de conversão alimentar e eficiência alimentar.

Devem ser feitos 6 tratamentos, sendo um sem o Natupremix aditivo, um controle positivo com um antibiótico ionóforo já utilizado em larga escala, como o exemplo da monensina, e os outros quatro com diferentes níveis de dosagens para permitir, por regressão chegar a uma dosagem ideal. O período do experimento deve ter no mínimo 30 dias, desconsiderando um período de adaptação de no mínimo 7 dias. Essas características garantiriam bons e confiáveis resultados estatísticos. Ao final do experimento deve se avaliar e comparar os parâmetros de desempenho (Ganho médio diário, Peso final), parâmetros de carcaça (Área de olho de lombo, Espessura de gordura).

Para as medidas de parâmetros de fermentação (Nitrogênio amoniacal, e proporção dos principais ácidos graxos voláteis) e digestibilidade ruminal, a empresa deve buscar a permissão da produção de um animal fistulado, e posterior a isso passar a fazer avaliações com diferentes níveis de inclusão do produto Natupremix, em diferentes períodos.

3.REFERÊNCIAS

- AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 1987-1895, 1987.
- AMORATI, R. et al. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivates. **Journal of Chemical Society**, Perkin Transaction 2, p. 2142-2146, 2001.
- ANDO, S.; NISHIDA, T.; ISHIDA, M. et al. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentarion and protozoa. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 245-248, 2003.
- ASGARY, S.; SHAMS ARDEKANI, M.; S.; NADERI, G.; H. et al. The antioxidant activity of the essential oils of Iranian conifers on red blood cell. **Proceedings of XIIIth International Symposium on Atherosclerosis**. Kyoto, Japan, 2003.
- BAGG, R. – Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. In: **Symposium Held**, 1997, Ontario. Proceedings ... Ontario: Ontario Veterinary College, jun., 1997.
- BAUCHOP, T. Colonization of plant fragments by protozoa and fungi. In: NOLAN, J.V.; LENG, R.A.; DEMEYER, D.I. (Eds), The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Armidale: **Penambul Books**, 1989.
- BECHAAR, C.; PETIT, V. H.; BERTHIAUME, R.; WHYTE D.T.; CHOQUINARD, Y. P. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 89, p. 4352-4364, 2006.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.
- BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action, **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1465-1483, 1984.
- BERGMANN, E.N.; KON, K. Energy contribuition of Volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, p. 567-590, 1990.
- BLACK, J.L. **Nutrition of the grazing ruminant**. Proc. NewZel. Soc. Prod., v. 50, p. 7-28, 1990.
- BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: **Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos**, Campinas. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. p. 167-182, 2003.

BRYANT, M.P.; BURKEY,L.A. Numbers and some predominant groups of bacteria in the rumens of cows fed different rations. **Journal of Dairy Science**, v. 36, p. 218, 1953.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CÁCERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. Guatemala: Editorial Universitária, p. 402, 1999.

CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. et al. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3230-3236, 2004.

CONEGLIAN, S. M. Uso de Óleos Essenciais de Mamona e Caju em dietas de Bovinos. 2009. 100f. **Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2009.

CALLAWAY, E. S. e MARTIN, S. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2035-2044, 1997.

CASTILLEJOS, L. et. al. Effects of a specific blend of essencial oil compounds and de type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from continuous culture system. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p 29-41, 2005 e 2006.

CHAGAS, L. J. Óleos funcionais como alternativa a ionófors na alimentação de bovinos de corte. **USP/ Esalq – Assessoria de comunicação**.

CHURCH, D. C. **Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants**. 2nd ed. Oxford Press Inc., Portland, Oregon. 1976.

DEHORITY, B.A. **Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa**. Boca Raton, Fla: CRC Press. 1993.

DEHORITY, B.A.; ORPIN, C.G. Development of and natural fluctuations in, rumen microbial populations. In HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The rumen microbial ecosystem**. 2. Ed. London: Blackie Academic, 1997.

DILORENZO, N. Effects of feeding polyclonal antibody preparations against rumen starch and lactic-fermenting bacteria on target bacteria populations and steer performance. Saint Paul, Minnesota, USA: University of Minnesota, 2004.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

DUSKOVÁ, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, p. 159-163, 2001.

EVANS. J.D.; MARTIN, S.A. Effects of thymol on ruminal microorganisms. **Current Microbiology**, v. 41, p. 336-340, 2000.

FIRKINS, J.L. Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Nutrition**, v.126 (supplement), p.1347-1354, 1996.

FRANDSON, R. D.; LEE WILKE, W.; DEE FAILS, A. **Anatomia e fisiologia dos animais da fazenda**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 454.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. **Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal**. IN: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006, p. 253.

GOODRICH, R.D. et. al. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1484-1498, 1984.

GORDON, G.L.R; PHILLIPS, M.W. – The role of anaerobic gut fungi in ruminants. **Nutrition Research Reviews**, v. 11, p. 133-168, 1998.

GRENÉT, E. et. al. Rumen anaerobic fungi and plant substrate colonization as affected by diet composition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 26, p.55, 1989.

HELANDER, I.M. et al. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p. 3590–595, 1998.

HÖFERL et al. Correlation of Antimicrobial Activities of Various Essential Oils and their main aromatic volatile constituents. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 459 – 463, 2009.

HUI, Y.H. **Oleoresins and essential oils**. In: (Ed). Bailey's industrial oil and fat products. New York: Wiley Interscience Publication, 1996.

HUNGATE, R.E. The rumen and its microbes. New York: Academic Press. 1966. p. 533.

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

HUTJENS, M.F.; **Feed additives**. In: SNIFFEN, C.J.; HERDT, T.H. (Eds.) The veterinary clinics of north America. Proceedings ... Philadelphia. 1991. W.B. Sanders company, 1991. p. 525-540.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts (special number). Feed Mix - The International Journal on Feed, **Nutrition and Technology**, v.9, n.6, p.19-24, 2000.

KOHLERT, C; VAN RENSEN, I.; MARZ, R. Bioavailability and pharmokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Medica**, v.66, p.495-505, 2000.

KOZLOSKI, G. B. Bioquímica dos ruminantes. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 2002. p. 139.

KRAUSE, D.O.; RUSSEL, J.B. How many ruminal bactéria are there? **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1467-1475, 1996.

LANGHOUT, P. New additives for broiler chickens in vivo. **World Poultry**, v. 16, n. 1, p. 22-27, 2000.

LIMA, C.A.A.; PASTORE, G.M.; LIMA, E.D.P.A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.3, p.358-362, 2000.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. DE A. Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**. p. 512, 2002.

LOWE, L.B. Prevention of Bloat in Pastured Cattle – Using monensin sodium controlled release capsules (CRC). **The Bovine Practitioner**, v. 32, p. 27-33, 1996.

LOYOLA, V. R.; PAILE, B.J.A. Utilização de Aditivos em Rações p/ Bovinos: Aspectos Regulatórios e Segurança Alimentar. **Anais 8º Simposio Sobre Nutrição de Bovinos**, FEALQ, Piracicaba, p. 213 –244. 2006.

MACHADO, P. F.; MADEIRA, H. M. F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen – efeitos do uso de ionóforos. In: **Sociedade Brasileira de Zootecnia. Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, p. 79-96, 1990.

MANELLA, M. Q.; LOURENÇO, A. J.; LEME, P. R. Recria de bovinos Nelore em pastos de Brachiaria brizantha com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de Leucaena leucocephala. Característica de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p. 1002-1012, 2003.

MARSIGLIO, B. N. et al. Óleos funcionais em dietas de alto grão para ovinos e efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes, desempenho, características da carcaça e do músculo Longissimus dorsi. Tese doutorado – UEM, 2012.

MARTIN, S.A.; STREETER, M.N. Effect of malate on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2141-2145, 1995.

MCEWAN, N. R.; GRAHAM, R. C.; WALLACE, R.J. et al. Effect of essential oils on ammonia production by rumen microbes. **Reproduction and Nutrition Development**, v. 42, p. 65, 2002.

McINTOSH, F.M. et. al. Effects of essencial oils on ruminal microorganisms ans their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 5011-5014, 2003.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R.; Mc DONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal Nutrition**, v. 38, n. 3, p. 437-443, 1977.

MELLOR, S. Antibiotics are not the only growth promoters. **World Poultry**, v. 16, n. 1, p. 14-15, 2000.

MOLERO, R.; IBARS, M.; CALSAMIGLIA, S. et al. Effects of specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with diferente forage to concentrate rations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 114, p. 91-104, 2004.

MUIRA, H.; HORIGUCHI, M.; MATSUMOTO, T. Nutritional interdependence among rumen bactéria, *Bacteroides amylophilus*, *Megasphaera elsdenii* and *Ruminococcus albus*. **Applied Enviromental Microbiology**, v. 40, p. 294-300, 1992.

NAGABHUSHA, K.S., et al. Selective ionophoric properties of anacardic acid. **Journal of Natural Products**, v. 58: 5, p. 807-810, 1995.

NAGARAJA, T.G. et. al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The Rumen Microbial Ecosystem**. 2 ed. London: Blackie Academic, 1997. p. 523-632.

NAGARAJA, T. G. Response of the Gut and Microbial Populations to Feedstuffs: The ruminant story. In Proc. **64th Minnesota Nutrition Conference**. St. Paul, MN. 2003. p. 64-77.

NEWBOLD, C.J.; McINTOSH, F.M.; WALLACE, R.J. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, as feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 76, p. 249-251, 1996.

NEWBOLD, C.J.; McINTOSH, F.M.; WILLIANS, P. et al. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.114, p. 105-112, 2004.

NICODEMO, M. L. F. Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001.

NRC, Nutrient Requirement for Beef Cattle. National Research Council, Washington, 1996.

PEIXOTO, M. A. et. al. **Nutrição de Bovinos: Conceitos Básicos e Aplicados**. 5. Ed. Piracicaba: FEALQ, 1995.

OLIVEIRA, S. V. Características Químicas e Fisiológicas da Fermentação Ruminal de Bovinos em Pastejo. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 20, 2013.

ORSKOV, E. R. **Nutrición Proteica de los Ruminantes**. Zaragoza: Agribia, 1998. p 178.

ORTOLANI, L. E.; MARUTA, A. C.; MINERVINO, H. H. A. Aspectos clínicos da indução experimental de acidose lática ruminal em zebuíños e taurinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 4, p. 253-261, 2010.

OSBORNE, J.M.; DEHORITY, B.A. Sinergism in degradation and utilization of intact forage cellulose, hemicellulose, and pectin by three pure cultures of ruminal bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 2247, 1989.

OLIVEIRA, S. J. Diversidade Microbiana no Ecossistema Ruminal. RedVet, v. 3, n. 6, 2007.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A. L. Ruminal Fermentation. In: CHURCH, D.C.: The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. 1993. p. 145- 171.

PASTER, B.J. et. al. Phylogeny of ammonia producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius* *Clostridium sticklandii* and *Clostridium aminophilum* sp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 43, p.107, 1993.

United States Department of Agriculture. Long-term projections. 2014. Disponível em <<http://www.usda.gov>>

RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, n. 15, p. 479-483, 2004.

REECE, W.O. Dukes - **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006

RIBEIRO, K. G.; GARCIA, R.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R. Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais, em bovinos recebendo dietas contendo feno de Capim - Tifton 85 de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 581-588, 2001.

RUSSEL, J.B. Low-affinity high-capacity system of glucose transport in the ruminal bacterium *Streptococcus bovis*: evidence for a mechanism of facilitated diffusion. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3304, 1990.

RUSSELL, J.B.; CHOW, J.M. Another theory for the action of ruminal buffer salts, decreased starch fermentation and propionate production. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 826, 1993.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1, 1989.

SANTOS, E.D.G.; et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em tourinhos limousin-nelore, suplementados durante a seca em pastagem diferida de Brachiaria decumbens staph. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.704-713, 2004.

SANTURIO, J. M. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, p. 803 – 808, 2007.

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

SCHELLING, G. T. – Monensina Mode of Action in The Rúmen. **Journal Animal Science**, v. 58, n. 6, p. 1518-1527, 1984.

SNIFFEN, C. J.; O`CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. et. at. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, v. 43, p. 910, 1976.

STEWART, C.S.; FLINT, H.J.; BRYANT, M.P. – The Rumen Bacteria. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). – **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Blackie Academic, v. 2, p. 10-72, 1997.

STROBEL, H. J.; RUSSEL, J.B. Effects of pH and energy spillingon bacteria protein synthesis by carbohydrate- limited cultures of mixes rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2941, 1986.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; RUSSEL, J. B. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1648-1658, 2000.

TEIXEIRA, J. C. **Nutrição dos Ruminantes**, Lavras, MG: ESAL/ FAEPE, 1991.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In: **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 583.

TREVISAN M.T.S., et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, 188:97, 2006.

TYLER, J.W.; WOLF, D.F.; MADDOX, R. Clinical indications for dietary ionophores in ruminants. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, v. 14, p. 989-993, 1992.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2^a Ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994.

VELHO, P. J. Disposição dos consumidores de Porto Alegre a Compra de Carne com Certificação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 2, p. 399-404, 2009.

VELLUTI, A.; et al. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, orégano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. **Food Microbiology**, Lleida, v. 89, p. 145-154, 2003.

VIEIRA, C.; et al. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 364, p.87–95, 2001.

YOON, I. K.; STERN, M. D. Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: A review. **Asian-Australas. Journal of Animal Science**, v. 8, p. 555, 1995.