



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SUZANA COIMBRA DE MOURA LUSTOSA E SILVA

**INCLUSÃO CRESCENTE DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU  
(*Anacardium occidentale*) EM DIETAS PARA OVINOS EM CONFINAMENTO**

TERESINA – PI

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SUZANA COIMBRA DE MOURA LUSTOSA E SILVA

**INCLUSÃO CRESCENTE DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU  
(*Anacardium occidentale*) EM DIETAS PARA OVINOS EM CONFINAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí  
(PPGCA/UFPI), para obtenção do título de Doutorado em  
Ciência Animal do PPGCA/UFPI.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Jácome de Araújo  
Coorientador: Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra  
Área de concentração: Produção Animal

TERESINA – PI

2022

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial CCA  
Serviço de Representação da Informação

S586i Silva, Suzana Coimbra de Moura Lustosa e.  
Inclusão crescente do líquido da casca da castanha de caju  
(*Anacardium occidentale*) em dietas para ovinos em confinamento /  
Suzana Coimbra de Moura Lustosa e Silva. -- 2022.  
92 f.: il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de  
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
- Teresina, 2023.

“Orientador: Prof. Dr. Marcos Jácome de Araújo.”

1. Nutrição de Ruminantes. 2. Suplementação Lipídica. 3. Fenóis.  
4. Coprodutos. I. Araújo, Marcos Jácome de. II. Título.

CDD 636.3

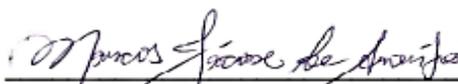
Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163

INCLUSÃO CRESCENTE DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU  
(*Anacardium occidentale*) EM DIETAS PARA OVINOS EM CONFINAMENTO

SUZANA COIMBRA DE MOURA LUSTOSA E SILVA

Tese aprovada em 30 de maio de 2022

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Marcos Jácome de Araújo  
Campus Professora Cinobelina Elvas (CPCE/UFPI) – Presidente



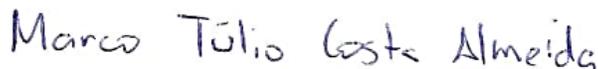
Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla  
Universidade de São Paulo (CENA – USP) – Examinador externo



Prof. Dr. Carlo Aldrovandi Torreão Marques  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Examinador Externo



Prof. Dr. Henrique Nunes Parente  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – Examinador Externo



Prof. Dr. Marco Túlio Costa Almeida  
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – Examinador Externo

DEDICO,

*Ao meu bondoso e precioso Deus, que esteve comigo em todos os momentos, que me concedeu força e graça para prosseguir. Aos*

*meus irmãos por todo o apoio, amizade, cuidado e cumplicidade. Amo vocês.*

*“Porquanto é o Senhor quem concede sabedoria, e da sua boca procedem a inteligência e o discernimento. Ele reserva plena sabedoria para os justos; como um escudo protege quem procura viver em integridade.” (Provérbios 2. 6, 7).*

## AGRADECIMENTOS

*Ao Senhor, que me concedeu graça, força e sabedoria para continuar subindo os degraus do longo que me foi proposto.*

*Aos meus queridos irmãos, pelo cuidado e amizade. Tenho convicção de que posso contar com vocês em todos os momentos.*

*Amo vocês!*

*Aos meus Pais, que sempre estiveram na torcida, esperando orgulhosos pelo meu retorno. Esta vitória é da nossa família!*

*Aos amigos, Ana Raquel, Nilce, Vilma, Leandra, Vanessa, Gabriela, Joãozinho, Ricardo, Luanna, Patrícia, Regina e Ruthe*

*Camargo, que mesmo distante, se mantiveram ao meu lado, amo vocês.*

*As instituições de ensino que proveram o meu doutoramento, Universidade Federal do Piauí, Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, pelo apoio e condições fornecidas a realização deste estudo.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo e auxílio financeiro para o suporte da pesquisa.*

*Ao Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra, pelos passos iniciais na condução do estudo, obrigada pela confiança, ensino, orientações e exemplo concedido.*

*Ao Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla, pela generosidade e cuidado, pela confiança depositada, pela orientação, ensino e suporte na condução dos trabalhos, foram importantíssimos para minha formação. Muito obrigada por tudo.*

*Ao Prof. Dr. Marcos Jácome de Araújo, que foi muito solícito em receber a minha orientação com os estudos em andamento e muito me auxiliou, obrigada pela generosidade, pela confiança e ensino.*

*Aos Professores, Arnaud Azevêdo, Helder Louvandini, José Moraes, José Fabio e Bonifácio Benício, pelo cuidado e ensinamentos transmitidos.*

*À Prof<sup>ª</sup>. Selma Elaine Mazzeto, do Laboratório de Tecnologia de Produtos e Processos, Departamento de Química da UFC, aos cuidados do Prof. André Leandro, pelo fornecimento do LCC.*

*Aos funcionários do laboratório de Nutrição Animal e demais laboratórios das três instituições de ensino que passei, especialmente a Maria Regina Peçanha, Lécio Castilho, Karina, André Leandro, Andrezza, Otávio e Michelle, pela paciência, ensino e suporte recebido.*

*Aos funcionários e prestadores de serviço que me auxiliaram e deram suporte na condução de atividades experimentais, especialmente na fazenda NUPEARIDO. Obrigada.*

*A Patrícia Righeto, uma querida, que me treinou, orientou e ensinou, obrigada pela amizade e parceria, um presente ter você fazendo parte dos muitos momentos dessa caminhada. Amo você!*

*As queridas, Juliana Oliveira e a Sheila Vilarindo, que estiveram comigo nos momentos de elaboração, implantação e desenvolvimento da pesquisa. Obrigada pela amizade e parceria.*

*A todos os amigos e colegas da pós-graduação, Layse Ramos, Luanna Batista, Sheila Vilarindo, Débora Furtado, Wanderson Fiares, Luciana Diógenes, Beatriz Bizzuti, Paulo Tavares, Ana Maria, José Ray, Mirella João, Paulo César, Fabricio Aguiar, Betilde Matos, Romário, Fábio, Rodrigo, Wagner Ovani, Simon Perez, obrigada pela grade ajuda recebida. Os momentos do café, estudo e trabalho foram mais proveitosos pela amizade e companhia de vocês.*

*Aos alunos de iniciação científica e voluntários que auxiliaram no desenvolvimento desse estudo. Muito obrigada.*

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	35
<b>Tabela 2.</b> Consumo, digestibilidade e metabolismo de nitrogênio e produção de metano entérico em ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	44
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros fermentativos de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	45
<b>Tabela 4.</b> Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	45
<b>Tabela 5.</b> Metabólitos séricos de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	46
<b>Tabela 6.</b> Desempenho, características e medidas morfométricas da carcaça de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	47
<b>Tabela 7.</b> Peso e rendimentos proporcionais dos cortes da carcaça de ovinos alimentados com dieta contendo líquido da casca da castanha de caju LCC.....	48
<b>Tabela 8 –</b> Componentes não-carcaça de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	48

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	63
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros climáticos em diferentes horários de avaliação.....	68
<b>Tabela 3.</b> Desempenho, parâmetros fisiológicos e termográficos em função do nível do líquido da casca da castanha de caju (LCC) incluído na dieta de ovinos.....	68
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros fisiológicos e termográficos em função do horário de avaliação.....	70
<b>Tabela 5.</b> Correlação de Pearson entre os dados climáticos e os dados fisiológicos e termográficos.....	72

### CAPÍTULO IV

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	82
--	----

<b>Tabela 2.</b> Produção de gases, degradabilidade e concentração líquida de metano de dietas com a inclusão do líquido da casca da castanha de caju (LCC), após 24 horas de incubação <i>in vitro</i> .....	85
<b>Tabela 3.</b> Cinética de fermentação de dietas com a inclusão de diferentes níveis do líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	86
<b>Tabela 4.</b> Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) após 24 horas de incubação <i>in vitro</i> de dietas com a inclusão do líquido da casca da castanha de caju (LCC).....	88

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO III

- Figura 1.** Termograma do flanco direito e esquerdo de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju.....65
- Figura 2** – Diferença dos dados termográficos mensurados no flanco direito e esquerdo em função do nível de LCC incluídos na dieta (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg).....71
- Figura 3** – Diferença dos dados termográficos mensurados no flanco direito e esquerdo em função do horário de observação (7:00 – 8:00 h; 11:00 -12:00 h; 14:00 – 17:00 h e 17:00 – 18:00 h).....71

### CAPÍTULO IV

- Figura 1.** Produção de gases *in vitro* de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC) em função do tempo de incubação. Dietas experimentais T1 = 0; T2 = 7,5; T3 = 15,0 e T4 = 22,5 de LCC (g/kg MS).....87
- Figura 2.** Taxa de fermentação de dietas contendo o líquido da casca da castanha de caju após 24 horas de incubação *in vitro*. Dietas experimentais T1 = 0; T2 = 7,5; T3 = 15,0 e T4 = 22,5 de LCC (g/kg MS).....87

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C = grau Celsius.

AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

CENA = Centro de Energia Nuclear na Agricultura.

CFDN = ingestão diária de fibra em detergente neutro.

CH<sub>4</sub> = metano.

CMO – consumo de matéria orgânica.

CMS – consumo de matéria seca.

CMS = ingestão diária de matéria seca.

EALFDN = eficiência do consumo de fibra em detergente neutro.

EALMS = eficiência do consumo de matéria seca

EPM - erro padrão da média.

ERUFDN = eficiência de ruminação da fibra em detergente neutro.

ERUMS = eficiência de ruminação da matéria seca.

FDA = fibra em detergente ácido.  
FDN = fibra em detergente neutro.  
FR = frequência respiratória  
g = grama.  
GPMD – ganho de peso médio diário.  
ITGU = índice de temperatura do globo negro e umidade  
L = efeito linear.  
LANA = Laboratório de Nutrição Animal.  
LDA = lignina em detergente ácido.  
mg = miligrama.  
mL = mililitro.  
MM = matéria mineral.  
MO = matéria orgânica.  
MOD = matéria orgânica degradada.  
mov/min = movimentos por minuto  
MOVD = matéria orgânica verdadeiramente degradada.  
MS = matéria seca.  
N = nitrogênio.  
NaOH = hidróxido de sódio.  
NBR = número de bolos ruminados por dia.  
NM = número de mastigação por dia.  
N-NH<sub>3</sub> = nitrogênio amoniacal.  
NRC = National Research Council.  
p = pressão medida.  
PB = proteína bruta.  
PC = peso corporal.  
PG = produção de gases.  
pH = potencial hidrogênico.  
psi = libra por polegada ao quadrado.  
Q = efeito quadrático.  
SAS = Statistical Analysis System.  
TA = temperatura ambiente  
TAL= tempo gasto alimentando.  
TGN = temperatura de globo negro.  
TIV = termografia *in vivo*  
TMT = tempo total de mastigação.  
Tpo = temperatura do ponto de orvalho  
TR = temperatura retal.  
TRU = tempo de ruminação.  
TS = temperatura superficial.  
TSmáx = temperatura superficial máxima.  
TSméd = temperatura superficial média  
U = unidades.  
UR = umidade relativa  
V = volume de gases.  
µm = micrômetro.  
Mmol = milimol.

## RESUMO GERAL

Objetivou-se avaliar o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio, o comportamento ingestivo, o desempenho produtivo, os parâmetros fisiológicos, as características da carcaça, o perfil fermentativo e a emissão *in vivo* e *in vitro* de metano entérico em ovinos alimentados com dietas contendo o líquido da casca da castanha do caju (LCC). Foram realizados três ensaios experimentais. No primeiro ensaio foram utilizados 40 ovinos com  $26 \pm 2,4$  kg de peso corporal inicial, aos cinco meses de idade, distribuídos em delineamento em blocos casualizados com dez animais por tratamento. No segundo ensaio foram utilizados quatro ovinos distribuídos em um delineamento em quadrado latino  $4 \times 4$ . Em ambos os ensaios, os ovinos foram alimentados com uma dieta contendo 0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg de LCC na matéria seca (MS) da dieta. O terceiro ensaio foi de produção de gases *in vitro*, conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro níveis de LCC e quatro inóculos preparados com os animais utilizados no segundo ensaio. A inclusão de LCC à dieta dos ovinos não afetou o consumo de MS ( $P = 0,65$ ), MO ( $P = 0,63$ ), PB ( $P = 0,94$ ), FDN ( $P = 0,24$ ) e FDA ( $P = 0,62$ ). No ensaio de balanço de N, o consumo de N ( $P = 0,007$ ) e o N excretado nas fezes ( $P < 0001$ ) reduziu linearmente, porém, o balanço de N não foi influenciado ( $P = 0,61$ ) pela inclusão do LCC nas dietas. Os ovinos gastaram mais tempo com alimentação e ruminação e menos tempo em ócio com a inclusão de LCC. As concentrações séricas de proteína total ( $P = 0,32$ ), glicose ( $P = 0,08$ ) e a atividade da GGT ( $P = 0,36$ ) não foram influenciadas pelas dietas, no entanto, as concentrações de colesterol ( $P = 0,002$ ) e creatinina ( $P = 0,02$ ) reduziram linearmente. As variáveis fisiológicas foram influenciadas ( $P < 0,05$ ) pelo horário de coleta e pela inclusão do LCC. A produção de  $\text{CH}_4$  (L/d) entérico *in vivo* diminuiu linearmente ( $P = 0,01$ ) com a inclusão de LCC. Houve aumento na produção de propionato ( $P = 0,01$ ) e aumento quadrático na concentração de  $\text{N-NH}_3$  ( $P = 0,008$ ). A inclusão de LCC reduziu linearmente a produção de gases (mL/gMS e mL/MOD), a MO verdadeiramente degradada (MOVD), enquanto a produção *in vitro* de  $\text{CH}_4$  (mL/gMS e mL/gMOD) não sofreu influência ( $P > 0,05$ ). A produção total dos ácidos graxos de cadeia curta ( $P = 0,01$ ), as concentrações de acetato ( $P = 0,03$ ), propionato ( $P = 0,002$ ), valerato ( $P = 0,005$ ) e isovalerato ( $P = 0,02$ ) e a relação entre acetato e propionato ( $P = 0,009$ ) reduziram linearmente com a inclusão do LCC. O pH não sofreu alteração, já a concentração de  $\text{N-NH}_3$  (mg/100 mL) foi reduzida linearmente ( $P = 0,04$ ) com adição dos níveis de LCC. A inclusão do LCC na dieta total para ovinos, em substituição ao milho, proporcionou GMD de 257 g/dia, sem interferências no consumo e na digestibilidade dos principais

nutrientes, com menor excreção de N nas fezes e redução de CH<sub>4</sub> entérico, entretanto, acarretou a redução dos rendimentos de carcaça. Portanto, recomenda-se a inclusão de até 22,5 g/kg de LCC na dieta total para ovinos confinados com bases nos dados produtivos.

**Palavras-chaves:** Coprodutos. Degradabilidade. Fenóis. Nutrição de ruminantes. Suplementação lipídica.

### ABSTRACT

The objective was to evaluate the intake and digestibility of nutrients, nitrogen balance, ingestive behavior, productive performance, physiological parameters, carcass characteristics, fermentative profile and in vivo and in vitro emission of enteric methane in sheep. fed diets containing cashew nut shell liquid (LCC). Three experimental tests were carried out. In the first test, 40 sheep with  $26 \pm 2.4$  kg of initial body weight, at five months of age, were used, distributed in a randomized block design with ten animals per treatment. In the second trial, four sheep were distributed in a 4×4 Latin square design. In both trials, sheep were fed a diet containing 0; 7.50; 15.0 and 22.5 g/kg of LCC in dry matter (DM) of the diet. The third test was for in vitro gas production, conducted in a completely randomized design, with four levels of LCC and four inoculum prepared with the animals used in the second test. The inclusion of LCC in the diet of sheep did not affect the consumption of DM ( $P = 0.65$ ), MO ( $P = 0.63$ ), CP ( $P = 0.94$ ), NDF ( $P = 0.24$ ), ADF ( $P = 0.62$ ). In the N balance assay, N intake ( $P = 0.007$ ) and N excreted in feces ( $P < 0001$ ) decreased linearly, however, N balance was not influenced ( $P = 0.61$ ) by the inclusion of LCC in diets. Sheep spent more time feeding and ruminating and less time idling with the inclusion of LCC. Serum concentrations of total protein ( $P = 0.32$ ), glucose ( $P = 0.08$ ) and GGT activity ( $P = 0.36$ ) were not influenced by diets, however, cholesterol concentrations ( $P = 0.002$ ) and creatinine ( $P = 0.02$ ) decreased linearly. Physiological variables were influenced ( $P < 0.05$ ) by time of collection and inclusion of LCC. The production of enteric CH<sub>4</sub> (L/d) in vivo decreased linearly ( $P = 0.01$ ) with the inclusion of LCC. There was an increase in propionate production ( $P = 0.01$ ) and a quadratic increase in N-NH<sub>3</sub> concentration ( $P = 0.008$ ). The inclusion of LCC linearly reduced the production of gases (mL/gMS and mL/MOD), the truly degraded organic matter (MOVD), while the in vitro production of CH<sub>4</sub> (mL/gMS and mL/gMOD) was not influenced ( $P > 0.05$ ). Total

production of short-chain fatty acids ( $P = 0.01$ ), concentrations of acetate ( $P = 0.03$ ), propionate ( $P = 0.002$ ), valerate ( $P = 0.005$ ) and isovalerate ( $P = 0.02$ ) and the acetate to propionate ratio ( $P = 0.009$ ) decreased linearly with the inclusion of LCC. The pH did not change since the concentration of N-NH<sub>3</sub> (mg/100 mL) was linearly reduced ( $P = 0.04$ ) with the addition of LCC levels. The inclusion of LCC in the total diet for sheep, replacing corn, provided ADG of 257 g/day, without interfering in the intake and digestibility of the main nutrients, with lower excretion of N in the feces and reduction of enteric CH<sub>4</sub>, however, it led to in the reduction of carcass yields. Therefore, the inclusion of up to 22.5 g/kg of LCC in the total diet for feedlot sheep based on productive data is recommended.

**Keywords:** By-products. Degradability. Phenols. Ruminant nutrition. Lipid supplementation.

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	17
<b>2. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>2.1. O cajueiro e o processamento da castanha</b> .....	19
<b>2.2. Líquido da casca da castanha de caju (LCC)</b> .....	19
<b>2.3. Ruminantes e Emissão de Gases de Efeito Estufa</b> .....	21
<b>2.4. Ingredientes alternativos</b> .....	24
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	26
<b>CAPÍTULO II</b> .....	30
<b>Efeito da inclusão do líquido da casca da castanha de caju sobre o desempenho, digestibilidade, balanço de nitrogênio, produção de metano entérico, comportamento ingestivo, metabólitos séricos e características de carcaça de ovinos</b> .....	30
<b>1. Introdução</b> .....	32
<b>2. Material e Métodos</b> .....	33
<b>2.1. Animais e delineamento experimental</b> .....	34
<b>2.2. Experimento I:</b> .....	34
<b>2.2.1 Dietas experimentais e manejo</b> .....	34
<b>2.2.2. Comportamento ingestivo</b> .....	36
<b>2.2.3. Metabólitos séricos</b> .....	37
<b>2.2.4. Consumo, desempenho, abate e avaliação da carcaça</b> .....	37
<b>2.3. Experimento 2:</b> .....	39
<b>2.3.1. Dietas experimentais e manejo</b> .....	39
<b>2.3.2. Digestibilidade, Metabolismo de Nitrogênio e Parâmetros Ruminas</b> .....	39
<b>2.3.3. Metano entérico</b> .....	40
<b>2.4. Análises químicas e cálculos</b> .....	41
<b>2.5. Análises estatísticas</b> .....	41
<b>3. Resultados</b> .....	43
<b>4. Discussão</b> .....	49
<b>5. Conclusão</b> .....	54
<b>6. Referências</b> .....	54
<b>CAPÍTULO III</b> .....	59

<b>Efeito de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju sobre variáveis fisiológicas e termográficas de ovinos em confinamento</b> .....	59
<b>1. Introdução</b> .....	60
<b>2. Material e Métodos</b> .....	62
<b>2.1. Animais e delineamento experimental</b> .....	62
<b>2.2. Dietas experimentais e manejo</b> .....	62
<b>2.3. Variáveis ambientais</b> .....	63
<b>2.4. Variáveis fisiológicas</b> .....	64
<b>2.5. Consumo e desempenho produtivo</b> .....	65
<b>2.6. Análises químicas e cálculos</b> .....	65
<b>2.7. Análises estatísticas</b> .....	66
<b>3. Resultados</b> .....	67
<b>4. Discussão</b> .....	73
<b>5. Conclusão</b> .....	76
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	76
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	79
<b>Cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju</b> .....	79
<b>1. Introdução</b> .....	80
<b>2. Material e Métodos</b> .....	81
<b>2.1. Ensaio <i>in vitro</i> de produção de gases</b> .....	83
<b>2.2. Análises estatísticas</b> .....	85
<b>3. Resultados</b> .....	85
<b>4. Discussão</b> .....	88
<b>5. Conclusão</b> .....	90
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	90

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A ovinocultura é uma importante atividade pecuária do Brasil, mas apesar de seu potencial de crescimento o efetivo de ovinos sofreu pouca alteração nos últimos anos. Isso ocorre devido a diversos fatores que afetam negativamente a estruturação da ovinocultura no país. O maior deles é o desafio de manter um rebanho saudável e produtivo (RAINERI *et al.*, 2015).

A busca por maior produtividade nos sistemas de criação e por ingredientes alternativos à inclusões excessivas de grãos nas dietas de animais ruminantes, especialmente na criação de animais em terminação e animais leiteiros, seja bovinos, caprinos ou ovinos, trazem um novo olhar para a utilização de dietas lipídicas, visto que a inclusão de lipídeos na dieta, eleva a concentração de energia e eficiência de sua utilização, pelo fato do incremento calórico ser mais baixo em lipídeos em relação aos carboidratos e proteínas, representando 2,25 vezes mais energia do que a média fornecida pelos carboidratos (NRC, 2007). Neste contexto, muitas oleaginosas são utilizadas na formulação de dietas destinadas a ruminantes uma vez que seus subprodutos possuem elevado teor de óleo. Estes são extraídos das sementes e dos frutos com grande disponibilidade (PARENTE *et al.*, 2020).

O líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*), lipídeo fenólico subproduto do processamento da castanha de caju, corresponde a cerca de 25% do peso da casca da castanha e a sua produção global é estimada em 450.000 t/ano (PATEL *et al.*, 2006). Apresenta como constituintes o ácido anacárdico, cardanol e cardol, compostos fenólicos de cadeia longa e insaturada e que podem trazer benefícios a alimentação de ruminantes (MAZZETTO *et al.*, 2009).

Quando a extração das amêndoas, fruto do cajueiro, ocorre através do método térmico-mecânico, sendo submetido a temperaturas acima de 180°C o ácido anacárdico, componente majoritário do LCC natural, sofre reação de descarboxilação sendo convertido a cardanol e cardol (VOIRIN *et al.*, 2014). Estes compostos apresentam comprovada atividade antioxidante (RAMOS *et al.*, 2021) e bactericida, podendo ter aplicabilidade na produção animal, trazendo mudanças benéficas ao perfil de fermentação ruminal, como apresentado em estudos *in vitro* (WATANABE *et al.*, 2010, SHINKAI *et al.*, 2012) e melhorias no desempenho produtivo, no metabolismo de nutrientes e, conseqüentemente, na produção animal (VALERO *et al.*, 2016; OSMARI *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021).

A produção de gases de efeito estufa (GEEs) por ruminantes contribui também para perdas econômicas na atividade, refletindo a ineficiência na utilização de insumos e atividades correlatas

aos sistemas produtivos de animais ruminantes. As perdas energéticas são estimadas em 2% a 15% da energia bruta da alimentação, direcionadas a produção de metano (CH<sub>4</sub>) entérico (GOEL e MAKKAR, 2012).

As alternativas para mitigar CH<sub>4</sub> entérico envolvem o aumento da digestibilidade, a relação volumoso e concentrado das dietas, métodos de conservação, estágio de crescimento da planta forrageira, os ingredientes utilizados nas dietas, a inclusão de lipídeos, inclusão de compostos bioativos e a utilização de aditivos alimentares são algumas das principais estratégias com potencial para mitigar a produção de CH<sub>4</sub> (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008).

A manipulação ocorrida no ambiente ruminal pelo uso de aditivos, enzimas, leveduras, óleos essenciais, compostos bioativos, metabólitos secundários e compostos fenólicos têm sido avaliados em estudos *in vitro* e *in vivo* com o objetivo de reduzir a produção de metano (ABDALLA *et al.*, 2012). Bactérias Gram-positivas como *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Ehrlichia ruminantum* e *Butyrivibrio fibrisolvens*, que produzem hidrogênio, fumarato e butirato, mostraram-se sensíveis ao LCC (SHINKAI *et al.*, 2012). A redução dessas bactérias proporcionou o aumento das bactérias Gram-negativas como *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantum* e *Megasphaera elsdenii*, envolvidas na produção de propionato. As modificações das espécies de bactérias provocam mudanças na fermentação ruminal, levando redução na produção de metano e perdas de energia na forma de calor (WATANABE *et al.*, 2010).

Desta forma, objetivou-se com essa pesquisa avaliar o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio, a produção de CH<sub>4</sub> entérico, o comportamento ingestivo, os parâmetros fisiológicos, os metabólitos séricos, o desempenho, bem como as características da carcaça e dos componentes não carcaça dos ovinos alimentados com dietas contendo níveis crescentes de LCC.

## **2. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. O cajueiro e o processamento da castanha**

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) pertence à família *Anacardiaceae*, é encontrado em regiões da América Tropical, está disseminado em diversos países como, Índia, Moçambique, Tanzânia, Vietnã, Indonésia e Tailândia. O Brasil é um dos maiores produtores de castanha de caju, com área cultivada de 764.475 hectares. A produção, tanto da castanha quanto do pseudofruto estão concentradas na região Nordeste do país, representando 98,6 % da produção nacional. Os principais Estados produtores são, o Ceará (85 mil t), o Piauí (23 mil t) e o Rio Grande do Norte (17 mil t) (IBGE, 2021).

O caju é formado por um pedúnculo floral hipertrofiado ou pseudofruto, normalmente confundido como o fruto do cajueiro. A castanha de caju é o fruto do cajueiro sendo composto por uma casaca coriácea lisa, mesocarpo alveolado repleto de um líquido viscoso e escuro denominado de líquido da casca da castanha do caju (LCC), e na parte mais interna a amêndoa, constituída de dois cotilédones carnosos e oleosos, que compõem a parte comestível do fruto. A amêndoa pode ser obtida por extração a frio, através de prensas; extração com uso de solventes; extração supercrítica com dióxido de carbono ou através do processo térmico-mecânico, onde a castanha do caju é aquecida a temperaturas entre 180-200°C, e nesta temperatura a casca externa se rompe e libera o LCC presente no mesocarpo, sendo permitida a recuperação das amêndoas (MAZZETTO *et al.*, 2009).

### **2.2. Líquido da casca da castanha de caju (LCC)**

Quando a extração das amêndoas, fruto do cajueiro, ocorre através do método térmico-mecânico, submetido a temperaturas acima de 180°C, o ácido anacárdico, componente majoritário do LCC natural, sofre reação de descarboxilação sendo convertido a cardanol e cardol (KUMAR *et al.*, 2002).

O LCC técnico, denominação recebida após sofrer o processador térmico-mecânico, é constituído por lipídeos fenólicos naturais, compostos que apresentam em sua estrutura grupos aromáticos e alifáticos e, portanto, exibem dois comportamentos, comportamento hidrofílico (afinidade química pela água) e comportamento lipofílico (afinidade química por lipídeos), característica que lhe confere permissão para atravessar a membrana plasmática dos

microrganismos, especialmente bactérias Gram-positivas. A presença de insaturações na cadeia lateral acíclica pode potencializar sua atividade antifúngica e antibacteriana (VOIRIN *et al.*, 2014).

O mecanismo de ação antibacteriana parece estar relacionado ao caráter alifático da cadeia lateral dos lipídios fenólicos e aos comportamentos hidrofílico e lipofílico dos compostos. A interação dos grupos hidroxílicos do anel aromático com fosfolipídios por meio de ligações de hidrogênio um fator responsável pela alta afinidade do LCC às bicamadas lipídicas presentes nas membranas bacterianas (MAZZETTO *et al.*, 2009). Uma vez incorporados às membranas celulares dos microrganismos, os lipídios fenólicos danificam as proteínas da membrana, provocando sua permeabilidade e, a saída dos componentes citoplasmáticos, com consequente lise celular (KUBO *et al.*, 1993).

Entre outras atividades do LCC, possui ainda a habilidade para quelar o ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e o cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ), reduzindo a biodisponibilidade destes minerais para as bactérias. Nas bactérias, o  $\text{Fe}^{2+}$  participa na formação de moléculas participantes da respiração celular, enquanto o  $\text{Cu}^{2+}$  participa do metabolismo energético e, atua como cofator de enzimas como o citocromo, a oxidase e a superóxido dismutase (TSUJIMOTO *et al.*, 2007).

Devido aos componentes que constituem o LCC e a sua comprovada atividade antimicrobiana, este subproduto pode promover mudanças no ambiente ruminal, característica bastante desejável, havendo perspectivas de sua utilização como um modificador da fermentação ruminal (WATANABE *et al.*, 2010; BRANCO *et al.*, 2015).

O LCC atua principalmente contra bactérias Gram-positivas presentes no rúmen como por exemplo, *Streptococcus bovis*, *Eubacterium ruminantium*, *Lactobacillus ruminis*. A diminuição do número de bactérias Gram-positivas induzidas pelo LCC, pode indiretamente promover o crescimento de bactérias Gram-negativas, tais como *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*, envolvidas na produção de propionato. Mudanças nas espécies bacterianas do rúmen melhora a eficiência da fermentação ruminal, o que significa na prática, aumentar a produção de propionato e reduzir a metanogênese (SHINKAI *et al.*, 2012).

Watanabe *et al.* (2010) obtiveram redução de 70% na metanogênese ao adicionarem 200  $\mu\text{g/ml}$  do LCC em experimento realizado *in vitro*, enquanto Shinkai *et al.* (2012) encontraram redução de 38% na produção de metano em vacas alimentadas com dieta contendo LCC como aditivo na dieta de bovinos, sendo fornecido pellet com 4 g LCC/100 kg de peso corporal ao dia.

Maeda *et al.* (2021) observaram mitigação de 20,2%-23,4% da emissão de CH<sub>4</sub> em estudo *in vivo* com bovinos de corte com o fornecimento de 4 e 6 g de LCC/100 kg de peso corporal, não verificaram efeitos sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes. Análises do conteúdo ruminal dos bovinos revelaram um aumento na proporção de propionato no total de ácidos graxos de cadeia curta, e a abundância relativa de metanogênicas foi diminuída, indicando o efeito inibitório direto do LCC sobre os microrganismos ruminais.

### **2.3. Ruminantes e Emissão de Gases de Efeito Estufa**

Ruminantes são animais que apresentam o estômago dividido em compartimentos, sendo três cavidades consideradas pré-estômagos (retículo, rúmen e omaso) e um compartimento (abomaso), considerado como um estômago verdadeiro, este apresenta glândulas produtoras de enzimas digestivas (pepsina e pepsinogênio), hormônios (gastrina) e glândulas produtoras de ácido clorídrico (MILLEN *et al.*, 2016).

Após a apreensão e ingestão do alimento, o ruminante realiza o processo chamado de ruminação que consiste da regurgitação do alimento, seguido de remastigação, reinsalivação e redeglutição da digesta, este importante processo possibilita a redução do tamanho das partículas dos alimentos, favorecendo a ação dos microrganismos que vivem em simbiose no ambiente ruminal e que realizam a degradabilidade dos alimentos oferecidos aos animais (NRC, 2007).

O ambiente rúmen-retículo funciona como uma câmara de fermentação, colonizado por uma diversidade de microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e arqueias) apresenta uma dinâmica de funcionamento bastante interessante, com condições bem articuladas, temperaturas entre 36 - 42 °C, potencial hidropônico numa faixa segura para a sobrevivência de espécies específicas ao tipo de dieta administrada aos animais, condições de anaerobiose, dentre outras características que propiciam a existência e multiplicação microbiana (VALADARES FILHO *et al.*, 2006).

O processo de fermentação e degradação do alimento no ambiente ruminal é promovido pelos microrganismos que colonizam as partículas do alimento e através de enzimas endógenas que alteram a parede celular vegetal, possibilitando ao hospedeiro nutrientes (MILLEN *et al.*, 2016). A ação dos microrganismos não é restrita apenas a carboidratos estruturais, mas também aos carboidratos não estruturais e proteínas, sendo nomeados e classificados de acordo com o substrato que degradam. Em geral, são classificados como celulolíticos (degradam a celulose),

hemicelulolíticos (degradam a hemicelulose), pectinolíticos (degrada a pectina), ureolíticos (converter ureia em amônia,  $\text{NH}_3$ ), lipolíticos (degrada lipídios), amilolíticos (degrada amido), e espécies produtoras de metano e amônia (ACURI, *et al.*, 2006).

A fermentação ruminal resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), com maior representatividade os ácidos acético, propiônico e butírico, sendo estes as principais fontes de energia para os ruminantes. Como resultado da produção de AGCC ocorre a produção de hidrogênio em excesso, sendo necessário a remoção do rúmen para que o processo de fermentação e crescimento microbiano continue a ocorrer de forma eficiente. Em geral, o hidrogênio é removido através da atividade das metanogênicas, que reduzem o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) a metano ( $\text{CH}_4$ ) e água (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008).

A produção de  $\text{CH}_4$ , metanogênese, é inerente a atividade digestiva normal dos ruminantes, os AGCC formados durante a fermentação não são equivalentes quanto a liberação de hidrogênio, sendo a produção de acetato e butirato vias de fermentação que resultam em liberação líquida de  $\text{H}_2$  no meio. A via de fermentação com a formação de propionato mostra-se competitiva a utilização de  $\text{H}_2$  no rúmen, reduzindo a disponibilidade de substrato para a metanogênese. Assim, a produção de  $\text{CH}_4$  entérico, depende do balanço de  $\text{H}_2$  no rúmen, sendo influenciada pela relação acetato:propionato (McCALLISTER, 2008).

O grupo microbiano *Archaea* (metanogênicas), domínio distinto do *Eukarya* (protozoários e fungos) e *Eubacteria*, (bactérias), são caracterizados pela presença de cofatores (coenzima M, F420 e F430) e lipídeos (ésteres de isopranyl glicerol) únicos. Oito diferentes espécies representam os cinco gêneros de metanogênicas mais encontradas no rúmen, sendo essas: *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium bryanti*, *Methanobacterium vibacter smithii*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanoculleus olentangyi*, *Methanobacterium formicum*, *Methanosarcina barkeri* e *Methanomicrobium mobile* (MILLEN *et al.*, 2016)

O ciclo de formação do  $\text{CH}_4$  pelas *Archaeas* metanogênicas a partir do  $\text{CO}_2$  envolve a captação de quatro moléculas de  $\text{H}_2$ , sendo:  $\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$ . Primeiro os microrganismos (bactérias, protozoários e fungos) hidrolisam o amido dietético e polissacarídeos da parede celular vegetal produzindo açúcares, AGCC,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ . Os açúcares e proteínas são então fermentados por microrganismos secundários formando os AGCC, amônia,  $\text{H}_2$  e de  $\text{CO}_2$ . As metanogênicas através desse processo realizam a manutenção dos níveis de  $\text{H}_2$  no rúmen, favorecendo o crescimento de outras espécies bacterianas (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008).

São crescentes as preocupações com a conservação do meio ambiente, especialmente com as emissões de gases de efeito estufa (GEE) e aquecimento global. Atividades antrópicas, como a queima de combustíveis fósseis, produção de dejetos urbanos, juntamente, com a agricultura e pecuária, são consideradas as principais atividades responsáveis pela produção e emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) e o óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), principais gases de efeito estufa.

A contribuição global das emissões de GEE pela produção animal são de 9% para CO<sub>2</sub>, 35 - 40% para CH<sub>4</sub> e 65% para N<sub>2</sub>O (FAO, 2010). Sendo as emissões de metano em gado leiteiro representam valores de 26 a 497g·dia<sup>-1</sup>. As emissões médias de CH<sub>4</sub> são de 161 g·dia<sup>-1</sup> a 396 g·dia<sup>-1</sup> em bovinos de corte (BROUCEK, 2014). Pequenos ruminantes (ovinos e caprinos) representam cerca de 6,5 % das emissões globais de GEE, quando somadas geram 475 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub><sup>eq</sup>, dos quais 299 milhões de toneladas são emitidos por animais destinados à produção de carne, 130 milhões de toneladas para a produção de leite e 46 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub><sup>eq</sup> por outros bens e serviços ligados a atividade (IPCC, 2021).

O rebanho brasileiro de bovinos está estimado em 172.719.164 de cabeças, o rebanho de ovinos e caprinos estão estimados em 13.789.345 e 8.260.607 de cabeças, respectivamente. A região Nordeste do país apresenta a maior parte do rebanho de pequenos ruminantes, sendo 60% dos ovinos e 90% dos caprinos, criados no território nacional (IBGE, 2021). O Brasil por possuir o maior rebanho comercial de bovinos do mundo e utilizar comumente forrageiras tropicais como base da alimentação fornecida aos animais, tem sido apontado como um importante produtor de CH<sub>4</sub>. Emissões mais elevadas de metano estão condicionadas a dietas que apresentam baixa digestibilidade da fibra (ABDALLA *et al.*, 2012).

A produção de GEEs por ruminantes contribui também para perdas econômicas na atividade, refletindo a ineficiência na utilização de insumos e atividades correlatas aos sistemas produtivos de animais ruminantes. Sendo as perdas energéticas estimadas em 2% a 15% da energia bruta da alimentação 8direcionada a produção de CH<sub>4</sub> entérico (GOEL; MAKKAR, 2012).

As alternativas para mitigar CH<sub>4</sub> entérico envolvem a manipulação da fermentação ruminal, o aumento da digestibilidade, a relação volumoso e concentrado das dietas, métodos de conservação, estágio de crescimento da planta forrageira, tamanho da partícula e grau de moagem, os ingredientes utilizados nas dietas, a inclusão de lipídeos e a utilização de aditivos alimentares, são algumas das principais estratégias com potencial para mitigar a produção de CH<sub>4</sub> (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008).

Manipulação do ambiente ruminal pelo uso de aditivos, enzimas, leveduras, óleos essenciais, compostos bioativos, metabolitos secundários e compostos fenólicos têm sido avaliados em estudos *in vitro* e *in vivo* com o objetivo de reduzir a produção de metano (McCALLISTER, 2008). Tamori *et al.* (2021) avaliando o efeito da alimentação com 4 g de LCC/100 kg de peso corporal de bovinos e búfalos, sobre os produtos da fermentação e a investigação da microbiota nas fezes dos animais, observaram aumento na mitigação de metano entérico e na produção de propionato no rúmen. A alimentação com LCC mudou a comunidade microbiana fecal, particularmente em búfalos, que exibiram diminuições nas frequências de *Treponema*, *Ruminococcaceae* e *Methanomassiliicoccaceae*. Esses resultados sugerem que a inclusão de LCC na dieta altera não apenas a fermentação ruminal, mas também a fermentação intestinal via modulação da população microbiana, atenuando a emissão metano entérico.

#### **2.4. Ingredientes alternativos**

A utilização de alimentos alternativos como coprodutos ou subprodutos da agroindústria oriundos da lavoura de grãos, da fruticultura e de indústrias de biocombustíveis na alimentação de ruminantes são amplamente estudados sob vários aspectos como, a avaliação e digestibilidade dos nutrientes, o desempenho produtivo (consumo, ganho de peso e conversão alimentar), parâmetros ruminais e sanguíneos dos animais, a produção e qualidade da carne ou do leite, e a viabilidade econômica de sua utilização (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

O processamento de alimentos produz grandes quantidades de resíduos, estes resíduos podem ser uma alternativa interessante para a substituição de ingredientes convencionais (milho e farelo de soja) nas dietas de animais de ovinos em confinamento. A flutuação de preços e a concorrência com dietas para monogástricos (aves e suínos) são aspectos considerados na escolha desses alimentos nas dietas dos animais confinados. A alimentação animal é o item de maior custo da produção pecuária, respondendo por 60% e 85% (FEFAC, 2018). Além desses aspectos, preocupações com a diminuição dos impactos ambientais associados ao acúmulo de resíduos agroindustriais têm sido considerado.

Informações sobre os efeitos da inclusão de fontes alternativas de nutrientes em dietas de cordeiros sobre o desempenho produtivo (DIOGÉNES *et al.*, 2020), o consumo de nutrientes ((DIOGÉNES *et al.*, 2020), a digestibilidade dos nutrientes (COSTA *et al.*, 2016), a carcaça

(CARVALHO *et al.*, 2021) e a carne (FERREIRA *et al.*, 2021) são amplamente relatadas na literatura.

Estratégias nutricionais para mitigar CH<sub>4</sub> entérico e reduzir as emissões de gases de efeito estufa buscam identificar e investigar a inclusão de aditivos alimentares e ingredientes dietéticos que possam promover vias alternativas a formação de CH<sub>4</sub> e o aumento da dissipação metabólica do H<sub>2</sub> no rúmen. Ingredientes lipídicos como, óleos vegetais ou sementes oleaginosas são conhecidos por reduzir a produção ruminal de CH<sub>4</sub> em ruminantes (BEAUCHEMIN *et al.*, 2020).

Entretanto, ingrediente lipídicos apresentam desafios quanto a sua utilização, estes frequentemente são acompanhados por reduções no CMS, na digestibilidade dos nutrientes e desempenho produtivo (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Compostos ou metabólitos secundários (taninos condensados e hidrolisados, ésteres de forbol, gossipol) presentes na composição do ingrediente podem trazer efeitos indesejáveis. Os óleos vegetais como o de mamona e caju contêm ácidos ricinoleico, anacárdico, cardol e cardanol, apresentam atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (PARASA *et al.*, 2011) Todavia, quando utilizados em níveis seguros podem conferir efeitos benéficos, como a modulação ruminal, efeito antioxidante e antiparasitário (SHINKAI *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2021).

A utilização de LCC como aditivo ou ingrediente alternativo a utilização de milho na alimentação de animais ruminantes melhora o metabolismo microbiano e favorece o aumento das concentrações de propionato no rúmen e a digestibilidade total da dieta (HESS *et al.*, 2008).

Watanabe *et al.* (2010) ao utilizarem 500 µg / mL de LCC em dietas contendo 30% de feno verificaram uma redução da produção de metano, acetato e butirato, contudo, perceberam um aumento na concentração de propionato. Ao utilizarem a dose de 200 µg / mL de LCC estes autores verificaram inibição da metanogênese, aumento de 44,4% na produção do propionato e redução de 70% na produção de metano.

De acordo com Zotti *et al.* (2017), a adição do LCC associado com a mamona em dietas para bovinos confinados na dose de 400 mg/kg de MS, proporcionou aumento no consumo de matéria seca (CMS), aumento na digestibilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO) com a adição da mistura do LCC associado ao óleo de mamona, em substituição a fonte de energia da dieta dos bovinos.

A aplicabilidade do LCC na manipulação do ambiente ruminal tem sido comprovada (BRANCO *et al.*, 2015). Informações sobre modificações no ambiente ruminal, perfil de

fermentação, digestibilidade e mitigação de metano entérico, em estudos *in vivo* e *in vitro* com a inclusão de LCC na dieta de ruminantes são descritos na literatura (SHINKAI *et al.*, 2012; OSMARI *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021; TAMORI *et al.*, 2021). Entretanto, os efeitos da inclusão de LCC sobre o desempenho e características de carcaças de ovinos são escassos.

Desta maneira, são necessários mais estudos com a inclusão LCC na dieta de ruminantes e a verificação dos seus efeitos sobre a modificação do ambiente ruminal, o comportamento ingestivo, o consumo e a digestibilidade de nutrientes, o balanço de nitrogênio, o desempenho produtivo, características da carcaça, componentes não carcaça e a validação deste coproduto como ingrediente alternativo a ser utilizado na nutrição de animais ruminantes em confinamento.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A. L.; LOUVANDINI, H.; SALLAM, S. M. A. H. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 5, p. 953-964, 2012.
- ACURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. MICROBIOLOGIA DO RÚMEN. IN: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.111, 2006.
- BRANCO, A. F.; GIALLONGO, F.; FREDERICK, T.; WEEKS, H., OH, J.; HRISTOV, A. N. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. **Journal of dairy science**, v.98, n.6, p.4030-4040, 2015.
- BROUCEK, J. Production of Methane Emissions from Ruminant Husbandry: A Review. **Journal of Environmental Protection**, v. 5, p. 1482-1493, 2014.
- BEAUCHEMIN, K. A.; Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v, 48, n. 2, p. 21, 2008.
- BEAUCHEMIN, K. A.; UNGERFELD, E. M.; ECKARD, R. J.; WANG, M. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. **Animal**, v.14, p. 2–16, 2020.
- CARVALHO, V. M., ÁVILA, V. A. D., BONIN, E. et al. Effect of extracts from baccharis, tamarind, cashew nut shell liquid and clove on animal performance, feed efficiency, digestibility, rumen fermentation and feeding behavior of bulls finished in feedlot. **Livestock Science**. v.244, n.1, p.104-361, 2021.

- COSTA, J. B.; OLIVEIRA, R. L.; SILVA, T. M. Intake, digestibility, nitrogen balance, performance, and carcass yield of lambs fed licuri cake. **J. Anim. Sci.**, v.94, p.2973–2980, 2016.
- DIOGÉNES, L.; BEZERRA, R. L.; PEREIRA FILHO, J. Effects of the Dietary Inclusion of Buriti Oil on Lamb Performance, Carcass Traits, Digestibility, Nitrogen Balance, Ingestive Behavior and Blood Metabolites. **Animals**, v.10, p.1973, 2020.
- FAO. Na international consultation on integrated crop-livestock systems for development. The way forward for sustainable production. Rome, 2010.
- FEFAC European Feed Manufacturers Federation, 2018. Effpa & FEFAC welcome commission guidelines ON feed use OF former foodstuffs. Brussels, 18 April 2018. <https://www.fefac.eu/latest-news/press-releases/25425/>.
- FERREIRA, M.; NIEHUES, M. B.; TOMAZ, L. A. Dry matter intake, performance, carcass traits and expression of genes of muscle protein metabolism in cattle fed increasing levels of de-oiled wet distillers grains. **Animal Feed Science and Technology**, v.269, p.114627, 2020.
- GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, astatus review. **Tropical Animal Health and Production**. v.44, n.4, p.729–739, 2012.
- HESS, B.W., MOSS, G.E., HULE, D.C. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.86, p.188-204, 2008.
- IBGE, **Produção Agrícola Lavoura Permanente 2020**. Rio de Janeiro: IBGE, 2021
- IBGE, **Efetivo do Rebanho Pecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). **Climate Change 2021: The Physical Science Basis**. Sixth Assessment Report of the Climate Change, Cambridge University Press. In Press. 2021.
- KUBO, I., MUROI, H., HIMEJIMA, M. Structural-antibiotic activity relationships of anacardic acids. **Journal Agricultural Food Chemmistry**. v. 41, n. 6, p. 1016–1019, 1993.
- KUMAR, P. P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, S. J.; SUBBA-RAO, P. V.; RAO, S. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale* L.) nutshell liquid. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 4705-4708, 2002.
- MAEDA, K.; NGUYEN, V. T.; SUZUKI, T. Network analysis and functional estimation of the microbiome reveal the effects of cashew nut shell liquid feeding on methanogen behaviour in the rumen. **Microbial Biotechnology**, v. 14, p. 277–290, 2021.

- MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, n.3, p.732-741, 2009.
- McALLISTER, T. A.; NEWBOLD, C. J. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p.7-13, 2008.
- MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. D. B.; PACHECO, R. D. L. **Rumenology**. Botucatu: Springer International Publishing Switzerland, p.103, 2016.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. **National Academy Press**, Washington, D. C. 2007.
- OLIVEIRA, R. L.; LEÃO, A. G.; DE ABREU, L. L., et al. Alimentos Alternativos na Dieta de Ruminantes. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v.15, n.2, p.141-160, 2013.
- OSMARI, M.P; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; Diaz, T.G.and Matos, L.F. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. **Archivos de zootecnia**. v. 66, n. 255, p. 376, 2017.
- PARASA, L.S.; SUNITA T.; RAO K B.; et al. Acetone extract of Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shelliquid against Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) by minimum inhibitory concentration (MIC). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.3, p.736-742, 2011.
- PARENTE, M. D. O. M., ROCHA, K. S., BESSA, R. J. B. Effects of the dietary inclusion of babassu oil or buriti oil on lamb performance, meat quality and fatty acid composition. **Meat science**, v. 160, p. 107971, 2020.
- PATEL, R. N.; BANDYOPADHYAY, S.; GANESH, A. Extraction of cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid using supercritical carbon dioxide. **Bioresour. Technol**, v. 97, n. 6, p.847–853, 2006.
- RAINERI, C.; STIVARI, T. S. S.; GAMEIRO, A. H. Lamb Production Costs: Analyses of Composition and Elasticities Analysis of Lamb Production Costs. Asian Australas. **Journal Animal Science**, v.28, n. 8, p.1209–1215, 2015.
- RAMOS, L.M.G.; BEZERRA, L.R. OLIVEIRA, J.P.F., et al. Effects of feeding growing-finishing lambs with cashew nut shell liquid on the growth performance, physicochemical attributes, lipid peroxidation and sensorial parameters of burger. **Small Ruminant Research**, v.202, p.106-468, 2021.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y. Mitigation of methane

- production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of dairy science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- TAMORI, K.; MATSUNAGA, B.; BOONSAEN, P. Feeding cashew nut shell liquid decreases methane production from feces by altering fecal bacterial and archaeal communities in Thai local ruminants. **Anim Science Journal**. v.92, n. 1, p.13569. 2021
- TSUJIMOTO, K.; HAYASHI, A.; JOUNG HA J. Anacardic Acids and Ferric Ion Chelation. **Journal of Biosciences**, v.62, p. 710-6, 2007.
- VALADARES FILHO, S.D.C; PINA, D.S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.565-591.
- VALERO, M. V.; FARIAS, M. S.; ZAWADZKI, F. Feeding propolis or essential oils (cashew and castor) to bulls: performance, digestibility, and blood cell counts. **Revista Colombiana Ciencias Pecuarias**. v.29, n. 1, p.33-42, 2016.
- VOIRIN, C.; CAILLOL, S.; SADAVARTE, N. V., et al. Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 1, p.3142–3162, 2014.
- ZOTTI, C. A.; SILVA, A. P.; CARVALHO, R. Monensin and a blend of castor oil and cashew nut shell liquid used in a high-concentrate diet abruptly fed to Nellore cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 95, n. 9, p. 4124-4138, 2017.
- WAN WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p. 5258-5267, 2010.

## CAPÍTULO II

### **Efeito da inclusão do líquido da casca da castanha de caju sobre o desempenho, digestibilidade, balanço de nitrogênio, produção de metano entérico, comportamento ingestivo, metabólitos séricos e características de carcaça de ovinos**

**RESUMO** - O líquido da casca da castanha de caju (LCC) contém cardol e cardanol, lipídeos fenólicos com atividade bactericida. Objetivou-se avaliar a inclusão do LCC em dietas para ovinos em confinamento. Para tanto, foram realizados dois experimentos. No experimento I, foram usados 40 ovinos com peso corporal (PC) inicial de  $26 \pm 2,4$  kg, em média aos cinco meses de idade, distribuídos em delineamento em blocos completos casualizados, com quatro tratamentos, sendo estes, diferentes dietas com níveis de inclusão do LCC (0; 7,5; 15,0 e 22,5 g/kg MS) e 10 repetições. No experimento II, foram utilizados quatro ovinos da raça Santa Inês canulados no rúmen, com PC médio de  $50 \pm 5,0$  kg, distribuídos em delineamento em quadrado latino ( $4 \times 4$ ), com quatro tratamentos (dietas experimentais) e quatro períodos de avaliação. A inclusão do LCC aumentou ( $P < 0,0001$ ) o consumo de extrato etéreo (EE), no entanto, não influenciou o consumo dos demais nutrientes e o desempenho dos animais ( $P > 0,05$ ). O tempo gasto com alimentação ( $P = 0,003$ ) e ruminação ( $P = 0,003$ ) aumentou linearmente, enquanto o tempo em ócio reduziu linearmente ( $P = 0,001$ ). A digestibilidade da PB ( $P = 0,01$ ) aumentou, a digestibilidade do EE reduziu ( $P < 0,001$ ) e a digestibilidade da FDN sofreu redução quadrática ( $P = 0,002$ ). Já a digestibilidade da MS e da MO não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ). Houve redução no consumo de Nitrogênio (N) ( $P = 0,007$ ) e na excreção de N pelas fezes ( $P < 0,001$ ), a excreção de N pela urina e o balanço de N não foram afetados pela adição de LCC. O colesterol reduziu ( $P = 0,002$ ), a creatinina ( $P = 0,02$ ) e a atividade da fosfatase alcalina ( $P = 0,02$ ) aumentaram linearmente. Houve redução quadrática nos triglicérides ( $P = 0,04$ ), na ureia ( $P = 0,05$ ) e na atividade da aspartato aminotransferase ( $P = 0,005$ ). As concentrações de glicose, proteínas totais e atividade da gama glutamiltransferase não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ). A produção de  $\text{CH}_4$  (L/d) entérico diminuiu linearmente ( $P = 0,01$ ). Houve aumento na produção de propionato ( $P = 0,01$ ) e aumento quadrático sobre a concentração de  $\text{N-NH}_3$  ( $P = 0,008$ ). A inclusão do LCC proporcionou GMD de 257 g/dia. O peso da carcaça quente ( $P = 0,03$ ) e fria ( $P = 0,04$ ) e os seus rendimentos reduziram linearmente. Não foi verificada influência sob as perdas por resfriamento ( $P > 0,05$ ), pH (em 0 e 24 h após o abate) e todas as

medidas morfométricas da carcaça, com exceção da área de olho de lombo que reduziu quadraticamente ( $P = 0,02$ ). O peso e o rendimento dos principais cortes da carcaça não foram influenciados pelo LCC nas dietas, exceto para o peso do serrote que aumentou linearmente ( $P = 0,04$ ). A inclusão do LCC de caju até o nível de 22,5 g/kg na MS total da dieta para ovinos confinados em substituição ao milho, proporcionou GMD de 257 g/dia, sem interferências no consumo e na digestibilidade dos principais nutrientes, com menor excreção de N nas fezes e redução de  $\text{CH}_4$  entérico, entretanto, acarretou redução dos rendimentos de carcaça. Assim, recomenda-se a sua utilização até o nível supracitado.

**Palavras-chaves:** Coprodutos, Fenóis, Nutrição de ruminantes, Suplementação lipídica.

**ABSTRACT** - Cashew nut shell liquid (LCC) contains cardol and cardanol, phenolic lipids with bactericidal activity. The objective was to evaluate the inclusion of LCC in feedlot sheep diets. For that, two experiments were carried out. In experiment I, 40 sheep with an initial body weight (BW) of  $26 \pm 2.4$  kg, on average at five months of age, were used, distributed in a randomized complete block design, with four treatments, these being different diets with levels of LCC inclusion (0; 7.5; 15.0 and 22.5 g/kg DM) and 10 repetitions. In experiment II, four Santa Inês sheep cannulated in the rumen were used, with an average BW of  $50 \pm 5.0$  kg, distributed in a Latin square design ( $4 \times 4$ ), with four treatments (experimental diets) and four periods of assessment. The inclusion of LCC increased ( $P < 0.0001$ ) the consumption of ether extract (EE), however, it did not influence the consumption of other nutrients and the performance of the animals ( $P > 0.05$ ). Time spent eating ( $P = 0.003$ ) and ruminating ( $P = 0.003$ ) linearly increased, while idle time decreased linearly ( $P = 0.001$ ). CP digestibility ( $P = 0.01$ ) increased, EE digestibility decreased ( $P < 0.001$ ) and NDF digestibility suffered a quadratic reduction ( $P = 0.002$ ). DM and MO digestibility were not influenced ( $P > 0.05$ ). There was a reduction in Nitrogen (N) consumption ( $P = 0.007$ ) and in faecal N excretion ( $P < 0.001$ ). Urinary N excretion and N balance were not affected by the addition of LCC. Cholesterol decreased ( $P = 0.002$ ), creatinine ( $P = 0.02$ ) and alkaline phosphatase activity ( $P = 0.02$ ) increased linearly. There was a quadratic reduction in triglycerides ( $P = 0.04$ ), urea ( $P = 0.05$ ) and aspartate aminotransferase activity ( $P = 0.005$ ). Glucose concentrations, total protein and gamma glutamyltransferase activity were not influenced ( $P > 0.05$ ). Enteric  $\text{CH}_4$  (L/d) production

decreased linearly ( $P = 0.01$ ). There was an increase in propionate production ( $P = 0.01$ ) and a quadratic increase in N-NH<sub>3</sub> concentration ( $P = 0.008$ ). The inclusion of LCC provided ADG of 257 g/day. Hot ( $P = 0.03$ ) and cold ( $P = 0.04$ ) carcass weight and their yields decreased linearly. Losses due to cooling ( $P > 0.05$ ), pH (at 0 and 24 h after slaughter) and all morphometric measurements of the carcass, with the exception of rib eye area, reduced quadratically ( $P = 0.02$ ). The weight and yield of the main carcass cuts were not influenced by LCC in the diets, except for sawdust weight, which increased linearly ( $P = 0.04$ ). The inclusion of cashew LCC up to the level of 22.5 g/kg in the total DM of the diet for feedlot sheep, replacing corn, provided ADG of 257 g/day, without interference in the consumption and digestibility of the main nutrients, with less excretion of N in the feces and reduction of enteric CH<sub>4</sub>, however, led to a reduction in carcass yields. Thus, its use is recommended up to the above level.

**Keywords:** Co-products. Phenols. Ruminant nutrition. Lipid supplementation.

## 1. Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores de castanha de caju (*Anacardium occidentale*), com área cultivada de 764.475 hectares. A produção, tanto da castanha de caju quanto do pseudofruto estão concentradas na região Nordeste do país, representando 98,6 % da produção nacional. Os principais estados produtores são: Ceará (85 mil t), Piauí (23 mil t) e o Rio Grande do Norte (17 mil t) (IBGE, 2021). A castanha de caju é o fruto do cajueiro, esse composto por uma casaca coriácea lisa, um mesocarpo alveolado repleto de um líquido viscoso e escuro denominado de líquido da casca da castanha do caju (VOIRIN *et al.*, 2014).

O líquido da casca da castanha de caju (LCC), subproduto do processamento da castanha de caju, corresponde cerca de 25% do peso da casca da castanha (PATEL *et al.*, 2006). Apresenta como constituinte majoritário o ácido anacárdico, composto com natureza causticas. No processamento da castanha para a retirada das amêndoas, a castanha é submetida a altas temperaturas (180 a 200 °C) e prensagem, processo térmico-mecânico (LOMONACO *et al.*, 2017). O ácido anacárdico sofre descarboxilação, o que resulta na produção do cardanol e cardol, lipídeos fenólicos que possuem atividade antifúngica, antibacteriana e antioxidantes (VOIRIN *et al.*, 2014; RAMOS *et al.*, 2021).

A atividade bactericida do LCC parece estar relacionada aos comportamentos hidrofílico e lipofílico do cadol e cardanol, comportamento ligado a presença da cadeia lateral acíclica e insaturada ligada ao anel aromático desses compostos. A interação dos grupos hidroxílicos com fosfolipídios da parede celular bacteriana pode ser o fator responsável pela alta afinidade do LCC às camadas lipídicas de bactérias gram positivas, especialmente (MAZZETTO *et al.*, 2009). Uma vez incorporados às membranas celulares dos microrganismos, os lipídios fenólicos danificam as proteínas da membrana, provocando sua permeabilidade e, a saída dos componentes citoplasmáticos, com consequente lise celular (KUBO *et al.*, 1993).

O LCC atua principalmente contra bactérias gram-positivas presentes no rúmen como por exemplo, *Streptococcus bovis*, *Eubacterium ruminantium*, *Lactobacillus ruminis*. A diminuição do número de bactérias gram-positivas induzidas pelo LCC, pode indiretamente promover o crescimento de bactérias gram-negativas, tais como *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*, envolvidas na produção de propionato. Mudanças nas espécies bacterianas do rúmen melhora a eficiência da fermentação ruminal, o que significa na prática, aumentar a produção de propionato e redução da metanogênese (SHINKAI *et al.*, 2012).

Devido aos componentes que constituem o LCC e a sua comprovada atividade antimicrobiana, este subproduto pode promover mudanças no ambiente ruminal, característica bastante desejável, havendo perspectivas de sua utilização como um excelente modificador da fermentação ruminal (BRANCO *et al.*, 2015; WATANABE *et al.*, 2010).

Informações sobre as modificações trazidas ao ambiente ruminal, ao perfil de fermentação, a digestibilidade e mitigação de metano entérico são descritos na literatura, em estudos *in vivo* e *in vitro* com a inclusão de LCC na dieta de ruminantes (SHINKAI *et al.*, 2012; OSMARI *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021; TAMORI *et al.*, 2021). Entretanto, os efeitos da inclusão de LCC sobre o desempenho e características de carcaças de ovinos são escassos.

Desta forma, objetivou-se com essa pesquisa avaliar o consumo e a digestibilidade de nutrientes, o metabolismo, a produção de metano entérico, o comportamento ingestivo e as características da carcaça em ovinos alimentados com dietas contendo líquidos da casca da castanha do caju, em diferentes níveis de inclusão.

## **2. Material e Métodos**

A pesquisa foi realizada em dois experimentos, sendo um conduzido no Módulo Didático Produtivo de Pequenos Ruminantes localizado na Fazenda NUPEARIDO, do Centro de Saúde e

Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Estado da Paraíba e o outro ensaio no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (LANA/CENA/USP), Piracicaba, SP. As atividades experimentais seguiram as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa do CSTR - UFCG sob o número de Protocolo 05/2019 e de acordo com as recomendações da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/CENA/USP).

## **2.1. Animais e delineamento experimental**

Para o experimento I, os animais foram mantidos em confinamento por um período total de 85 dias, sendo 15 dias utilizados para adaptação às dietas, manejo e instalações, e 70 dias reservados para amostragem e coleta de dados. Foram utilizados 40 ovinos oriundos de cruzamento Dorper × Santa Inês, machos não castrados, com idade média de cinco meses e com peso corporal (PC) médio inicial de  $26 \pm 2,4$  kg os quais foram tratados contra parasitas internos e externos e vacinados contra clostridiose e mantidos em galpão coberto, composto por baias individuais, suspensas, providas de comedouros e bebedouros.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em blocos completos com quatro tratamentos, níveis de inclusão do LCC na dieta (0; 7,5; 15,0 e 22,5 g/kg MS) e 10 ovinos, repetições, por tratamento, totalizando 40 unidades experimentais.

No experimento II, foram utilizados oito ovinos da raça Santa Inês, cânulados no rúmen e com PC médio de  $50 \pm 5$  kg, mantidos em gaiolas individuais, dotadas de comedouro, bebedouro e dispositivos para separação de fezes e urina. O delineamento experimental foi o de quadrado latino ( $4 \times 4$ ), em que os animais foram distribuídos aleatoriamente, compostos de quatro períodos de avaliação e quatro tratamentos, sendo os níveis de inclusão do LCC nas dietas (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg de MS).

A fase experimental teve duração de 88 dias, subdivididos em quatro períodos com 22 dias cada, sendo os primeiros 14 dias de cada período destinados para adaptação dos animais às dietas experimentais, e os oito últimos dias destinados à coleta de dados. A pesagem de cada animal foi realizada no primeiro e no último dia de cada subperíodo às 8h00.

## **2.2. Experimento I:**

### **2.2.1 Dietas experimentais e manejo**

A proporção das dietas experimentais foi de 40:60 de volumoso:concentrado na forma de mistura completa sendo formuladas para atender as exigências de ganho de peso conforme o NRC (2007), visando ganho de peso médio diário (GMD) de 200 g/dia. Os ingredientes utilizados no concentrado foram milho moído, farelo de soja, mistura mineral e níveis crescentes de LCC (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg) com base na matéria seca total da dieta.

O volumoso usado foi o feno de Tifton-85 (*Cynodon sp*) picado em partícula de três cm (Tabela 1). A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, às 8h00 e às 15h00, de forma a garantir 100 g/kg de sobras com fornecimento de água à vontade. Os alimentos e as sobras foram semanalmente amostrados e congelados a -20°C para posteriores análises.

O LCC utilizado foi do tipo “técnico”, obtido pelo processo térmico-mecânico, submetido a temperatura de 180 °C sob agitação, sendo constituído por 84,4% de cardanol e 15,6% de cardol, este foi fornecido pela Empresa Amêndoas do Brasil LTDA, Fortaleza, Ceará, Brasil.

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Item	Inclusão do LCC <sup>1,3</sup> (g/kg MS)			
	0	7,50	15,0	22,5
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>				
Feno de Tifton-85	400	400	400	400
Farelo de soja	174	174	174	174
Milho moído	411	403	396	388
Líquido da casca da castanha do caju	0	7,50	15,0	22,5
Mistura mineral <sup>2</sup>	15,0	15,0	15,0	15,0
<i>Composição química (g/kg MS)</i>				
Matéria seca (g/kg como fornecido)	877	878	879	880
Cinzas	56,7	56,6	56,5	56,4
Proteína bruta	133	133	132	131
Extrato etéreo	19,2	26,4	33,6	40,9
Fibra em detergente neutro	373	372	371	370
Fibra em detergente ácido	165	165	165	165
Carboidratos não-fibrosos	418	412	407	401
Nutrientes digestíveis totais	693	701	709	716

<sup>1</sup> LCC – Líquido da casca da castanha de caju. <sup>2</sup> Composição da mistura mineral para cada kg (220 g Ca; 163 g P; 12 g S; 12,5 g Mg; 2 mg Zn; 3500 mg Cu; 3640 mg Mn; 310 mg Co; 1960 mg Fe; 280 mg I; 9000 mg Zn; 1630 mg Fl; 32 mg Se); <sup>3</sup>Concentração de Fenóis totais - 3,93 g/eq., Taninos totais - 3,55 g/eq. e Taninos condensados - 0,010 g/eq. presente no LCC.

### 2.2.2. Comportamento ingestivo

Para avaliação do comportamento ingestivo, os animais foram submetidos a períodos de observação visual no 35º dia e ao 56º dia do período experimental. As observações foram registradas em intervalos de 10 minutos durante 24 horas, para determinar o gasto de tempo comendo, ruminando e ócio pelo método de varredura instantânea “scan sampling”, proposto por Johnson e Combs (1991). A coleta de dados do tempo que os animais gastaram para comer, ruminar ou ócio foram realizadas por observadores devidamente treinados em turnos alternados, localizados em pontos estratégicos não ocorrer mudanças no comportamento dos animais. Nas observações noturnas foi utilizada iluminação artificial.

Para estimar número médio de bolos ruminados por dia, o número de mastigação por bolo e o tempo de mastigação por cada bolo foram feitas avaliações em três períodos diferentes, distribuídos nos horários 10 às 12 horas; 14 às 16 horas e 18 às 20 horas, por 24 horas durante o período de avaliação do comportamento ingestivo, utilizando-se cronômetros digitais, de acordo com metodologia descrita por Burger et al. (2000). Para a estimativa do tempo gasto com alimentação e ruminação, eficiência alimentar e eficiência da ruminação foi considerada a ingestão voluntária de MS e FDN. O tempo gasto com alimentação e ruminação, eficiência de alimentação (EAL), eficiência de ruminação (ERU) e o tempo total de mastigação (TMT) foram determinados pelas equações:

$$\text{NBR (n/dia)} = \text{TRU} / \text{NM}$$

$$\text{EALMS (g MS/h)} = \text{CMS} / \text{TAL}$$

$$\text{EALFDN (g MS/h)} = \text{CFDN} / \text{TAL}$$

$$\text{ERUMS (g MS/h)} = \text{CMS} / \text{TRU}$$

$$\text{ERUFDN (g FDN/h)} = \text{CFDN} / \text{TRU}$$

$$\text{TMT (min./dia)} = \text{TAL} + \text{TRU}$$

Em que: NBR = número de bolos ruminados por dia; TRU = tempo de ruminação (min./dia); NM = número de mastigação por dia; EALMS = eficiência do consumo de MS (g MS ingerida/h); EALFDN = eficiência do consumo de FDN (g FDN ingerida/h); CMS = ingestão diária de MS (g/dia); CFDN = ingestão diária de FDN (g/dia); TAL= tempo gasto alimentando (min./dia); ERUMS = eficiência de ruminação da MS (g MS ruminada/h); ERUFDN = eficiência de ruminação da FDN (g FDN ruminado/h); TMT = tempo total de mastigação (min / dia).

### 2.2.3. Metabólitos séricos

Para avaliação dos metabólitos séricos foram coletados 5,0 mL de sangue dos ovinos de cada tratamento por venopunção jugular e acondicionado em frascos sem anticoagulante, em seguida as amostras foram centrifugadas (Centrifuge model 90-1, Coleman Equipamentos para Laboratório Comp. E Imp. Ltda, Brasil) a 3000 rpm/15 min, para a obtenção do soro, sendo analisadas as concentrações de colesterol, triglicérides, glicose, proteínas totais, aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), ureia e creatinina através de kits comerciais Labtest e espectrofotômico (PerkinElmer-UV/Vis Espectrofotômetro EZ150 Lambda, São Paulo, Brasil).

### 2.2.4. Consumo, desempenho, abate e avaliação da carcaça

O consumo dos nutrientes foi medido diariamente através da diferença entre o total de cada nutriente ofertado na dieta e o total de cada nutriente contido nas sobras. Após jejum de sólidos de 12 horas os animais foram pesados no primeiro dia de experimento (PC inicial), a cada 20 dias e ao final do período experimental para estimar o ganho de peso médio diário (GMD), utilizando uma balança eletrônica (Welmy, W 300, Patos, Paraíba, Brasil). Antes do abate os animais foram submetidos a jejum de sólidos por 12 horas e pesados para determinação do peso corporal ao abate (PCA), posteriormente, os animais foram insensibilizados (percussão mecânica), realizada a sangria, esfolagem e evisceração conforme o que preconiza as diretrizes do Serviço de Inspeção Federal (SIF), de abate humanitário segundo Instrução Normativa nº 3 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000a).

As carcaças permaneceram em câmara fria (4°C) por 24 horas, sendo mensurado nos tempos 0 e 24 horas após abate o pH por meio de potenciômetro digital com extremidade do tipo espeto (DIGIMED, model pH 300M, São Paulo, Brasil), no músculo *Semimembranosus*. Ao final das 24 horas as carcaças foram pesadas para determinação do peso de carcaça fria (PCF). Foram calculadas as perdas por resfriamento (PR), em que  $PR (g/kg) = [(PCQ - PCF) / PCQ] \times 100$ , o rendimento de carcaça quente, em que  $RCQ (g/kg) = [(PCQ / PCA) \times 100]$  e o rendimento da carcaça fria (RCF), em que  $RCF (g/kg) = [(PCF / PCA) \times 100]$  (OSÓRIO e OSÓRIO, 2005).

Na meia-carcaça esquerda, foi efetuado um corte transversal, na secção entre a 12ª e 13ª costelas, onde foi determinada, por meio de um paquímetro digital, a espessura de gordura de cobertura sobre o músculo *Longissimus*. Nessa mesma região, foi feita a avaliação da área de olho

de lombo (AOL), sendo traçado seu contorno em folha transparente e posteriormente, medida com auxílio de um paquímetro digital. Foram tomadas as medidas: largura (A; distância máxima no corte transversal do músculo, no sentido centro-lateral da coluna vertebral), profundidade (B; é a distância máxima da profundidade do músculo no sentido dorso-ventral do animal, perpendicular a medida A). A determinação da área do músculo foi através do cálculo: AOL (cm<sup>2</sup>) = [(medida A/2 × medida B/2) × π], onde a “A” é largura do músculo *Longissimus*; a “B” é a profundidade do músculo e “π” é 3,1416.

Após o período de refrigeração, a meia carcaça esquerda foi seccionada em seis regiões anatômicas (CEZAR e SOUZA, 2007), originando os cortes cárneos comerciais: pescoço, paleta, perna, lombo, costela e serrote. Foram registrados os pesos individuais de cada corte e calculada a proporção de cada corte oriundo da meia-carcaça esquerda em relação ao peso reconstituído da mesma para obtenção do rendimento dos cortes comerciais. O trato gastrintestinal (rúmen-retículo, omaso, abomaso, intestinos delgado e grosso), a bexiga e a vesícula biliar foram esvaziadas e lavadas para obtenção do peso corporal vazio (PCV), estimado subtraindo-se do PCA os pesos referentes ao conteúdo gastrintestinal, à bexiga e à vesícula biliar, visando determinar o rendimento biológico ou verdadeiro [RB, g/kg = (PCQ/PCV) × 100].

As características morfométricas da carcaça foram avaliadas de acordo com metodologia descrita por Cézár e Souza (2007), e as medidas incluíram: comprimento externo da carcaça (CEC; distância entre a articulação cervicotorácica e a 1ª articulação intercoccígea); largura de tórax (LT; largura máxima do tórax); largura da garupa (LG; largura máxima entre os trocânteres dos fêmures); perímetro da garupa (PG; perímetro na região da garupa, com base nos trocânteres dos fêmures) e o perímetro da perna (PP; contorno na altura mediana da perna) nas carcaças. Na meia-carcaça esquerda mensurou-se: comprimento interno da carcaça (CIC; distância entre o bordo anterior do osso púbis e o bordo anterior da primeira costela em seu ponto médio; comprimento da perna (CP; distância entre o períneo e o bordo interior da superfície articular tarso-metarsiana, pela face interna da perna); profundidade do tórax (PT; distância entre o esterno e a cernelha); largura do tórax (LT; largura máxima do tórax).

Todas as medidas de comprimento e perímetro foram tomadas utilizando-se fita métrica, e as medidas de largura e profundidade, com auxílio de compasso, cuja abertura registrada foi mensurada com régua. O índice de compacidade da carcaça (ICC) foi obtido pela fórmula: ICC, kg/cm = (PCF/CIC) e o índice de compacidade da perna foi ICP, cm/cm = LG/CP.

Os componentes não-carcaça: língua, pulmões, traqueia, coração, fígado, pâncreas, rins, baço, diafragma, trato gastrointestinal (TGI), sangue, pele, cabeça, patas e depósitos de gordura (omental, mesentérica, renal), foram separados conforme esquema proposto por Silva Sobrinho (2001). A Buchada foi obtida pelo somatório do sangue, fígado, rins, pulmões, baço, língua, coração, omento, rúmen, retículo, omaso e intestino delgado (MEDEIROS *et al.*, 2008). Para panelada obtida pelo somatório dos constituintes da buchada acrescidos da cabeça e das patas (CLEMENTINO *et al.*, 2007).

## **2.3. Experimento 2:**

### **2.3.1. Dietas experimentais e manejo**

As dietas e o manejo experimental foram os mesmos adotados no experimento 1. Os animais receberam as dietas na forma de mistura completa, sendo formuladas de acordo com as exigências de manutenção, preconizadas pelo NRC (2007) para um consumo calculado de 2,94% do PC. As dietas ofertadas foram ajustadas de acordo com as sobras diárias, evitando-se sobras superiores a 100 g/kg do total ofertado, para garantir o consumo voluntário máximo pelos ovinos e evitar desperdícios. Diariamente as sobras foram pesadas, em balança eletrônica com precisão de cinco gramas, para obtenção do consumo de matéria seca (CMS) por animal. As sobras foram amostradas e armazenadas a -20 °C para posteriores análises químicas.

### **2.3.2. Digestibilidade, Metabolismo de Nitrogênio e Parâmetros Ruminas**

Para a determinação da digestibilidade dos nutrientes foi utilizado o método da coleta total de fezes. Durante cada subperíodo a produção fecal total dos animais foi quantificada por meio de pesagem e uma amostra representativa de 10% da produção fecal foi amostrada e armazenada a -20°C para posteriores análises químicas.

A Coleta total de urina foi realizada diariamente durante cada subperíodo por meio de coletores das gaiolas em recipientes contendo 100 mL de solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 10%. Esse volume de ácido foi utilizado a fim de manter o pH da urina abaixo de 3,0. Foi mensurada a produção total de urina e uma alíquota foi coletada e armazenada a -20°C para análise dos teores de nitrogênio total. Depois de descongeladas, as amostras de ofertadas, sobras e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas. Em seguida todas as amostras

foram moídas em moinho tipo Willey (Marconi, Piracicaba, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm.

A digestibilidade (DIG) da MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foram calculados como:  $DIG = [(kg \text{ da porção ingerida} - kg \text{ da porção excretada}) / (kg \text{ da porção ingerida})] \times 100$ .

A concentração de Nitrogênio (N) nas amostras das fezes, urina e alimentos foi determinada de acordo com AOAC (2012) método 981.10. O balanço de N (N retido g/dia) foi obtido usando o balanço de N (g/dia) = [N consumido – (N excretado nas fezes + N excretado na urina)].

Ao final do ensaio de digestibilidade foi realizada a coleta de 60 mL do conteúdo ruminal de cada animal, três horas após do fornecimento da alimentação, através da cânula rumial, com o auxílio de sonda e pinça. Foi retirada duas alíquotas de 20 mL para a determinação das concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e N-NH<sub>3</sub>, sendo medido o pH com o auxílio de um potenciômetro digital (PG 2000 – Gehaka, São Paulo, Brasil) e armazenadas a -20°C.

As concentrações de AGCC foram determinadas utilizando cromatografia gasosa seguindo a metodologia descrita por Palmquist e Conrad (1971), adaptado por Lima et al. (2018). A concentração de N-NH<sub>3</sub> foi determinada pelo método de micro-Kjeldahl com solução de tetraborato de sódio (5%) conforme Preston (1995).

### **2.3.3. Metano entérico**

A emissão de metano entérico foi mensurada conforme protocolo descrito por Abdalla *et al.* (2012), utilizando câmaras semiabertas para troca de gases constituída por comedouro, bebedouro e caixa coletora para fezes e urina, estruturada em armação de metálica (160 × 72 × 156 cm, volume de 2,05 m<sup>3</sup>) conectada a uma bomba de exaustão com taxa de fluxo do ar interior (192 ± 3,8 L min<sup>-1</sup>) medido com o auxílio de um anemômetro (AD-250 Digital - Instrutherm, São Paulo, Brasil).

A temperatura média durante as amostragens foi de 21,2 ± 1,3 °C e 74 ± 5,1% de umidade média, ambas observadas no interior das câmaras com o auxílio de termômetros digitais por um período de 22 horas por ciclo de coleta, sob altitude e pressão atmosférica local de 546 m e 94,00 atm, respectivamente.

Os gases produzidos foram amostrados em balões metalizados de sete litros através de uma bomba peristáltica. Ao final de cada coleta, 10 mL dos gases presentes no balão foram amostrados em recipientes de vidro e reservados até a análise da concentração de metano (CH<sub>4</sub>) entérico por cromatografia gasosa (GC – 2010. Shimadzu, Tóquio, Japão), com coluna micro empacotada (Shincarbon ST 100/120), a temperatura da coluna mantida à 60°C, temperatura do injetor a 200 °C e temperatura do detector à 240°C. O gás de arraste utilizado foi o gás hélio com fluxo de 10 mL min<sup>-1</sup>. O CH<sub>4</sub> foi calculado após curva de calibração nas concentrações de 0, 30, 90, 120 mL.L<sup>-1</sup> de gás CH<sub>4</sub> com 99,5% de pureza (White Martins Indústria de Gases, Osasco – SP, Brasil).

#### 2.4. Análises químicas e cálculos

Ao final dos experimentos, amostras das dietas, sobras e fezes foram descongeladas e, em seguida, pré-secas a 55 °C por 72 h, moídas em moinho tipo Willey (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de 1,0 mm, acondicionadas em recipientes plásticos fechados, para posterior análises químicas. Foram determinados os teores de matéria seca (MS; 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.29) de acordo com o AOAC (2012). Para a determinação de fibra em detergente neutro (FDN) foi usado Ankom Fiber Analyzer e sacos de fibra (#F57 com diâmetro de 50 × 40 mm; porosidade de 25 × 10 mm; ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA), segundo Van Soest *et al.* (1991). Os teores foram expressos em termos de cinzas residuais excluídas como descrito por Van Soest *et al.* (1991) e adaptado por Mertens (2002).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais foram determinados de acordo com Sniffen *et al.* (1992):  $CNF = 100 - (PB + EE + FDN + cinzas)$ . Os nutrientes digestíveis totais (NDT) dos alimentos foram calculados a partir da equação:  $NDT = PBD + CNFD + FDND + 2,25 \times EED$  (NRC, 2001), onde PBD = proteína bruta digestível, CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis e EED = extrato etéreo digestível.

#### 2.5. Análises estatísticas

##### Experimento 1:

Os dados foram analisados em delineamento em blocos completos ao acaso com quatro tratamentos e dez repetições, utilizando modelos mistos. O critério para a formação dos blocos foi

o peso corporal inicial. Os dados foram testados quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett; a normalidade dos erros, pelo teste de Shapiro-Wilk, pré-requisitos necessários para a análise de variância. Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (2002) (SAS Inst. Inc., Cary, NC), sendo considerados os efeitos de tratamento como fixos e os efeitos de bloco e o erro experimental como aleatórios. Conforme modelo descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_j + \beta_k + \varepsilon_{ijk}, \text{ onde:}$$

$Y_{ijk}$  = valor observado na unidade experimental  $i$  que recebeu o tratamento  $j$ , repetição  $k$ ;

$\mu$  = média geral comum a todas as observações;

$\tau_j$  = efeito fixo do tratamento  $j$ ;

$\beta_k$  = efeito aleatório de bloco  $k$ ;

$\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Os efeitos de tratamento sobre as variáveis analisadas foram avaliados usando contrastes ortogonais para determinar os efeitos linear e quadrático. Os contrastes foram significativos quando  $P < 0,05$ . Os resíduos foram plotados contra os valores preditos e foram usados para verificar os pressupostos do modelo de homoscedasticidade, independência e normalidade dos erros. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS.

## **Experimento 2:**

Todos os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.0), incluindo no modelo o nível de inclusão de LCC, período e a interação entre o nível de LCC e o período como efeitos fixos. O animal aninhado dentro do tratamento foi considerado como efeito aleatório. A interação entre o nível de LCC e o período foi inicialmente incluída no modelo e removida devido o valor de  $P > 0,05$  para todas as variáveis.

Os efeitos de tratamento sobre as variáveis analisadas foram avaliados usando contrastes ortogonais para determinar os efeitos linear e quadrático. Os contrastes foram significativos quando  $P < 0,05$ . Os resíduos foram plotados contra os valores preditos e foram usados para verificar os pressupostos do modelo de homoscedasticidade, independência e normalidade dos erros. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS.

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_j + P_k + A_i(T_j) + e_{ijkl}, \text{ onde:}$$

$Y_{ijk}$  = valor observado para cada variável analisada;

$\mu$  = média geral;

$T_j$  = efeito fixo de tratamento ( $j = 0; 7,50; 15,0$  e  $22,5$  g/kg de MS).

$P_k$  = efeito fixo de período de coleta ( $k = 1$  a  $4$ );

$A_i$  = efeito aleatório de animal aninhado em nível de LCC;

$e_{ijkl}$  = erro aleatório associado a cada observação.

### 3. Resultados

A inclusão LCC, em substituição parcial ao milho em dietas para ovinos, aumentou linearmente ( $P < 0,0001$ ) o consumo de EE, no entanto, não influenciou ( $P > 0,05$ ) o consumo de MS, MO, cinzas, PB, FDN, FDA e CNF. O consumo médio de MS foi de 1208 g/dia, 3,43% do PC e 83,3 g/kg<sup>0,75</sup>; o consumo médio de FDN foi de 400 g/dia, 1,13% do PC e 27,4 g/kg<sup>0,75</sup>; o consumo médio de cinzas, MO, PB, FDA e CNF foi de 62 g/dia, 1151 g/dia, 161 g/dia, 278 g/dia e 535 g/dia, respectivamente (Tabela 2).

A inclusão do LCC na dieta proporcionou aumento linear na digestibilidade da PB ( $P = 0,01$ ), redução linear na digestibilidade do EE ( $P < 0,001$ ) e redução quadrática na digestibilidade da FDN ( $P = 0,002$ , Tabela 7). Por outro lado, a digestibilidade da MS e da MO não foi influenciada ( $P > 0,05$ ). Houve redução no consumo de Nitrogênio (N) ( $P = 0,007$ ) e na excreção de N pelas fezes ( $P < 0,001$ ), porém, a excreção de N pela urina não foi afetada ( $P > 0,05$ ). O balanço de N não foi afetado pelo nível de LCC ( $P > 0,05$ ), sendo positivo e com valor médio de 14,4 g/dia (Tabela 2).

Não foi observado efeito da inclusão dos níveis de LCC sobre o CMS ( $P = 0,17$ ) e CMO ( $P = 0,20$ ) durante o ensaio de digestibilidade. Entretanto, a produção de CH<sub>4</sub> entérico por kg de MS consumida ( $P = 0,01$ ) pelos ovinos reduziu linearmente, assim como a produção de CH<sub>4</sub> por kg de CMO ( $P = 0,002$ ). A inclusão de LCC reduziu linearmente a emissão de CH<sub>4</sub> entérico ( $P = 0,01$ ), sendo observado menor produção de CH<sub>4</sub> entérico por kg de ganho de peso médio diário ( $P = 0,005$ ) pelos ovinos (Tabela 2).

**Tabela 2** – Consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço de nitrogênio e produção de metano entérico em ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,50	15,0	22,5		L	Q
<i>Consumo (g/dia)</i>							
Matéria seca	1171	1259	1188	1241	38,1	0,65	0,79
Matéria orgânica	1109	1193	1126	1179	36,0	0,63	0,81
Cinzas	61,0	67,1	59,1	61,0	2,13	0,66	0,58
Proteína bruta	155	172	159	161	5,16	0,94	0,44
Fibra em detergente neutro	372	413	393	428	15,7	0,24	0,91
Fibra em detergente ácido	270	276	273	293	8,22	0,32	0,62
Carboidratos não fibrosos	559	545	509	530	12,9	0,30	0,49
Extrato etéreo (g)	22,0	31,5	39,7	50,1	1,95	<0001	0,76
<i>Consumo (%PC/dia)</i>							
Matéria seca	3,33	3,43	3,45	3,53	0,03	0,28	0,94
Fibra em detergente neutro	1,05	1,12	1,13	1,21	0,03	0,06	0,94
<i>Consumo (g/kg<sup>0,75</sup>)</i>							
Matéria seca	80,8	83,9	83,0	85,6	1,60	0,37	0,93
Fibra em detergente neutro	25,6	27,4	27,4	29,3	0,03	0,10	0,98
<i>Digestibilidade (g/kg)</i>							
Matéria seca	726	691	722	712	5,42	0,83	0,24
Matéria orgânica	746	710	739	731	5,18	0,71	0,17
Proteína bruta	727	678	761	742	6,56	0,01	0,16
Extrato etéreo	806	697	633	565	12,2	<0001	0,10
Fibra em detergente neutro	571	440	519	531	12,9	0,69	0,002
<i>Balanço de Nitrogênio (g/d)</i>							
Consumo N	37,9	36,3	37,9	32,1	0,82	0,007	0,08
N excretado na Urina	13,1	13,4	11,6	13,9	0,48	0,88	0,24
N excretado nas Fezes	10,2	11,8	8,85	8,10	0,29	<0001	0,008
Balanço de N	14,6	11,1	17,4	10,1	0,81	0,61	0,56
<i>Metano Entérico</i>							
CH <sub>4</sub> (L/d)	15,23	14,07	11,65	6,71	1,16	0,01	0,33
CH <sub>4</sub> (L/GPMD)	0,23	0,21	0,16	0,10	0,02	0,005	0,50
CH <sub>4</sub> (L/kg CMS)	9,13	8,07	7,29	4,32	0,68	0,01	0,37
CH <sub>4</sub> (L/kg CMO)	13,01	12,27	10,22	4,42	1,06	0,002	0,13

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; PC – Peso corporal; CMS – Consumo de Matéria Seca; CMO – Consumo de Matéria Orgânica; GPMD – Ganho de Peso Médio Diário; N – Nitrogênio; CH<sub>4</sub> – Metano; EPM - Erro Padrão da média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

A inclusão do LCC na dieta dos ovinos não afetou a concentração dos AGCC ( $P > 0,05$ ), exceto para o propionato que aumentou de forma quadrática ( $P = 0,01$ ). A relação entre acetato e

propionato também não foi alterada ( $P > 0,05$ ). O pH ruminal não foi influenciado pelos níveis de inclusão de LCC ( $P > 0,05$ ), por outro lado, a concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal aumentou de forma quadrática com o aumento do LCC nas dietas ( $P = 0,008$ ; Tabela 3).

**Tabela 3** – Parâmetros fermentativos ruminais em ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca de castanha de caju (LCC).

Item	Nível de inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,5	15	22,5		L	Q
AGCC Total (mM)	108	115	124	105	4,01	0,97	0,19
Acetato (mol/100mol)	61,9	65,7	64,5	62,7	2,03	0,94	0,55
Butirato (mol/100mol)	14,6	14,0	13,2	14,3	1,05	0,89	0,76
Propionato (mol/100mol)	11,0	23,9	22,4	18,3	1,39	0,10	0,01
Valerato (mol/100mol)	1,44	1,32	1,68	1,15	0,12	0,58	0,30
Isobutirato (mol/100mol)	0,60	0,32	0,45	0,37	0,06	0,34	0,41
Isovalerato (mol/100mol)	2,03	2,14	2,19	2,10	0,10	0,85	0,71
2-Etil-butírico (mol/100mol)	14,2	13,8	14,2	14,2	0,10	0,77	0,32
C2:C3	4,05	2,75	3,48	3,18	0,20	0,36	0,25
pH	5,95	6,02	5,85	6,1	0,06	0,30	0,25
N-NH <sub>3</sub> (mg/100 mL)	40,3	44,3	42,1	33,3	1,52	0,02	0,008

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; AGCC - Ácido graxo de cadeia curta; C2:C3 – Relação entre acetato e propionato; EPM - Erro Padrão da média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

O tempo gasto com alimentação ( $P = 0,003$ ) e ruminação ( $P = 0,003$ ) aumentou linearmente, enquanto o tempo em ócio reduziu linearmente ( $P = 0,001$ ) com a inclusão do LCC na dieta. O número de bolos/dia ( $P = 0,04$ ) e o tempo total de mastigação (h/dia) reduziram de forma quadrática ( $P = 0,004$ ) enquanto a quantidade de MS/bolo aumentou quadraticamente ( $P = 0,02$ ). A eficiência do consumo de MS ( $P = 0,03$ ) e da FDN ( $P = 0,03$ ), durante a avaliação do comportamento ingestivo, reduziu linearmente, enquanto a eficiência de ruminação da MS ( $P = 0,03$ ) e da FDN ( $P = 0,04$ ) aumentou quadraticamente (Tabela 4).

**Tabela 4** - Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca de castanha de caju (LCC).

Item	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,50	15,0	22,5		L	Q

<i>Tempo gasto (horas/dia)</i>							
Alimentação	3,18	3,01	3,45	4,51	0,17	0,003	0,05
Ruminação	7,32	6,12	7,41	8,52	0,21	0,003	0,002
Ócio	13,5	15,0	13,1	11,2	0,33	0,001	0,004
<i>Mastigação</i>							
Número de bolos/dia	621	496	612	658	21,3	0,21	0,04
Número/bolo	64,0	62,0	67,5	68,7	1,78	0,24	0,66
Segundos/bolo	44,3	44,7	44,8	47,8	1,08	0,27	0,58
g MS/bolo	1,99	2,67	2,09	1,97	0,10	0,41	0,02
Total (horas/dia)	10,6	9,10	11,0	13,1	0,35	0,001	0,004
<i>Eficiência (g/h)</i>							
Consumo de MS	0,39	0,43	0,36	0,29	0,02	0,03	0,09
Consumo de FDN	0,12	0,14	0,11	0,10	0,01	0,03	0,26
Ruminação da MS	0,16	0,21	0,15	0,14	0,01	0,05	0,03
Ruminação da FDN	0,05	0,07	0,05	0,05	0,03	0,40	0,04

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; EPM – Erro Padrão da Média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático; MS – Matéria Seca; FDN – Fibra em Detergente Neutro.

A inclusão do LCC promoveu redução na concentração sérica de colesterol ( $P = 0,002$ ), aumento na creatinina ( $P = 0,02$ ) e na atividade da fosfatase alcalina ( $P = 0,02$ ; Tabela 5). Por outro lado, houve redução quadrática nos triglicerídeos ( $P = 0,04$ ) e na atividade da aspartato aminotransferase ( $P = 0,005$ ) e aumento quadrático na concentração de ureia ( $P = 0,05$ ). As concentrações de glicose, proteínas totais e atividade da gama glutamiltransferase não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ; Tabela 5).

**Tabela 5** – Metabólitos séricos em ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	<i>P</i> -valor	
	0	7,5	15,0	22,5		L	Q
<i>Metabólitos Séricos</i>							
Glicose (mg/dL)	52,4	41,20	42,7	40,5	2,18	0,08	0,29
TGL (mg/dL)	16,7	15,4	12,1	16,8	0,75	0,66	0,04
Colesterol (mg/dL)	48,4	43,3	38,9	33,5	1,76	0,002	0,94
Proteína Total (g/dL)	4,19	4,39	4,34	4,42	0,07	0,32	0,68
AST (U/L)	68,9	56,9	56,7	77,8	3,04	0,29	0,005
FA (U/L)	251	208	293	321	14,8	0,02	0,21
GGT (U/L)	40,5	41,8	41,9	44,3	1,38	0,36	0,84
Ureia (g/dL)	41,9	47,8	50,0	44,3	1,50	0,49	0,05
Creatinina (mg/dL)	0,39	0,48	0,48	0,52	0,02	0,02	0,52

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; EPM – Erro Padrão da Média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático; TGL – Triglicerídeos; AST - Aspartato Aminotransferase; FA - Fosfatase Alcalina; GGT - Gama Glutamiltransferase.

Os animais apresentaram desempenho semelhante ( $P > 0,05$ ) com PC final médio de 44,3 kg, ganho de peso total médio de 17,4 kg, GMD de 250 g/dia e conversão alimentar média de 5,09. O conteúdo do TGI reduziu de forma quadrática ( $P = 0,02$ ). O peso da carcaça quente ( $P = 0,03$ ), peso da carcaça fria ( $P = 0,04$ ), o RCQ ( $P = 0,003$ ), RCF ( $P = 0,004$ ) e o RV ( $P = 0,03$ ) reduziram linearmente com a inclusão do LCC nas dietas. Não foi verificada alteração ( $P > 0,05$ ) para as perdas por resfriamento bem como para o pH mensurado a 0 e 24 horas após o abate. Em relação às medidas morfométricas da carcaça, a inclusão do LCC não promoveu nenhuma influência ( $P > 0,05$ ), com exceção da área de olho de lombo a qual reduziu quadraticamente ( $P = 0,02$ ; Tabela 6).

**Tabela 6** – Desempenho, características e medidas morfométricas da carcaça de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item	Nível de inclusão (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,5	15	22,5		L	Q
<i>Desempenho (kg)</i>							
Peso corporal inicial	27,0	27,9	26,0	26,7	0,01	0,38	0,87
Peso corporal final	44,1	45,4	43,2	44,5	1,21	0,91	0,99
Ganho de peso total	17,1	17,6	17,3	18,0	0,78	0,77	0,94
Ganho de peso diário (g/dia)	0,24	0,25	0,24	0,25	0,01	0,76	0,94
Conversão alimentar (g CMS/g GPD)	5,00	5,32	5,01	5,01	0,17	0,85	0,64
<i>Características da carcaça</i>							
Conteúdo do TGI (kg)	5,54	5,30	4,88	6,49	0,21	0,16	0,02
Peso ao abate (kg)	44,1	45,4	43,2	44,5	1,21	0,91	0,99
Peso de corpo vazio (kg)	38,5	40,1	39,0	38,0	1,12	0,64	0,55
Peso da carcaça quente (kg)	22,6	22,3	20,5	20,7	0,60	0,04	0,70
Peso da carcaça fria (kg)	22,1	21,7	20,0	20,2	0,59	0,04	0,69
Rendimento da carcaça quente (g/kg)	496	492	474	463	4,37	0,003	0,66
Rendimento da carcaça fria (g/kg)	484	480	463	451	4,39	0,004	0,68
Rendimento verdadeiro (g/kg)	568	558	536	545	4,83	0,03	0,30
Perdas por resfriamento (g/kg)	24,4	25,9	23,8	25,3	0,66	0,89	1,00
pH 0h	5,84	5,83	5,98	6,03	0,06	0,18	0,78
pH 24 h	5,35	5,31	5,33	5,41	0,04	0,60	0,52
<i>Medidas morfométricas da carcaça</i>							
Comprimento externo (cm)	54,7	54,7	53,3	53,3	0,46	0,54	0,09
Comprimento interno (cm)	54,4	55,1	53,0	53,9	0,46	0,32	0,92

Largura do tórax (cm)	22,5	23,2	22,4	23,2	0,36	0,62	0,90
Profundidade do tórax (cm)	27,9	27,8	27,5	28,5	0,25	0,52	0,22
Perímetro do tórax (cm)	71,7	73,2	71,0	70,7	0,74	0,29	0,38
Perímetro da garupa (cm)	65,8	67,2	64,9	65,5	0,62	0,47	0,64
Largura da garupa (cm)	23,5	23,5	23,0	23,7	0,33	1,00	0,62
Comprimento da perna (cm)	38,2	39,4	38,5	38,1	0,30	0,71	0,20
Perímetro da perna (cm)	43,5	42,1	42,1	43,4	0,68	0,88	0,37
Compacidade da carcaça (kg/cm)	0,39	0,39	0,37	0,37	0,01	0,19	0,90
Compacidade da perna (cm/cm)	0,61	0,60	0,59	0,62	0,01	0,87	0,29
EGS (mm)	2,65	2,91	3,24	3,18	3,18	0,24	0,66
Área de olho de lombo (cm <sup>2</sup> )	15,8	13,2	14,5	15,6	0,45	0,85	0,02

EPM - Erro Padrão da média; LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático; TGI – Trato Castro intestinal; EGS – Espessura de Gordura Subcutânea.

O peso e o rendimento dos principais cortes da carcaça não foram influenciados pela inclusão do LCC nas dietas ( $P > 0,05$ ), exceto para o peso do serrote que aumentou linearmente ( $P = 0,04$ ). Para os demais cortes foram verificados rendimentos médios de 151, 120, 175, 130, 118 e 309 g/kg de meia carcaça, para a paleta, pescoço, costela, serrote, lombo e perna, respectivamente (Tabela 7).

**Tabela 7** - Peso e rendimentos proporcionais dos cortes da carcaça de ovinos alimentados com dieta contendo LCC.

Item	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,50	15,0	22,5		L	Q
<i>Cortes comerciais (kg)</i>							
Perna	3,23	3,14	3,03	3,00	0,10	0,20	0,86
Lombo	1,20	1,26	1,14	1,15	0,04	0,28	0,66
Paleta	1,56	1,62	1,45	1,50	0,04	0,24	0,94
Pescoço	1,30	1,20	1,16	1,18	0,04	0,17	0,36
Costelas	1,77	1,89	1,72	1,71	0,07	0,39	0,43
Serrote	1,38	1,40	1,21	1,25	0,04	0,04	0,82
<i>Rendimento dos cortes comerciais (g/kg da meia carcaça)</i>							
Perna	310	304	312	308	2,80	0,95	0,94
Lombo	115	119	118	117	1,70	0,85	0,37
Paleta	151	154	150	154	1,95	0,75	0,86
Pescoço	123	117	119	120	2,04	0,65	0,33
Costelas	168	181	175	174	2,43	0,62	0,14
Serrote	132	134	126	128	2,12	0,29	0,95

EPM - Erro Padrão da média; LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

O peso dos principais componentes não-carcaça não foi influenciado pela inclusão do LCC nas dietas ( $P > 0,05$ ), exceto o peso dos rins que aumentou ( $P = 0,04$ ) linearmente (Tabela 8).

**Tabela 8** – Componentes não-carcaça de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item (kg)	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,50	15,0	22,5		L	Q
Pele	3,90	4,09	3,33	3,63	0,18	0,37	0,88
Sangue	1,16	1,25	1,06	1,14	0,05	0,60	0,93
Cabeça	1,56	1,51	1,37	1,53	0,06	0,66	0,40
Patas	0,90	0,87	0,84	0,86	0,03	0,54	0,65
Fígado	0,67	0,68	0,69	0,77	0,03	0,18	0,53
Coração	0,14	0,14	0,13	0,15	0,01	0,43	0,20
Rins	0,10	0,11	0,11	0,12	0,00	0,04	0,63
Baço	0,06	0,07	0,05	0,06	0,00	0,23	0,63
Diafragma	0,17	0,15	0,15	0,16	0,01	0,66	0,53
Traqueia	0,10	0,10	0,09	0,10	0,00	0,54	0,38
Pulmões	0,30	0,27	0,26	0,27	0,01	0,25	0,35
Pâncreas	0,04	0,04	0,04	0,05	0,00	0,09	0,62
Gordura total	2,04	1,98	1,80	1,78	0,09	0,17	0,88
Gordura do mesentério	0,44	0,43	0,38	0,34	0,02	0,09	0,66
Gordura do omento	1,08	1,02	0,88	0,95	0,05	0,19	0,45
Gordura renal	0,53	0,54	0,53	0,49	0,03	0,64	0,66
Buchada <sup>1</sup>	4,92	4,93	4,62	4,95	0,13	0,82	0,48
Panelada <sup>2</sup>	7,38	7,32	6,82	7,34	0,20	0,85	0,51
Rendimento da buchada (g/kg)	112	117	109	113	2,33	0,91	0,59
Rendimento da Panelada (g/kg)	166	165	160	168	3,67	0,97	0,60

EPM - Erro Padrão da média; LCC – Líquido da castanha de Caju; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático. Buchada<sup>1</sup> - Somatório do sangue, fígado, rins, pulmões, baço, língua, coração, omento, rúmen, retículo, omaso e intestino delgado; Panelada<sup>2</sup> - Somatório dos constituintes da buchada acrescidos da cabeça e das patas.

#### 4. Discussão

A inclusão do LCC nas dietas até o nível de 22,5 g/kg de MS não promoveu efeito negativo sobre o consumo voluntário de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO) e dos principais nutrientes (FDN, FDA, MM), permitindo o atendimento adequado das exigências nutricionais dos ovinos (NRC, 2007). Essa resposta pode ser explicada pela semelhança existente nas proporções de CNF e FDN na elaboração das dietas experimentais com e sem adição de LCC (Tabela 1). O

contrário foi observado na ingestão de EE, estando a elevação no consumo deste nutriente associada ao aumento de suas concentrações nas dietas com inclusão de LCC. Todas as dietas experimentais apresentaram concentrações semelhantes de nutrientes, exceto para as concentrações de EE (Tabela 1).

Houve redução quadrática no coeficiente de digestibilidade da fibra, sendo a redução mais acentuada na dieta com 7,5 g/kg de LCC, com menor coeficiente de digestibilidade da FDN (440 g/kg). A concentração máxima de EE nas dietas foi de 40,9 g/kg MS com a inclusão de 22,5 g/kg de LCC nas dietas, distante dos limites preconizados para inclusão de lipídios na dieta de ruminantes e possível comprometimento na digestibilidade da fibra (VAN SOEST *et al.*, 1994). A população de bactérias celulolíticas e fibrolíticas, que degradam carboidratos estruturais como a celulose, podem ter sofrido a ação bactericida do cardanol e do cardol, possivelmente contribuído para redução do coeficiente de digestibilidade da fibra. O consumo de FDA não apresentou diferenças entre os tratamentos, ou seja, não contribuiu para a diminuição do coeficiente de digestibilidade da fibra.

Para as dietas com níveis crescentes de LCC, a fonte lipídica sofreu alterações, sendo incluídos lipídios fenólicos à dieta. Um fato que pode ser destacado é a atividade antifúngica e antibacteriana do LCC (KUBO *et al.*, 1993; WATANABE *et al.*, 2010), podendo ter ocorrido efeito de gordura protegida (*by-pass*) na fonte lipídica das dietas que continham LCC, ou seja, a inclusão de LCC na dieta pode ter dificultado o processo de biohidrogenação, sendo inerte a ação dos microrganismos ruminais e acarretando diminuição do coeficiente de digestibilidade do EE nas dietas com maiores teores de LCC (15,0 e 22,5 g/kg na MS).

A quantidade de N excretado nas fezes dos ovinos diminuiu com a inclusão de LCC na dieta, demonstrando eficiência na utilização da PB ingerida, visto que a inclusão de LCC não afetou o consumo de PB e promoveu aumento na digestibilidade da PB e balanço de N positivo. O aumento no coeficiente de digestibilidade da PB pode estar associado à concentração de taninos totais presente no LCC (Tabela 1), pois taninos complexam moléculas de proteína e podem impedir que sejam degradadas no rúmen (ABDALLA FILHO *et al.*, 2017), sendo transferida para o restante do trato gastrointestinal. Com o abaixamento do pH, a complexação de proteína-tanino é desfeita e resulta no aumento de digestibilidade e absorção da PB (MAKKAR, 2013).

A amostragem do conteúdo ruminal após três horas do fornecimento de ração sugere fermentação máxima, mesmo com a possível complexação proteína-tanino, houve aumento dos

níveis de amônia ruminal, possivelmente, pela menor disponibilidade de carboidrato aos microrganismos ruminais. Os níveis de ureia no sangue sugerem alterações no metabolismo proteico e energético, no entanto, as perdas de N na urina não foram afetadas pela inclusão de LCC, assim como o pH ruminal. Podemos inferir que a elevação das concentrações de N-NH<sub>3</sub> no rúmen não comprometeu o crescimento microbiano e as atividades fermentativas no ambiente ruminal.

A inclusão de LCC reduziu a produção entérica de CH<sub>4</sub> e, conseqüentemente, as perdas de energia que seriam gastas para a sua produção. Estando a diminuição da metanogênese, possivelmente, ligada às alterações microbianas no ambiente ruminal promovidas pelos compostos fenólicos contidos no LCC. Assim como, a redução do hidrogênio livre disponível no rúmen para síntese de metano pelos microrganismos metanogênicos, ratificado pelo aumento das concentrações de propionato com a inclusão de LCC na dieta ou pelo aumento na biohidrogenação, outro carreador de hidrogênio livre. Watanabe *et al.* (2010) observaram uma redução da abundância absoluta e relativa de bactérias produtoras de hidrogênio como, *R. flavefacies* e *T. bryantii* e o aumento de bactérias produtoras de propionato, *S. dextrinosolves*, *A. lipolytica* e *M. eledenii* em resposta a suplementação com LCC.

Os metabolitos séricos demonstram as principais vias bioquímicas, nas quais glicose e colesterol representam o metabolismo energético, enquanto ureia, albumina e proteínas totais indicam o metabolismo proteico (FREITAS JÚNIOR *et al.*, 2010). O aumento dos níveis de triglicérides no sangue dos ovinos que receberam inclusão de 22,5 g/kg de LCC, indica maior transferência de lipídios dietéticos para o sangue dos ovinos, porém todos os tratamentos se mantiveram dentro dos valores de referência de 9 a 30 mg/dL (KANEKO *et al.*, 2008).

As concentrações de colesterol no sangue são influenciadas pela dieta, consumo, idade e estado fisiológico dos animais. A redução dos níveis de colesterol no sangue dos ovinos possivelmente esteja relacionada aos compostos fenólicos do LCC. Neste estudo, o consumo de EE aumentou em resposta ao aumento dos níveis de inclusão de LCC nas dietas, a inclusão em até 22,5 g/kg MS, maior nível, apresentou a menor concentração de colesterol no sangue (33,5 mg/dL). A diminuição do colesterol sanguíneo traz o indicativo de gordura protegida e redução da absorção intestinal em resposta aos componentes lipídicos presente nas dietas, sendo afirmada pela diminuição do coeficiente de digestibilidade de EE.

Os níveis de glicose não sofreram interferências da fonte lipídica das dietas, os valores de glicose para ovinos estão entre 33 - 98,1 mg/dL (VARANIZ, 2018), revelando eficiência no metabolismo de energia para todas as dietas testadas.

Os níveis de creatinina plasmática refletem as taxas de filtração glomerular, com excreção total pelos rins, níveis altos deste metabólito indicam deficiência na função renal (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Para todas as dietas experimentais, as concentrações de creatinina no sangue ficaram abaixo dos valores de referência (1,2 – 1,9 mg/dL) para a espécie (MEYER e HARVEY, 2004), evidenciando uma baixa atividade física e uma baixa proteólise pelos tecidos musculares, reflexo do confinamento dos ovinos. O conteúdo corporal de creatinina é dependente da massa muscular e da utilização de nitrogênio endógeno (CALDEIRA *et al.*, 2007).

As concentrações de ureia estão diretamente relacionadas aos níveis proteicos da dieta e à relação energia: proteína apresentada (PEIXOTO *et al.*, 2010), as concentrações de ureia para o tratamento sem inclusão LCC, ficaram abaixo dos valores de referência, já as concentrações de ureia no sangue dos animais que receberam LCC ficaram um pouco acima, indicando alterações na relação energia:proteína das dietas testadas. O tratamento com inclusão de 22,5 g/kg apresentou concentrações de ureia sanguínea adequada com média de 7,38 mmol/L no sangue, estando próximo aos valores de referência para ovinos, 2,86 – 7,14 mmol/L (KANEKO *et al.*, 2008).

Quando avaliado o comportamento ingestivo dos ovinos foi observado aumento do tempo gasto com alimentação e ruminação e diminuição do tempo gasto com ócio à medida que se aumentou o nível de LCC nas dietas. Segundo Van Soest (1994), animais confinados, gastam mais tempo se alimentando e ruminando, dietas mais energéticas são consumidas e digeridas mais rapidamente.

As dietas experimentais proporcionaram GMD de 250 g/dia, sendo superior ao estimado pelas formulações dietéticas preparadas para o atendimento das exigências de ganho conforme o NRC (2007). A inclusão do LCC em substituição parcial ao milho da dieta proporcionou um bom desempenho, sendo interessante a sua utilização como ingrediente alternativo ao milho moído na dieta de ovinos. A semelhança existente no PC ao abate, entre a dieta sem a inclusão de LCC e as que continham o ingrediente na dieta, pode ser explicado pelo GMD diário dos ovinos serem semelhantes durante o período.

Um indicador de resposta de deposição muscular, a área de olho de lombo (AOL), foi afetado quadraticamente. Os ovinos que receberam a dieta sem a inclusão de LCC e os ovinos que

receberam 22,5 g/kg, apresentaram maiores medidas de AOL. O PA e o PCV não sofreram influência dos tratamentos, assim como, as medidas morfométricas da carcaça e o peso dos cortes de maior valor comercial, não revelando diferenças na deposição de músculo na carcaça. O efeito quadrático observado na AOL, possivelmente, não esteja relacionado às dietas, mas a raça dos ovinos, o grupo de animais utilizados foram oriundos de cruzamento Dorper × Santa Inês. A AOL demonstra o potencial genético do indivíduo para a musculosidade e rendimento dos cortes de maior valor comercial (GOIS *et al.*, 2019). Em estudo comparando a AOL nos diferentes genótipos, as carcaças dos cordeiros  $\frac{3}{4}$ Dorper ×  $\frac{1}{4}$ Santa Inês apresentaram 14,02 cm<sup>2</sup> de AOL, as dos  $\frac{1}{2}$ Dorper ×  $\frac{1}{2}$ Santa Inês 14,28 cm<sup>2</sup> de AOL, foram superiores aos 12,43 cm<sup>2</sup> observados para as carcaças dos genótipos Santa Inês (CARTAXO *et al.*, 2017).

O peso e o rendimento de carcaça quente e fria foram superiores nos tratamentos sem inclusão de LCC. Entretanto, as carcaças dos animais que receberam de LCC, apresentaram carcaça com peso média de 20 kg, peso adequado ao mercado consumidor. A ausência de efeito da inclusão de LCC sobre as medidas morfométricas das carcaças dos animais pode ser explicada pela semelhança de peso e idade ao abate, como também, pela constituição genética dos animais. Cezar *et al.* (2007) relataram que as medições morfológicas da carcaça não mudam quando o grupo de animais possuem mesma constituição genética e são abatidos com idade e peso semelhantes.

Visualmente, os ovinos que receberam LCC na dieta apresentaram maior preferência pelo consumo da fonte de volumoso das dietas. As variações no peso do conteúdo do TGI dos ovinos, o que, possivelmente, tenha contribuído para uma menor taxa de passagem e a um maior tempo de retenção de digesta no TGI dos animais. Entretanto, o consumo de FDN pelos ovinos em todos os tratamentos administrados foi semelhante e todos os animais submetidos as mesmas condições de jejum.

Órgãos como o fígado, o baço e os rins apresentam elevada taxa metabólica, com o aumento dos níveis de energia metabolizável na dieta, conseqüentemente, estes órgãos apresentam maior desenvolvimento para atender à demanda do metabolismo dos nutrientes (CAMILO *et al.*, 2012). Os animais que receberam os maiores níveis de LCC na dieta (15,0 e 22,5 g/kg) apresentaram maior desenvolvimento dos rins. Os outros constituintes não carcaça não apresentaram alterações de peso.

## 5. Conclusão

A inclusão do líquido da casca da castanha de caju até o nível de 22,5 g/kg da MS da dieta para ovinos, em substituição ao milho, proporcionou ganho em peso 257 g/dia, sem interferências no consumo e na digestibilidade dos principais nutrientes, com menor excreção de N nas fezes e redução de CH<sub>4</sub> entérico. Entretanto, promoveu redução dos rendimentos de carcaça, estando o nível de inclusão dependente do valor do milho a ser incluído na dieta.

Os efeitos da inclusão de LCC sobre o desempenho e características de carcaças de ovinos são escassos. Sendo necessários mais estudos com a inclusão LCC na dieta de ruminantes e verificação dos seus efeitos sobre o desempenho animal e características de carcaças.

## 6. Referências

- ABDALLA FILHO, A. L.; DINESHKUMAR, D.; BARREAL, M., et al. Performance, metabolic variables and enteric methane production of Santa Inês hair lambs fed *Orbignya phalerata* and *Combretum leprosum*. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, p. 457 - 465, 2017.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **2005. Official methods of analysis of the AOAC**. 18<sup>th</sup> ed. Arlington, VA.
- BRANCO, A. F.; GIALLONGO, F.; FREDERICK, T.; WEEKS, H., OH, J.; HRISTOV, A. N. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. **Journal of dairy science**, v.98, n.6, p.4030-4040, 2015.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de linguiça. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, 5 de abril de 2000b.
- BÜRGER, P.; PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; SILVA, J. F. C.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; CASALI, A. D. P. Ingestive behavior in Holstein calves fed diets with different concentrate levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.236–242, 2000.
- CALDEIRA, R.M.; BELO, A.T.; SANTOS, C.C.; VASQUEZ, M.I.; PORTUGAL, A.V. The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. **Small Ruminant Research**, v.68, n.3, p.233-241, 2007.
- CAMILO, D. A. et al. Peso e rendimento dos componentes não carcaça de ovinos Morada Nova alimentados com diferentes níveis de energia metabolizável. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2429-2440, 2012.

- CARTAXO, F. Q.; SOUSA, W. H.; CEZAR, M. F. et al. Desempenho e características de carcaça de cordeiros Santa Inês e suas cruzas com Dorper terminados em confinamento. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.18, n.2, p.388-401, 2017.
- CARVALHO, V. M., ÁVILA, V. A. D., BONIN, E. et al. Effect of extracts from baccharis, tamarind, cashew nut shell liquid and clove on animal performance, feed efficiency, digestibility, rumen fermentation and feeding behavior of bulls finished in feedlot. **Livestock Science**. v.244, n.1, p.104-361, 2021.
- CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H. **Carcaças ovinas e caprinas: obtenção, avaliação e tipificação**, UFCG, Campina Grande, 2007.
- CHEN, X. B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, Rowett Research Inst., Aberdeen, p.22, 1992.
- CLEMENTINO, R.H. *et al.* Influência dos níveis de concentrado sobre os cortes comerciais, os constituintes não-carcaça e os componentes da perna de cordeiros confinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p.681-688, 2007.
- DEHORITY, B.A., W.S., DAMRON E J.B., MCLAREN. Occurrence of the rumen ciliate *Oligoisotricha bubali* in domestic cattle (*Bos taurus*). **Applied and Environmental Microbiology**. v.45, n.4, p.1394–1397, 1983.
- FREITAS JÚNIOR, J.E.; RENNÓ, F.P.; PRADA E SILVA, L.F.; GANDRA, J.R.; MATURANA FILHO, M.; FODITSCH, C.; VENTURELLI, B.C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, v.40, n.4, p.950-956, 2010.
- GOIS, G. C.; PESSOA, R. M. S.; SANTOS, R. N.; CUNHA, D. de S.; ARAÚJO, C. de A.; MACEDO, A. de. Características de carcaça e componentes não-carcaça de ovinos: uma revisão. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.**, v. 22, n. 4, p. 139-146, out./dez. 2019.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- IBGE, **Produção Agrícola Lavoura Permanente 2020**. Rio de Janeiro: IBGE, 2021
- JOHNSON, T.R.; COMBS, D.K. Effects of prepartum diet, inert rumen bulk, and dietary polyethylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.3, p.933–944, 1991.
- KAMALZADEH, A.; KOOPS, W.J.; VAN BRUCHEM, J.; TAMMINGA, S.; ZWART, D. Feed quality restriction and compensatory growth in growing sheep: Development of body organs. **Small Ruminant Research**. v. 29, n. 1, p. 71–82, 1998.
- KANEKO, J. J.; HARVE, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. Academic Press, San Diego, 2008.

- KUBO, I., MUROI, H., HIMEJIMA, M. Structural-antibiotic activity relationships of anacardic acids. **Journal Agricultural Food Chemmistry**. v. 41, n. 6, p. 1016–1019, 1993.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standartization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.57, n.4, p. 347–358, 1996.
- LIMA, P. M. T., MOREIRA, G. D., SAKITA, G. Z., *et al.* Nutritional evaluation of the legume *Macrotyloma axillare* using in vitro and in vivo bioassays in sheep, **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.102, p.669–676, 2018.
- LOMONACO, D.; MAZZETTO, S.E. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agroindustrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. In: ANILKUMAR P. **Cashew Nut Shell Liquid**. 2.ed. Lecce, 2017. P.72-100.
- MAKKAR, H. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tanninrich feeds. **Small Ruminant Research**, v. 49, p. 241–256, 2003.
- MEDEIROS, G.R.; CARVALHO, F.F.R.; FERREIRA, M.A. *et al.* Efeito dos níveis de concentrado sobre os componentes não-carcaça de ovinos Morada Nova em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1063-1071, 2008.
- MEYER, D. J.; HARVEY, J. W., 2004: Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis, 3rd 335th edn. W. B. Saunders, Philadelphia, PA.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n.6, p.1217–1240, 2002.
- NOGUEIRA, A. R. A. e G. B. Souza. 2005. **Manual de laboratório: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimento**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 313p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. **National Academy Press**, Washington, D. C. 2007.
- OSMARI, M.P; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; Diaz, T.G.and Matos, L.F. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. **Archivos de zootecnia**. v. 66, n. 255, p. 376, 2017.
- OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M. **Produção de carne ovina. Técnicas de avaliação in vivo e na carcaça**, 2.ed, Editora Universitária, Pelotas, 2005.

- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. METABOLISMO DE LIPÍDEOS. IN: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.583, 2006.
- PALMQUIST, DL, CONRAD, HR. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets, **Journal of Dairy Science**, v.54, p.1025-1033, 1971.
- PATEL, R. N.; BANDYOPADHYAY, S.; GANESH, A. Extraction of cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid using supercritical carbon dioxide. **Bioresour. Technol**, v. 97, n. 6, p.847–853, 2006.
- PEIXOTO, L.A.O.; OSÓRIO, M.T.M.; OSÓRIO, J.C.S.; NÖRNBERG, J.L.; PAZINI, M. Desempenho reprodutivo e metabólitos sanguíneos de ovelhas Ile de France sob suplementação com sal orgânico ou sal comum durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.191-197, 2010.
- PHANI KUMAR, P., PARAMASHIVAPPA, R., VITHAYATHIL, P.J., SUBBA RAO, P.V., SRINIVASA RAO, A. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.50, n.16, p.4705–4708, 2002.
- PRESTON, T. R. Tropical animal feeding: a manual for research workers. Rome: FAO. 1995.
- RAINERI, C.; STIVARI, T. S. S.; GAMEIRO, A. H. Lamb Production Costs: Analyses of Composition and Elasticities Analysis of Lamb Production Costs. Asian Australas. **Journal Animal Science**, v.28, n. 8, p.1209–1215, 2015.
- RAMOS, L.M.G.; BEZERRA, L.R. OLIVEIRA, J.P.F., *et al.* Effects of feeding growing-finishing lambs with cashew nut shell liquid on the growth performance, physicochemical attributes, lipid peroxidation and sensorial parameters of burger. **Small Ruminant Research**, v.202, p.106-468, 2021.
- SILVA SOBRINHO, A. G. **Criação de ovinos**. Jaboticabal: Funep, 2001.302 p.
- SNIFFEN, C.J.; O’CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n. 11, p.3562-3577, 1992.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of dairy science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. 2002. Version 9.1.3. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- TAMORI, K.; MATSUNAGA, B.; BOONSAEN, P. Feeding cashew nut shell liquid decreases methane production from feces by altering fecal bacterial and archaeal communities in Thai

- local ruminants. **Anim Science Journal**. v.92, n. 1, p.13569. 2021
- VALERO, M. V.; FARIAS, M. S.; ZAWADZKI, F. Feeding propolis or essential oils (cashew and castor) to bulls: performance, digestibility, and blood cell counts. **Revista Colombiana Ciencias Pecuarias**. v.29, n. 1, p.33-42, 2016.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant** 2.ed. Ithaca, NY, Cornell University Press, 1994. 476p.
- VARANIS, L. F. M. **Prospecção de metabólitos sanguíneos referenciais para ovinos em distintas categorias**. 2018. Monografia (Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.
- VOIRIN, C.; CAILLOL, S.; SADAVARTE, N. V., et al. Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 1, p.3142–3162, 2014.
- WAN WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FORSTER R. J.; KOBAYASHI, Y. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p. 5258-5267, 2010.

### CAPÍTULO III

#### **Efeito de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju sobre variáveis fisiológicas e termográficas de ovinos em confinamento**

**RESUMO** – Objetivou-se verificar o efeito de dietas contendo níveis crescentes do líquido da casca da castanha de caju (LCC) sobre as variáveis fisiológicas e termográficas por infravermelho em de ovinos confinados. Para tanto, foram usados 40 ovinos com peso corporal (PC) inicial de  $26 \pm 2,4$  kg, em média aos cinco meses de idade, distribuídos em delineamento em blocos completos casualizados, com quatro tratamentos sendo estes diferentes níveis de inclusão de LCC nas dietas (0; 7,5; 15,0 e 22,5 g/kg MS) e 10 repetições por tratamento totalizando 40 unidades experimentais. As variáveis climáticas foram influenciadas pelo horário ( $P < 0,05$ ) do dia. As maiores temperaturas foram registradas no horário das 14:00 às 15:00 h, assim como a temperatura do globo negro (TGN) à sombra, TGN ao sol e ITGU ao sol, com a menor umidade relativa do ar (URA) quando houve maior radiação solar. A temperatura retal dos animais ( $P < 0,0001$ ) e a frequência respiratória ( $P = 0,001$ ) foram influenciadas quadraticamente pelo LCC. Quando avaliados separadamente a temperatura nos flancos direito (FD) e esquerdo (FE) não foram influenciadas pelo LCC. A comparação das temperaturas entre os FD e FE em função do nível de LCC e em função do horário de avaliação foram influenciadas. Considerando o nível de LCC, a TIV (Termografia no infravermelho) máxima e média foi maior no FE, diminuindo com o aumento do nível de LCC. Já para a TIV mínima foi maior no FD, independente, do nível de LCC. Os parâmetros climáticos apresentaram baixa correlação com a TR, no entanto, a FR foi positivamente correlacionada. A umidade relativa do ar apresentou alta correlação com FR e as TIV observadas nos FD e FE. A TIV em ambos os flancos foi altamente correlacionada com os parâmetros climáticos, sendo maior correlação verificada com a temperatura ambiente. A substituição parcial do milho na dieta de ovinos em até 22,5 g/kg de MS na dieta total, proporcionou redução da TIV observada entre o flanco direito e esquerdo, com possível redução na produção de metano entérico, do incremento calórico e conseqüente redução de perdas de energia em ovinos confinados.

**Palavras-chaves:** *Anacardium occidentale*, Coprodutos, Estresse térmico, Metano, Suplementação lipídica, Termograma.

**ABSTRACT** – The objective was to verify the effect of diets containing increasing levels of cashew nut shell liquid (LCC) on physiological and infrared thermographic variables in confined sheep. For this purpose, 40 sheep with an initial body weight (BW) of  $26 \pm 2.4$  kg, on average at five months of age, were distributed in a randomized complete block design, with four treatments, these being different levels of inclusion of LCC in the diets (0; 7.5; 15.0 and 22.5 g/kg DM) and 10 repetitions per treatment, totaling 40 experimental units. Climatic variables were influenced by the time of day ( $P < 0.05$ ). The highest temperatures were recorded between 2:00 pm and 3:00 pm, as well as the temperature of the black globe (TGN) in the shade, TGN in the sun and ITGU in the sun, with the lowest relative humidity (URA) when there was higher solar radiation. The animals' rectal temperature ( $P < 0.0001$ ) and respiratory rate ( $P = 0.001$ ) were quadratically influenced by LCC. When evaluated separately, the temperature on the right (FD) and left (FE) flanks were not influenced by the LCC. The comparison of temperatures between the DF and EF as a function of the LCC level and as a function of the evaluation time were influenced. Considering the LCC level, the maximum and average TIV (Infrared Thermography) was higher in the EF, decreasing with the increase in the LCC level. As for the minimum TIV, it was higher in the DF, regardless of the level of LCC. Climatic parameters showed low correlation with TR, however, FR was positively correlated. Relative air humidity showed a high correlation with FR and TIV observed in DF and EF. The TIV on both flanks was highly correlated with the climatic parameters, with a higher correlation being verified with the ambient temperature. The partial replacement of corn in the diet of sheep with up to 22.5 g/kg of DM in the total diet provided a reduction in the IVT observed between the right and left flanks, with a possible reduction in the production of enteric methane, in the caloric increment and consequent reduction of energy losses in confined sheep.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*, By-products, Thermal stress, Methane, Lipid supplementation, Thermogram.

## 1. Introdução

Condições ambientais estressantes tornam-se um fator limitante para a produção animal nos trópicos, pois o ambiente térmico tem efeito direto na eficiência dos sistemas de produção, assim como, na saúde e bem-estar animal (PAIM *et al.*, 2012). A utilização de lipídios na dieta tem

sido aplicada como estratégia nutricional para amenizar o estresse térmico em animais de alta produção e submetido à ambientes estressantes (McMANUS *et al.*, 2016). A inclusão de lipídeos na dieta pode elevar a concentração de energia e eficiência de sua utilização, pela redução do incremento calórico (NRC, 2007).

O líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*), lipídeo fenólico subproduto do processamento da castanha de caju, apresenta como constituintes majoritários o ácido anacárdico, o cardanol e cardol, fenóis de cadeia longa e insaturada e que podem trazer benefícios a alimentação de ruminantes (MAZZETTO *et al.*, 2009).

A adição de LCC a dieta de ruminantes apresenta comprovada atividade antioxidante (RAMOS *et al.*, 2021) e bactericida, podendo ter aplicabilidade na produção animal, trazendo mudanças ao perfil de fermentativo no ruminal, com a mitigação de metano entérico, como apresentado em estudos *in vitro* (WATANABE *et al.*, 2010, SHINKAI *et al.*, 2012) e melhorias no desempenho produtivo e no metabolismo de nutrientes (VALERO *et al.*, 2016; OSMARI *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021).

A produção de gases de efeito estufa (GEEs) por ruminantes contribui para perdas econômicas na atividade, refletindo a ineficiência na utilização de insumos e atividades correlatas aos sistemas produtivos de animais ruminantes. As perdas energéticas são estimadas em 2% a 15% da energia bruta da alimentação, direcionadas a produção de metano entérico (GOEL e MAKKAR, 2012).

A termografia infravermelha é um método não invasivo que vem sendo utilizado para indicar alterações no metabolismo animal, resultantes do aumento da temperatura corporal e alterações no fluxo sanguíneo, em resposta a condições ambientais ou fisiológicas, podendo estar associadas a eficiência de alimentação em ruminantes (HUNTINGTON *et al.*, 2012; McMANUS *et al.*, 2016).

A temperatura superficial da região do franco esquerdo é fortemente influenciada pela temperatura ruminal, isso deve-se a proximidade da região do flanco esquerdo com o saco dorsal do rúmen (LAUE e PETERSEN, 1991). As diferenças de temperaturas entre o flanco esquerdo e direito vem sendo apontado como um indicador de produção de CH<sub>4</sub> entérico (BULLE *et al.*, 2007; MONTANHOLI *et al.*, 2008; McMANUS *et al.*, 2016) e eficiência alimentar (HUNTINGTON *et al.*, 2012; MARTELLO *et al.*, 2015). Correlações entre as diferenças de temperatura observada na região corporal dos flancos e CH<sub>4</sub> ao longo do dia, imediatamente após a alimentação, e no restante

do dia, indicam que até 100 min após uma refeição seria o melhor período para avaliação de CH<sub>4</sub> entérico com a utilizando termografia infravermelha (MONTANHOLI *et al.*, 2008).

Diante do exposto, objetivou-se verificar o efeito de dietas contendo níveis crescentes do líquido da casca da castanha de caju (LCC), bem como o horário do dia, sobre as variáveis fisiológicas e termográficas (termografia de infravermelho) de ovinos em confinamento.

## **2. Material e Métodos**

A pesquisa foi conduzida no Módulo Didático Produtivo de Pequenos Ruminantes localizado na Fazenda NUPEARIDO, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Estado da Paraíba. As atividades experimentais seguiram as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa do CSTR - UFCG sob o número de Protocolo 05/2019.

### **2.1. Animais e delineamento experimental**

Os animais foram mantidos em confinamento por um período total de 85 dias, sendo 15 dias utilizados para adaptação às dietas, manejo e instalações, e 70 dias reservados para amostragem e coleta de dados. Foram utilizados 40 ovinos oriundos de cruzamento Dorper × Santa Inês, machos não castrados, com idade média de cinco meses e com peso corporal (PC) médio inicial de  $26 \pm 2,4$  kg, os quais foram tratados contra parasitas internos e externos e vacinados contra clostridiose e mantidos em baias individuais, suspensas e providas de comedouros e bebedouros. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em blocos completos com quatro tratamentos, níveis de inclusão de LCC na dieta (0; 7,5; 15,0 e 22,5 g/kg MS) e 10 ovinos, repetições, por tratamento, totalizando 40 unidades experimentais.

### **2.2. Dietas experimentais e manejo**

A proporção das dietas experimentais foi de 40:60 de volumoso:concentrado na forma de mistura completa sendo formuladas para atender as exigências de ganho de peso conforme o NRC (2007), visando ganho de peso médio diário (GMD) de 200 g/dia. Os ingredientes utilizados no concentrado foram milho moído, farelo de soja, mistura mineral e níveis crescentes do líquido da casca castanha de caju (LCC; 0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg) com base na matéria seca total da dieta. O volumoso usado foi o feno de Tifton-85 (*Cynodon sp*) picado em partícula de três cm (Tabela 1).

A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, às 8h00 e às 15h00, de forma a garantir 100 g/kg de sobras com fornecimento de água à vontade. Os alimentos e as sobras foram semanalmente amostrados e congelados a -20°C para posteriores análises.

O LCC utilizado foi do tipo “técnico”, obtido pelo processo térmico-mecânico, submetido a temperatura de 180 °C sob agitação, sendo constituído por 84,4% de cardanol e 15,6% de cardol, este foi fornecido pela Empresa Amêndoas do Brasil LTDA, Fortaleza, Ceara, Brasil.

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Item	Inclusão do LCC <sup>1,3</sup> (g/kg MS)			
	0	7,50	15,0	22,5
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>				
Feno de Tifton-85	400	400	400	400
Farelo de soja	174	174	174	174
Milho moído	411	403	396	388
Líquido da castanha do caju (LCC)	0	7,50	15,0	22,5
Mistura mineral <sup>2</sup>	15,0	15,0	15,0	15,0
<i>Composição química (g/kg MS)</i>				
Matéria seca (g/kg como fornecido)	877	878	879	880
Cinzas	56,7	56,6	56,5	56,4
Proteína bruta	133	133	132	131
Extrato etéreo	19,2	26,4	33,6	40,9
Fibra em detergente neutro	373	372	371	370
Carboidratos não-fibrosos	418	412	407	401
Nutrientes digestíveis totais	693	701	709	716

<sup>1</sup>LCC – Líquido da castanha de caju. <sup>2</sup>Composição da mistura mineral para cada kg (220 g Ca; 163 g P; 12 g S; 12,5 g Mg; 2 mg Zn; 3500 mg Cu; 3640 mg Mn; 310 mg Co; 1960 mg Fe; 280 mg I; 9000 mg Zn; 1630 mg Fl; 32 mg Se); <sup>3</sup>Concentração de Fenóis totais - 3,93 g/eq., Taninos totais - 3,55 g/eq. e Taninos condensados - 0,010 g/eq. presente no LCC.

### 2.3. Variáveis ambientais

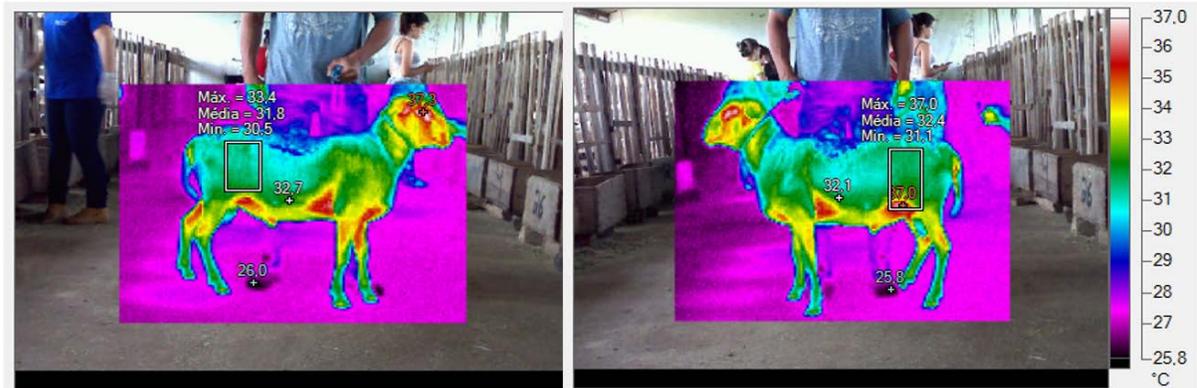
Durante o período experimental foram registrados os dados climatológicos, por meio de um *datalogger* tipo HOBO acoplado a dois globos negros, instalados no ambiente de sol e sombra,

a uma altura semelhante dos animais, este foi programado para registrar os dados ambientais a cada hora, por 24 horas, durante todo o período experimental, com os dados ambientais foi calculado o índice de temperatura do globo negro e umidade (ITGU) utilizando-se da fórmula:  $ITGU = [Tgn + (0,36 \times Tpo) + 41,5]$ , descrita por Buffington *et al.* (1981), onde Tgn é a temperatura do globo negro e Tpo é a temperatura do ponto de orvalho.

#### **2.4. Variáveis fisiológicas**

As variáveis fisiológicas foram colhidas em dias distintos, representando o início, o meio e o final do período experimental. Todas as variáveis foram aferidas antes e três horas após o fornecimento das dietas aos ovinos (7:00 – 8:00 h; 11:00 -12:00 h; 14:00 – 17:00 h e 17:00 – 18:00 h). A frequência respiratória foi tomada pela contagem dos movimentos respiratórios com auxílio de estetoscópio flexível, colocado na região torácica direita, contando-se o número de movimentos durante 30 segundos e o valor obtido multiplicado por dois, para se calcular a frequência respiratória por minuto.

A temperatura retal foi mensurada por meio de um termômetro clínico veterinário, com escala até 44°C, o qual foi introduzido diretamente no reto do animal, permanecendo por um período de dois minutos e o resultado expresso em graus centígrados. A temperatura superficial (TS) dos animais foi mensurada com a utilização de uma câmera termográfica infravermelha (Fluke Serie - Ti 25) com calibração automática e emissividade de 0,98, esta emissividade é recomendada pelo fabricante para tecidos biológicos. Termogramas do lado direito e esquerdo dos animais foram capturados, posteriormente, analisado em software *Smartview* (versão 4.3, Copyright© Fluke Corporation, 2006-2017), para a obtenção das variáveis termográficas (temperaturas superficiais máximas, mínima e a média), selecionadas na região flancos direito e esquerdo dos ovinos (Figura 1).



**Figura 1.** Termograma de infravermelho do flanco direito e esquerdo de ovinos alimentados com dietas contendo líquido da casca da castanha de caju.

## 2.5. Consumo e desempenho produtivo

O consumo de matéria seca foi medido diariamente através da diferença entre o total de nutriente ofertado na dieta e o total de nutriente contido nas sobras. Após jejum de sólidos de 12 horas os animais foram pesados no primeiro dia de experimento (PC inicial), a cada 20 dias para estimar o ganho de peso médio diário (GMD) e ao final do período experimental, utilizando uma balança eletrônica (Welmy, W 300, Patos, Paraíba, Brasil).

## 2.6. Análises químicas e cálculos

Ao final dos experimentos, amostras das dietas, sobras e fezes foram descongeladas e, em seguida, pré-secas a 55 °C por 72 h, moídas em moinho tipo Willey (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de 1,0 mm, acondicionadas em recipientes plásticos fechados, para posterior análises químicas. Foram determinados os teores de matéria seca (MS; 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.29) de acordo com o AOAC (2011). Para a determinação de fibra em detergente neutro (FDN) foi usado Ankom Fiber Analyzer e sacos de fibra (#F57 com diâmetro de 50 × 40 mm; porosidade de 25 × 10 mm; ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA), segundo Van Soest *et al.* (1991). Os teores foram expressos em termos de cinzas residuais excluídas como descrito por Van Soest *et al.* (1991) e adaptado por Mertens (2002).

Os carboidratos não fibrosos (CNF) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais foram determinados de acordo com Sniffen *et al.* (1992):  $CNF = 100 - (PB + EE + FDN + cinzas)$ .

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) dos alimentos foram calculados a partir da fórmula:  $NDT = PBD + CNFD + FDND + 2,25 \times EED$  (NRC, 2001), onde PBD = proteína bruta digestível, CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis e EED = extrato etéreo digestível.

## 2.7. Análises estatísticas

Os dados referentes ao consumo de matéria seca e ao desempenho foram analisados em delineamento em blocos completos ao acaso com quatro tratamentos e dez repetições, utilizando modelos mistos. Os dados foram testados quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett; a normalidade dos erros, pelo teste de Shapiro-Wilk, pré-requisitos necessários para a análise de variância. Para os dados de consumo de MS e desempenho considerou-se os efeitos de tratamento como fixos e os efeitos de bloco e o erro experimental como efeitos aleatórios. Conforme modelo descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijk}$  = vetor das variáveis dependentes;

$\mu$  = média geral;

$\tau_i$  = efeito fixo do tratamento  $i$  (1 a 4);

$\beta_j$  = efeito aleatório de bloco  $k$  (1 a 4);

$\varepsilon_{ijk}$  = efeito aleatório do erro residual.

Os dados referentes aos parâmetros fisiológicos e termográficos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (2002), sendo considerados os efeitos de tratamento, horário e interação horário  $\times$  tratamento como fixos e os efeitos de bloco e o erro experimental como efeitos aleatórios. O dia de coleta não foi significativo, portanto, não foi considerado no modelo.

Modelo utilizado:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \alpha_j + (\tau\alpha)_{ij} + \beta_k + \varepsilon_{ijkl}, \text{ em que:}$$

$Y_{ijkl}$  = vetor das variáveis dependentes;

$\mu$  = média geral;

$\tau_i$  = efeito fixo do tratamento  $i$  (1 a 4);

$\alpha_j$  = efeito fixo do horário  $j$  (1 a 4);

$(\tau\alpha)_{ij}$  = efeito fixo da interação entre o tratamento  $i$  e o horário  $j$ ;

$B_k$  = efeito aleatório de bloco k (1 a 4);

$\varepsilon_{ijkl}$  = efeito aleatório do erro residual.

Quando a interação (tratamento  $\times$  horário) foi significativa foi realizado o desdobramento dos graus de liberdade (opção SLICE do SAS). Os efeitos do tratamento (nível de inclusão do LCC) sobre as variáveis analisadas foram avaliados usando contrastes ortogonais para determinar os efeitos linear ou quadrático. Os contrastes foram significativos quando P-valor foi  $< 0,05$ . Já para os efeitos de horário, as médias estimadas utilizando-se o LSMEANS foram comparadas por meio do procedimento PDIFF do SAS, ajustado para o teste de Tukey e as diferenças significativas foram declaradas quando  $P < 0,05$ .

O efeito do horário sob os parâmetros climáticos foi analisado em delineamento inteiramente casualizado e as médias foram comparadas por meio do procedimento PDIFF do SAS, ajustado para o teste de Tukey e as diferenças significativas foram declaradas quando  $P \leq 0,05$ .

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}, \text{ em que:}$$

$Y_{ij}$  = vetor das variáveis dependentes;

$\mu$  = média geral;

$\alpha_i$  = efeito fixo do horário i (1 a 4);

$\varepsilon_{ij}$  = efeito aleatório do erro residual.

Foram estimadas correlações de Pearson para determinar a associação entre os parâmetros ambientais, fisiológicos e termográficos, realizadas pelo procedimento COR do SAS.

### 3. Resultados

As variáveis climáticas foram influenciadas pelo horário de coleta das informações ( $P < 0,05$ ). No horário das 14:00 às 15:00 h foram registradas as maiores temperaturas do ambiente, temperatura do globo negro (TGN) à sombra, TGN ao sol e ITGU ao sol, assim como, a menor umidade relativa do ar (URA). Já as menores temperaturas foram registradas das 7:00 às 8:00 h para o ambiente, a TGN à sombra não houve diferença entre os horários, enquanto para a TGN ao sol o menor valor foi observado das 17:00 às 18:00 h, momento em que foi verificado menor ITGU ao sol. A maior URA foi observada das 7:00 às 8:00 h, enquanto a TA observada foi a menor (Tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros climáticos em diferentes horários de avaliação

Item	Horário (h)				EPM	P-Valor
	7:00 - 8:00	11:00 -12:00	14:00 -15:00	17:00 -18:00		
Temperatura ambiente (°C)	26,39d	32,46b	33,10a	27,98c	0,15	<0,0001
Umidade relativa do ar (%)	82,80a	58,47c	57,53c	73,57b	3,90	<0,0001
TGN sombra (°C)	27,29c	32,87c	33,55a	27,23c	0,15	<0,0001
TGN sol (°C)	29,37c	42,26b	47,15a	25,33d	0,46	<0,0001
ITGU sombra	77,24b	83,03a	83,28a	77,21b	0,15	<0,0001
ITGU sol	79,29c	92,29b	97,05a	75,14d	0,46	<0,0001

ITGU - Índice de temperatura do globo negro e umidade; TGN - Temperatura do globo negro; EPM – Erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

A inclusão do LCC, em substituição parcial ao milho em dietas para ovinos confinados não influenciou ( $P > 0,05$ ) o consumo de MS. Os animais apresentaram desempenho semelhante com PC final médio de 44,3 kg, ganho de peso total médio de 17,4 kg, GMD de 250 g/dia e conversão alimentar média de 5,09 (Tabela 3).

A interação do nível de LCC  $\times$  horário de avaliação sob as variáveis fisiológicas e termográficas não foi significativa ( $P > 0,05$ ), portanto, os efeitos foram estudados separadamente. A temperatura retal dos animais ( $P < 0,0001$ ) e a frequência respiratória ( $P = 0,001$ ) foram influenciadas quadraticamente pelo LCC, com valores máximos de 39,46 °C e 57,88 mov/min aos níveis de 7,50 e 15,0 g/kg MS de LCC, respectivamente. Por outro lado, a TIV (temperatura superficial) observada nos flancos direito e esquerdo dos animais não foram influenciadas pela inclusão do LCC (Tabela 2).

**Tabela 3.** Desempenho, parâmetros fisiológicos e termográficos em função do nível do líquido da casca da castanha de caju (LCC) incluído na dieta de ovinos.

Item	Inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,50	15,0	22,5		L	Q
<i>Consumo (g/dia)</i>							
Matéria seca	1171,0	1259,0	1188,0	1241,0	38,1	0,65	0,79

*Desempenho (kg)*

Peso corporal inicial	27,0	27,9	26,0	26,7	0,01	0,38	0,87
Peso corporal final	44,1	45,4	43,2	44,5	1,21	0,91	0,99
Ganho de peso total	17,1	17,6	17,3	18,0	0,78	0,77	0,94
Ganho de peso diário (g/dia)	0,20	0,30	0,20	0,30	0,01	0,76	0,94
Conversão alimentar (gCMS/gGPD)	5,00	5,30	5,00	5,00	0,17	0,85	0,64

*Parâmetros Fisiológicos*

Temperatura retal (°C)	39,20	39,46	39,45	39,35	0,08	0,01	<0,0001
Frequência respiratória (mov/min)	50,5	56,34	57,88	52,34	1,18	0,38	0,001

*TIV no flanco direito*

Máxima (°C)	39,13	39,27	39,02	39,3	0,01	0,44	0,35
Mínima (°C)	33,86	33,99	33,7	33,88	0,19	0,74	0,88
Média (°C)	35,93	36,20	35,72	36,08	0,17	0,98	0,72

*TIV no flanco esquerdo*

Máxima (°C)	39,44	39,55	39,33	39,47	0,08	0,66	0,80
Mínima (°C)	33,75	33,67	33,58	33,59	0,15	0,40	0,78
Média (°C)	36,14	36,29	35,83	36,09	0,14	0,26	0,61

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; CMS – Consumo de Matéria Seca; CMO – Consumo; GPD – Ganho de Peso Diário; TS – Temperatura superficial; EPM - Erro Padrão da média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

A temperatura retal em função do horário de avaliação foi maior no horário das 17:00 e 18:00 horas, a frequência respiratória foi maior nos horários das 14:00 às 18:00 horas ( $P < 0,0001$ ). A temperatura superficial máxima observada no flanco direito foi menor nos horários das 7:00 às 8:00 h, sendo semelhante nos demais horários. A temperatura média foi maior no horário das 11:00 às 15:00 horas, assim como a temperatura mínima observada no flanco direito ( $P < 0,0001$ ). Quando aferida a temperatura superficial máxima no flanco esquerdo dos ovinos, foi observado aumento da temperatura no horário das 11:00 às 18:00 horas, a temperatura média foi no horário de 14:00 às 15:00 horas e temperatura mínima observada no flanco esquerdo foi no horário de 11:00 às 15:00 ( $P < 0,0001$ ) (Tabela 4).

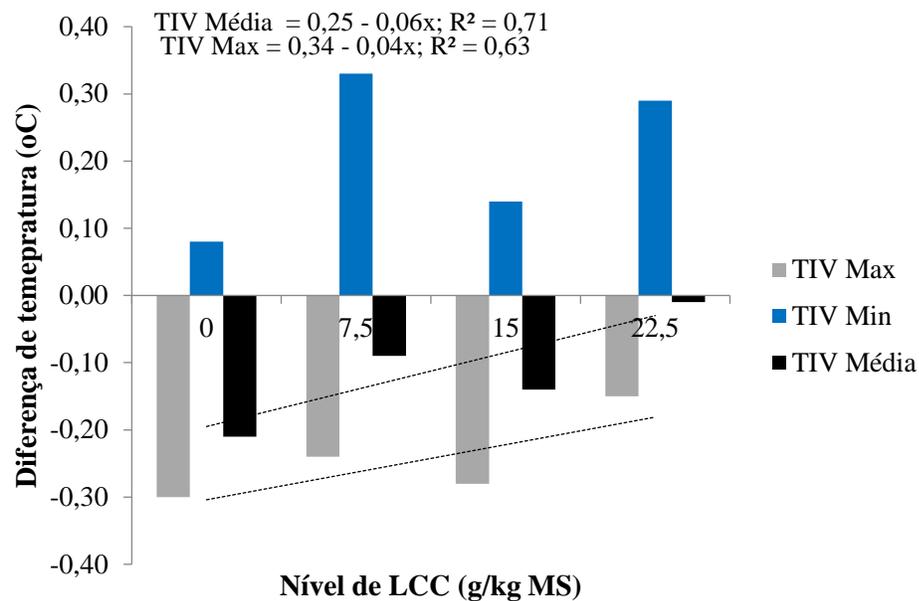
**Tabela 4.** Parâmetros fisiológicos e termográficos em função do horário de avaliação

Item	Horário (h)				EPM	P-valor
	7:00 -8:00	11:00-12:00	14:00 -15:00	17:00 -18:00		
Temperatura retal (°C)	39,11c	39,41b	39,39b	39,56a	0,08	<0,0001
FR (mov/min)	19,68c	27,29b	31,08 <sup>a</sup>	30,47ab	1,18	<0,0001
<i>TIV no flanco direito</i>						
Máxima (°C)	38,44b	39,43a	39,53a	39,31a	0,1	<0,0001
Mínima (°C)	31,85c	35,00a	35,49a	33,10b	0,19	<0,0001
Média (°C)	34,54c	36,95a	37,07a	35,38b	0,17	<0,0001
<i>TIV no flanco esquerdo</i>						
Máxima (°C)	38,73b	39,68a	39,75a	39,63a	0,08	<0,0001
Mínima (°C)	31,63d	34,70b	35,26a	33,00c	0,15	<0,0001
Média (°C)	34,61c	37,00a	37,06a	35,69b	0,14	<0,0001

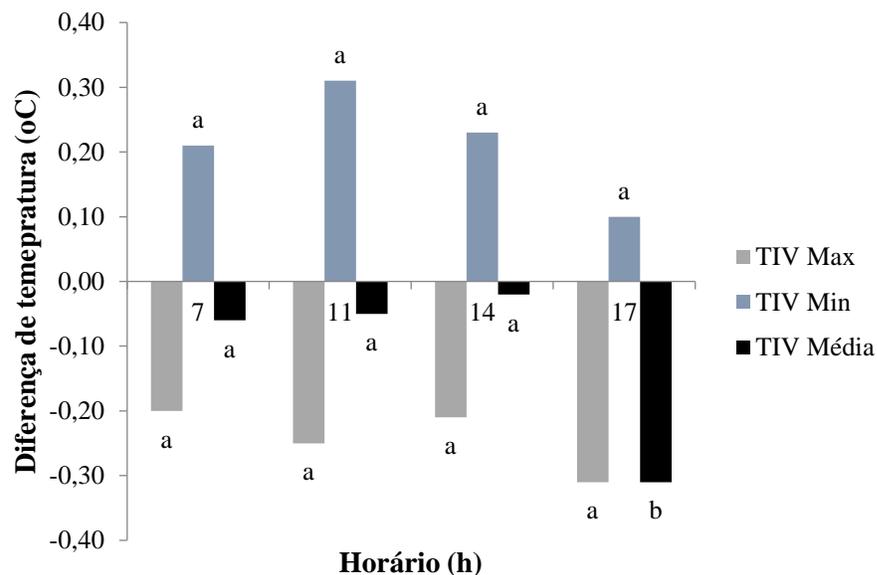
FR – Frequência respiratória; TS – Temperatura superficial; EPM – Erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (P < 0,05).

Observou-se que existe diferença entre os dados termográficos (°C), tanto em função do nível de LCC (Figura 2) quanto em função do horário de avaliação (Figura 3) entre os flancos direito e o esquerdo. Considerando o nível de LCC, a TIV (Termografia infravermelha) máxima e média foi maior no flanco esquerdo, diminuindo com o aumento do nível de LCC. Já para a TIV mínima foi maior no flanco direito, independente, do nível de LCC.

Com relação ao horário, a TIV mínima e média foi maior no flanco esquerdo, sendo a maior diferença observada para TIV média às 17:00 h. Já para a TIV máxima os valores foram maiores no flanco direito, sem influência do horário (Figura 3).



**Figura 2** – Diferença dos dados termográficos mensurados no flanco direito e esquerdo em função do nível de LCC incluídos na dieta (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg). (TIV Max – Temperatura infravermelha máxima; TIV Média – Temperatura infravermelha média; TIV Man – Temperatura infravermelha mínima).



**Figura 3** – Diferença dos dados termográficos mensurados no flanco direito e esquerdo em função do horário de observação (7:00 – 8:00 h; 11:00 -12:00 h; 14:00 – 17:00 h e 17:00 – 18:00 h). TIV Max – Temperatura infravermelha máxima; TIV Média – Temperatura infravermelha média; TIV Man – Temperatura infravermelha mínima.

Os parâmetros climáticos apresentaram baixa correlação com a TR, no entanto, a FR foi positivamente correlacionada, todavia com baixos coeficientes de correlação. A umidade relativa do ar (URA) apresentou alta correlação com FR e as TIV observadas nos flancos direito e esquerdo, entretanto, os coeficientes foram baixos. Para a análise de correlação, considerou-se apenas a TIV média nos flancos direito e esquerdo. A TIV em ambos os flancos foi altamente correlacionada com os parâmetros climáticos, sendo maior correlação verificada com a temperatura ambiente (TA). A TIV no FD foi altamente correlacionada com o a TIV no FE (Tabela 5).

**Tabela 5.** Correlação de Pearson entre os dados climáticos e os dados fisiológicos e termográficos

	TR (°C)	FR (mov/min)	TIV média FD (°C)	TIV média FE (°C)
TA (°C)	0,17 (0,0004)	0,34 (<0,0001)	0,72 (<0,0001)	0,75 (<0,0001)
URA	-0,15 (0,002)	-0,30 (<0,0001)	-0,80 (<0,0001)	-0,80 (<0,0001)
TGN sombra (°C)	0,09 (0,06)	0,26 (<0,0001)	0,64 (<0,0001)	0,63 (<0,0001)
TGN sol (°C)	0,04 (0,42)	0,19 (<0,0001)	0,54 (<0,0001)	0,52 (<0,0001)
ITGU sombra	0,10 (0,04)	0,27 (<0,0001)	0,63 (<0,0001)	0,62 (<0,0001)
ITGU sol	0,03 (0,48)	0,20 (<0,0001)	0,54 (<0,0001)	0,51 (<0,0001)
TIV média FD (°C)	0,14 (0,006)	0,26 (<0,0001)	-	0,94 (<0,0001)
TIV média FE (°C)	0,15 (0,002)	0,26 (<0,0001)	-	-

Parâmetros: TA – Temperatura ambiente; URA – Umidade relativa do ar; TGN - Temperatura do globo negro; ITGU - Índice de temperatura do globo negro e umidade; TR – Temperatura retal; FR – Frequência respiratória; TIV – Temperatura infravermelha; FD – Flanco direito; FE – Flanco esquerdo.

#### 4. Discussão

As maiores TA foram registradas no período das 14:00 à 15:00 horas (Tabela 2), estando esses valores acima da zona de conforto térmico para a espécie ovina mencionada por Baêta e Souza (2010). De acordo com esses autores a zona de conforto térmico para ovinos varia entre 25°C a 30°C, demonstrando que os animais foram desafiados pelo calor excessivo devido a maior radiação solar direta no horário das 11:00 às 15:00 horas. A URA e TA são inversamente proporcionais em relação aos horários do dia, ou seja, nos horários em que TA foi menor, a URA foi maior. Segundo Baêta e Souza (2010) a URA adequada para ovinos está entre 50 a 80%, deste modo, a URA ficou dentro da faixa de conforto térmico (Tabela 1).

A TGN na sombra foi equivalente a TA, de acordo com Motta (2001) a TGN entre 27°C e 34°C, é considerada como regular e acima de 35°C, considerada como crítica. A TGN ao sol foi superior ao limite crítico, demonstrando as intemperes da região e a necessidade de instalações que promovam sombreamento, neste estudo, os animais estavam alojados em ambiente coberto.

O ITGU, segundo o National Weather Service (EUA), citado por Baêta e Souza (2010), pode ser classificado da seguinte forma: até 74 é uma situação de conforto; 74 a 78, estado de alerta, 79 a 84, situação perigosa e acima de 84, situação de emergência. Neste estudo, os animais foram submetidos a condições de estresse térmico no horário de 11:00 às 15:00 horas, com ITGU mensurado na sombra de 83. O ITGU ao sol ultrapassa aos 84, apresentado caráter emergencial.

Apesar das variáveis ambientais demonstrarem condições críticas e possível quadro de estresse calórico nos animais, o consumo voluntário não foi afetado (Tabela 3) e os animais obtiveram média de GMD de 250 g/dia, sendo superior ao estimado pelas formulações dietéticas preparadas para o atendimento das exigências de ganho conforme o NRC (2007) possivelmente pelo fato dos animais ajustarem os períodos de consumo e por se tratar de animais cruzados com uma raça nativa (Santa Inês) e animais provenientes de rebanho aclimatados. Além destes fatores, a utilização de lipídios na dieta tem sido apontada como uma estratégia nutricional para amenizar o estresse térmico em animais de alta produção e submetido à ambientes estressantes (McMANUS *et al.*, 2016; CONTE *et al.*, 2018).

Conforme Silanikove (2000) a frequência respiratória pode quantificar a severidade do estresse pelo calor, em que uma frequência de 40-60, 60-80, 80-120mov/min caracteriza um estresse baixo, médio-alto e alto para os ruminantes. Neste estudo, a FR dos ovinos apresentou-se

em condições de baixo estresse (Tabela 3), e TR dentro da normalidade (Tabela 3). A faixa de normalidade da TR para a espécie varia de 38,3°C a 39,9°C (BERGT e HALLGRÍMUR, 1996).

A inclusão do LCC em substituição parcial ao milho da dieta proporcionou bom desempenho produtivo (Tabela 3). A semelhança existente no PC ao abate dos animais, pode ser explicado pelo GMD diário dos ovinos serem semelhantes durante o período experimental.

A temperaturas superficial (TS) máxima, média e mínima observadas nos flancos direito e esquerdo em função das dietas foram semelhantes, quando foram avaliadas separadamente, possivelmente, pela semelhança observada no CMS dos ovinos, a semelhança na relação volumoso: concentrado e pelas concentrações semelhantes de nutrientes da dieta, exceto para as concentrações de EE (Tabela 1). As médias da TS máxima observada no flanco direito foram inferiores a TR, revelando que os animais não estocaram calor. A TS observada no flanco direito reflete a temperatura central do corpo (LAUE e PETERSEN, 1991).

Os parâmetros fisiológicos e termográficos foram influenciados em função do horário de observação e pelas condições ambientais apresentadas na região, com menores TS, TR e FR nas primeiras horas do dia (Tabela 4). A inclusão de LCC as dietas não promoveram flutuações na TS máxima no flanco esquerdo, era esperado maiores temperaturas no horário das 11:00 às 12:00 e 17:00 às 18:00 que refletiriam os períodos de maior fermentação ruminal das dietas.

A TS observada na região do flanco esquerdo é fortemente influenciada pela temperatura ruminal (LAUE e PETERSEN, 1991). Era esperado variações na fermentação e conseqüentemente interferências na TS do flanco esquerdo com a inclusão dos níveis crescentes do LCC na dieta dos ovinos e do período de observação, antes e três horas após ao último período de alimentação. Possivelmente, a falta de efeito do LCC, esteja relacionado ao horário de observação da TS nos flancos. Montanholi *et al.* (2008), relataram que até 100 min após uma refeição é o melhor período para avaliações de calor corporal e CH<sub>4</sub> entérico utilizando termografia infravermelha.

Estudos têm sugerido que animais mais eficientes apresentam a temperatura da superfície corporal mais baixa que animais menos eficientes, assim como, produzem mais metano entérico (BULLE *et al.*, 2007; MONTANHOLI *et al.*, 2009; MARTELLO *et al.*, 2015). A termografia infravermelha é uma tecnologia não invasiva utilizada na produção animal, abordando aspectos de calor e estresse fisiológico, metabolismo e nutrição, processos inflamatórios, detecção de ectoparasitas e reprodução (McMANUS *et al.*, 2016).

As diferenças entre as temperaturas superficiais da região do flanco direito e esquerdo trazem um indicativo das flutuações de calor produzido pela fermentação ruminal e as possíveis interferências ocorridas pelo tipo de dieta utilizada ou produtos da fermentação gerados (MARTELLO *et al.*, 2015). A TIV no flanco direito foi altamente correlacionada com a TIV no flanco esquerdo (Tabela 5). O flanco direito representa a temperatura central do corpo com influência relacionada aos fatores ambientais, no processo de termorregulação, ocorre maior fluxo sanguíneo para manutenção de homeotermia e conforto térmico, resultando em dissipação de calor por toda a superfície corporal (McMANUS *et al.*, 2016).

Neste estudo, quando a diferenças de temperatura infravermelha (TIV) foram observadas entre o flanco direito e esquerdo houve efeito dietético e em função do horário de alimentação, antes e após três horas do último arraçoamento. A TIV máxima e média no flanco esquerdo diminuiu com elevação dos níveis de LCC com maiores flutuações da TIV média às 17:00 às 18:00 h, demonstrando efeito dos compostos fenólicos sobre a fermentação, com possível mitigação de metano entérico e redução de perda de energia da dieta na forma de calor. Os ovinos que receberam LCC foram mais eficientes conforme teoria, pela redução da temperatura corporal observada entre os flancos (MONTANHOLI *et al.*, 2009).

Watanabe *et al.* (2010) obtiveram redução de 70% na metanogênese ao adicionarem 200 µg/mL do LCC em experimento realizado *in vitro*. Maeda *et al.* (2021) observaram mitigação de 20,2 - 23,4% da emissão de CH<sub>4</sub> em estudo *in vivo* com bovinos de corte com o fornecimento de 4 e 6 g de LCC/100 kg de peso corporal e não verificaram efeitos sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes. Análises do conteúdo ruminal dos bovinos revelaram aumento na proporção de propionato, no total de ácidos graxos de cadeia curta e a abundância relativa de metanogênicas foi diminuída, indicando o efeito inibitório direto do LCC sobre os microrganismos ruminais.

A TIV em ambos os flancos foi altamente correlacionada com os parâmetros climáticos, sendo maior correlação verificada com a TA. Paim *et al.* (2012) e Daltron *et al.* (2017) encontraram correlações positivas entre os parâmetros fisiológicos e as medidas termográficas e a pontaram a termografia como bom indicador de conforto térmico. As correlações são explicadas pela eficiência dos mecanismos de termorregulação serem depende do gradiente térmico entre o corpo do animal e o ambiente. Quanto maior o gradiente térmico entre a superfície do animal e o meio, maior será a capacidade de dissipação de calor, pelas formas sensíveis, condução, convecção e radiação (SANTOS *et al.*, 2006).

## 5. Conclusão

A inclusão de LCC em dietas para ovinos confinados em até 22,5 g/kg de MS total da deita não influenciou as variáveis fisiológicas e termográficas, estando estas mais susceptíveis às condições climáticas, portanto recomenda-se a sua utilização na dieta de ovinos confinados com este padrão de dieta.

## 6. Referências bibliográficas

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists., 2011. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. (HORWITZ, W. & G. W. LATIMER JR., EDS.) 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- BAÊTA F.C. & SOUZA C.F. 2010. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. 2ª ed. Viçosa: UFV, p.05-269.
- BERGT E.A & HALLGRÍMUR J. 1996. Regulação da temperatura e fisiologia ambiental. P.805-813. In: Dukes - **Fisiologia dos animais domésticos**. 11ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- BRASIL, 2000a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 03, de 17 de janeiro de 2000. **Regulamento Técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília.
- BUFFINGTON D.E., COLAZZO-AROCHO A. & CANTON, G.H. 1981. Black golbe-humidity index (BGHI) as confort equation for dairy cows. *Transact. ASAE*. 24(3):0711-0714.
- BULLE, F.C.P., PAULINO, P.V., SANCHES, A.C., SAINZ, R.D. Growth, carcass quality, and protein and energy metabolism in beef cattle with different growth potentials and residual feed intakes. **J. Anim. Sci.**, v.85 n.4, p.928–936, 2007
- CARVALHO, V. M., ÁVILA, V. A. D., BONIN, E. et al. Effect of extracts from baccharis, tamarind, cashew nut shell liquid and clove on animal performance, feed efficiency, digestibility, rumen fermentation and feeding behavior of bulls finished in feedlot. **Livestock Science**. v.244, n.1, p.104-361, 2021.
- CONTE, G.; CIAMPOLINI, R.; CASSANDRO, M.; LASAGNA, E.; CALAMARI, L.; BERNABUCCI, U.; ABENI, F. Feeding and nutrition management of heat stressed dairy ruminants. **Italian Journal of Animal Science**, v.17, p.604-620, 2018.

- DALTRO, D. S.; FISCHER, V.; ALFONZO, E. P. M.; DALCIN, V. C.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; SILVA, M. V. G. B.; MCMANUS, C. Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. **R. Bras. Zootec.**, v.46, n.5, p.374-383, 2017.
- GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, a status review. **Tropical Animal Health and Production**. v.44, n.4, p.729–739, 2012.
- HUNTINGTON, G.; CASSADY, J.; PAS, K.; GRAY, M.; POORE, S.; WHISNANT, G., and HANSEN, G. Use of digital infrared thermal imaging to assess feed efficiency in Angus bulls. **The Professional Animal Scientist**, v.28, p.166–172, 2012.
- LAUE, H.J., PETERSEN, U., 1991. **Relations between temperature changes in the rumen and roughage intake of dairy cows**. *Zuechtungskunde* 63,282–293.
- MAEDA, K.; NGUYEN, V. T.; SUZUKI, T. Network analysis and functional estimation of the microbiome reveal the effects of cashew nut shell liquid feeding on methanogen behaviour in the rumen. *Microbial Biotechnology*, v. 14, p. 277–290, 2021.
- MARTELLO, L. S.; SILVA, S. L.; GOMES, R. C.; CORTE, R. R. P. S.; LEME, P. R. Infrared thermography as a tool to evaluate body surface temperature and its relationship with feed efficiency in *Bos indicus* cattle in tropical conditions. **Int. J. Biometeorol**, v.60, n.1, p.173-81, 2016.
- MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, n.3, p.732-741, 2009.
- MCMANUS, C.; TANURE, C. B.; PERIPOLLI, V.; SEIXAS, L.; FISCHER, V.; GABBI, A. M.; MENEGASSI, S. R.O.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; DIAS, E.; COSTA JUNIOR, J. B. G. Infrared thermography in animal production: An overview. **Computers and Electronics in Agriculture**., v.123, p.10–16, 2016.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n.6, p.1217–1240, 2002.
- MONTANHOLI, Y.R., NICHOLAS, E.O., KENDALL, C.S., SCHENKEL, F.S., MCBRIDE, B.W., MILLER, S. P. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). **J. Therm. Biol.**, v.33, n.8, p.468–475, 2008.
- MONTANHOLI, Y.R., SWANSON, K.C., SCHENKEL, F.S., MCBRIDE, B.W., CALDWELL, T.R., MILLER, S.P. On the determination of residual feed intake and associations of infrared thermography with efficiency and ultrasound traits in beef bulls. **Livest. Sci.**, v.125, n.1, p.22–30, 2009.
- MOTTA, F.S. **Climatologia zootécnica**. 2001. Edição do autor, Pelotas, p.05-104.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. **National Academy Press**, Washington, D. C. 2007.
- OSMARI, M.P; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; Diaz, T.G. and Matos, L.F. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. **Archivos de zootecnia**. v. 66, n. 255, p. 376, 2017.
- PAIM, T.P., BORGES, B.O., LIMA, P.M.T. Relation between thermographic temperatures of lambs and thermal comfort indices. **Int. J. Appl. Anim. Sci.**, v.1, n.4, p108–115, 2012.
- RAMOS, L.M.G.; BEZERRA, L.R. OLIVEIRA, J.P.F., *et al.* Effects of feeding growing-finishing lambs with cashew nut shell liquid on the growth performance, physicochemical attributes, lipid peroxidation and sensorial parameters of burger. **Small Ruminant Research**, v.202, p.106-468, 2021.
- SANTOS A.D.F.; TORRES C.A.A.; FONSECA J.F.; BORGES A.M.; COSTA E.P.; GUIMARÃES J.D. & ROVAY H. Parâmetros reprodutivos de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. **Revta. Bras. Zoot.**, v.35, n.5, p.1926-1933, 2006.
- SILANIKOVE N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock. Product. Sci.**, v.67, n.2, p.1-18. 2000.
- SNIFFEN, C.J.; O’CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n. 11, p.3562-3577, 1992.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of dairy science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. 2002. Version 9.1.3. SAS Institute Inc. Cary, C.
- VALERO, M. V.; FARIAS, M. S.; ZAWADZKI, F. Feeding propolis or essential oils (cashew and castor) to bulls: performance, digestibility, and blood cell counts. **Revista Colombiana Ciencias Pecuarias**. v.29, n. 1, p.33-42, 2016.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- WAN WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.11, p. 5258-5267, 2010.

## CAPÍTULO IV

### **Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju**

**RESUMO** – O líquido da casca da castanha de caju (LCC) favorece a fermentação ruminal e a redução de perdas energéticas. Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de do LCC (*Anacardium occidentale*) em dietas destinadas a ruminantes sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), cinética de produção de gases e parâmetros ruminais. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sendo estes as dietas com diferentes níveis de inclusão do LCC (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg de MS), quatro períodos de coleta e quatro repetições (inóculos ruminais). As dietas foram avaliadas em um ensaio *in vitro* de produção de gases. A inclusão de LCC reduziu linearmente a produção de gases (PG; mL/g MS e mL/MOD) à medida que os níveis do LCC foram sendo elevados nas dietas. A matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD), a produção de metano (CH<sub>4</sub>; mL/g MS e mL/gMOD) não sofreram interferências (P >0,05) pelo LCC nas dietas. O fator de partição (P = 0,0002) aumentou linearmente. O potencial de produção de gases (A; P = 0,17) e o *Lag time* (L; P = 0,91) não foram influenciados pela inclusão de LCC às dietas. A taxa fracionária de fermentação  $\mu$  (P = 0,005) e a metade do tempo de A (P = 0,007) reduziram linearmente. O potencial de produção de gases (mL/gMS) durante o período de incubação *in vitro* não foi afetado pelo LCC (P = 0,17) e a taxa de degradação *in vitro* foi linearmente menor (P = 0,005) para as dietas com LCC. O total da concentração de ácidos graxos de cadeia curta reduziu linearmente (P = 0,01), assim como, as concentrações de acetato (P = 0,02), proprionato (P = 0,002), valerato (P = 0,005) e isovalerato (P = 0,021). A relação entre acetato e proprionato foi linearmente menor (P = 0,009), o pH não sofreu alterações com a inclusão de LCC às dietas, já a concentração de N-NH<sub>3</sub> (mg/dL) foi reduzida linearmente (P = 0,04) com adição dos níveis de LCC. A inclusão de LCC nas dietas testadas não contribuiu para melhorias dos parâmetros fermentativos, para a DVMO e para redução de metano entérico.

**Palavras-chaves:** *Anacardium occidentale*. Ácido anacárdico. Cardanol. Cardol. Nitrogênio amoniacal. Produção de gases.

**ABSTRACT** – The cashew nut shell liquid (LCC) favors rumen fermentation and the reduction of energy losses. The objective was to evaluate the effects of the inclusion of LCC (*Anacardium occidentale*) in diets for ruminants on in vitro dry matter digestibility (IVDMD), gas production kinetics and ruminal parameters. The experimental design was completely randomized, with four treatments, these being diets with different levels of LCC inclusion (0; 7.50; 15.0 and 22.5 g/kg DM), four collection periods and four repetitions (ruminal inocula). The diets were evaluated in an in vitro gas production assay. The inclusion of LCC linearly reduced gas production (PG; mL/g DM and mL/MOD) as LCC levels increased in the diets. Truly degraded organic matter (MOVD), methane production (CH<sub>4</sub>; mL/g DM and mL/gMOD) were not interfered ( $P > 0.05$ ) by LCC in the diets. The partition factor ( $P = 0.0002$ ) increased linearly. Gas production potential (A;  $P = 0.17$ ) and Lag time (L;  $P = 0.91$ ) were not influenced by the inclusion of LCC in the diets. Fractional fermentation rate  $\mu$  ( $P = 0.005$ ) and half time of A ( $P = 0.007$ ) decreased linearly. The gas production potential (mL/gMS) during the in vitro incubation period was not affected by LCC ( $P = 0.17$ ) and the in vitro degradation rate was linearly lower ( $P = 0.005$ ) for the LCC diets. The total concentration of short-chain fatty acids decreased linearly ( $P = 0.01$ ), as well as the concentrations of acetate ( $P = 0.02$ ), proprionate ( $P = 0.002$ ), valerate ( $P = 0.005$ ) and isovalerate ( $P = 0.021$ ). The ratio between acetate and propionate was linearly lower ( $P = 0.009$ ), the pH did not change with the inclusion of LCC in the diets, whereas the N-NH<sub>3</sub> concentration (mg/dL) was linearly reduced ( $P = 0.04$ ) with addition of LCC levels. The inclusion of LCC in the tested diets did not contribute to improvements in fermentation parameters, to DVMO and to the reduction of enteric methane.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*. Anacardic acid. Cardanol. Cardol. Ammonia nitrogen. Gas production.

## 1. Introdução

Aditivos alimentares atuam sobre a atividade bacteriana, modificam o perfil de ácidos graxos produzidos no rúmen, reduzindo a produção de gases de efeito estufa e perdas metabólicas (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008). Os principais aditivos utilizados na alimentação de ruminantes são os ionóforos, os antibióticos não ionóforos, os probióticos e prebióticos, os compostos secundários e os extratos vegetais de plantas (taninos, saponinas, óleos essenciais).

A castanha de caju é o fruto do cajueiro, sendo composto por uma casaca coriácea lisa, mesocarpo alveolado repleto de um líquido viscoso e escuro denominado de líquido da casca da castanha do caju (LCC), e na parte mais interna a amêndoa, constituída de dois cotilédones carnosos e oleosos, que compõem a parte comestível do fruto. O LCC técnico, denominação recebida após sofrer o processor térmico-mecânico, é constituído por lipídeos fenólicos naturais, o ácido anacardico, componente majoritário do LCC natural, sofre reação de descarboxilação quando submetido a altas temperaturas, sendo convertido a cardanol e cardol (MAZZETTO *et al.*, 2009).

A aplicabilidade do LCC na manipulação do ambiente ruminal tem sido comprovada (BRANCO *et al.*, 2015). Informações sobre modificações no ambiente ruminal, perfil de fermentação, digestibilidade e mitigação de metano entérico, em estudos *in vivo* e *in vitro* com a inclusão de LCC na dieta de ruminantes são descritos na literatura (SHINKAI *et al.*, 2012; OSMARI *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2021; TAMORI *et al.*, 2021). Entretanto, as respostas são variáveis, merecendo mais estudos sobre a dosagem e níveis de inclusão mais adequados a sua utilização. Diante do exposto, nossa hipótese é que o LCC pode modular a fermentação ruminal com benefícios aos parâmetros fermentativos, a degradabilidade, ao perfil de ácidos graxos de cadeia curta e a redução de metano entérico. Portanto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de diferentes níveis de LCC em dietas destinadas a ruminantes sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro*.

## **2. Material e Métodos**

Todos os procedimentos e análises desse ensaio experimental foram conduzidos no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (LANA/CENA/USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil, entre os meses de julho e agosto de 2021. Todos os procedimentos envolvidos com a utilização de animais seguiram as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais do CENA/USP.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sendo estas as dietas com diferentes níveis de inclusão do líquido da casca da castanha de caju (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg de MS), quatro períodos de coleta e quatro repetições (inóculos ruminais). O LCC utilizado neste estudo foi do tipo “técnico”, obtido através de processo térmico-mecânico e submetido a uma temperatura de 180 °C sob agitação para extração das amêndoas, fruto do cajueiro. Este foi fornecido pela Empresa Amêndoas do Brasil LTDA, do município de Fortaleza,

estado do Ceará, região nordeste do Brasil. O aditivo apresentava 84,4% de cardanol e 15,6% de cardol em sua composição.

Quatro dietas foram formuladas com a inclusão de diferentes níveis de inclusão de LCC, conforme as recomendações preconizadas pelo NRC (2007), para atendimento das exigências de manutenção de ovinos de  $50 \pm 5$  kg de peso corporal (PC), para um consumo calculado de 2,94% do PC (Tabela 1).

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais

Item	Inclusão do LCC <sup>1,3</sup> (g/kg MS)			
	0	7,50	15,0	22,5
<i>Ingredientes (g/kg MS)</i>				
Feno de Tifton-85	400	400	400	400
Farelo de soja	145	145	145	145
Milho moído	440	430	425	417
Líquido da castanha do caju (LCC)	0	7,50	15,0	22,5
Mistura mineral <sup>2</sup>	15,0	15,0	15,0	15,0
<i>Composição química (g/kg MS)</i>				
Matéria seca (g/kg como fornecido)	877	878	879	880
Cinzas	55,3	55,2	55,1	54,9
Proteína bruta	122	121	121	120
Extrato etéreo	19,6	26,8	34,1	41,3
Fibra em detergente neutro	374	373	372	371
Carboidratos não-fibrosos	427	422	416	411
Nutrientes digestíveis totais	693	701	709	709

<sup>1</sup> LCC – Líquido da castanha de caju. <sup>2</sup> Composição da mistura mineral para cada kg (220 g Ca; 163 g P; 12 g S; 12,5 g Mg; 2 mg Zn; 3500 mg Cu; 3640 mg Mn; 310 mg Co; 1960 mg Fe; 280 mg I; 9000 mg Zn; 1630 mg Fl; 32 mg Se); <sup>3</sup>Concentração de Fenóis totais - 3,93 g/eq., Taninos totais - 3,55 g/eq. e Taninos condensados - 0,010 g/eq. presente no LCC.

As dietas experimentais foram amostradas, pré-secas a 55 °C por 72 h, moídas em moinho tipo Willey (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneira de 1,0 mm. Em seguida, foram analisadas (Tabela 1) quanto ao teor de matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM;

método 942.05), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.29) de acordo com o AOAC (2011). Para a determinação de fibra em detergente neutro (FDN) foi usado Ankom Fiber Analyzer e sacos de fibra (#F57 com diâmetro de 50 × 40 mm; porosidade de 25 × 10 mm; ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA), segundo Van Soest *et al.* (1991). Os teores foram expressos em termos de cinzas residuais excluídas como descrito por Van Soest *et al.* (1991) e adaptado por Mertens (2002). As concentrações de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados do LCC foram avaliadas conforme metodologia proposta por Makkar (2003).

### 2.1. Ensaio *in vitro* de produção de gases

Quatro ovinos da raça Santa Inês, cânulados no rúmen e com PC médio de 50 ± 5 kg, foram utilizados como doadores de inóculo ruminal, estes foram alimentados com as dietas experimentais na forma de mistura completa e com fornecimento de água à vontade. As frações líquidas e sólidas em proporção de 1:1 do conteúdo ruminal dos animais foram coletadas separadamente com a utilização de um animal doador por inóculo, obtendo-se inóculo conforme os procedimentos descritos por Bueno *et al.* (2005).

O ensaio *in vitro* de produção de gases foi conduzido conforme Bueno *et al.* (2005). Um grama de amostra das dietas contendo níveis crescentes de LCC (0; 7,50; 15,0 e 22,5 g/kg na MS), foi pesado em sacos de fibra (#F57 com diâmetro de 50 × 40 mm; porosidade de 25 × 10 mm; ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA), em seguida, foram selados e introduzidos em recipiente de vidro de 160 mL. Foi incluído frascos com sacos em branco (sem amostra) para cálculo da produção líquida de gás (ARAUJO *et al.*, 2011) e com amostras de padrão interno (Capim Tifton 85- *Cynodon ssp.*), totalizando 72 frascos, sendo quatro tratamentos (dietas) × quatro períodos × quatro inóculos ruminais + quatro brancos (sem substrato) e quatro padrões internos.

Cada frasco de incubação recebeu 50 mL de meio tamponado de Menke e 25 mL de inóculo ruminal, restando espaço para acúmulo de gases “headspace” de 85 mL em cada frasco (ABDALLA *et al.*, 2012; LONGO *et al.*, 2006). Os frascos foram selados, homogeneizados e incubados em estufa de ventilação forçada com temperatura regulada a 39°C por 24 horas. A pressão dos gases resultantes da fermentação foi mensurada em intervalos de 0, 2, 4, 12, 18 e 24 horas de incubação utilizando-se um transdutor de pressão e um registrador de dados (Pressure Press Data 800, LANA, CENA/USP, Piracicaba, Brasil) para calcular o total de produção de gases

através da equação:  $V = 7,365 \times p$ , onde  $V$  = volume de gás (mL) e  $p$  = pressão medida (psi) (ARAÚJO *et al.*, 2011).

A cada leitura de pressão, 2,5 mL de gases gerados no interior dos frascos foram amostrados para a determinação da produção de metano (CH<sub>4</sub>) por cromatografia gasosa (GC – 2010. Shimadzu, Tóquio, Japão), com coluna micro empacotada (Shincarbon ST 100/120), de acordo com as condições cromatográficas descritas por Lima *et al.* (2018).

Após o período de incubação, os frascos foram colocados em bandeja com água e gelo para sessar a fermentação microbiana e em seguida retirados os sacos com os resíduos de substratos, estes foram tratados com solução de detergente neutro por uma hora a 90°C, lavados com água quente e acetona e em seguida, foi determinada a MS e cinzas do material. A matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD) foi calculada como a diferença entre MO incubada e MO não degradada (BLÜMMEL *et al.*, 1997).

O fluido residual dos fracos após incubação foi utilizado para medição do pH em potenciômetro digital (DIGIMED® DM20), para determinação da concentração de Nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) na fase líquida, amostras do fluido residual após incubação foram analisadas pelo método de micro Kjeldahl, com solução de tetraborato de sódio (5%) conforme Preston (1995), e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de acordo com Palmquist e Conrad (1971), com adaptações de Lima *et al.* (2018).

A cinética de fermentação foi estimada utilizando-se os gases acumulados potencialmente produzidos (A), o “lag time” (L) como o tempo em que a degradação foi iniciada (h), T<sub>1/2</sub> como o tempo (h) em A/2, e a taxa de fermentação determinada ao longo das 24 h ( $\mu_{24}$ ) de incubação conforme modelo proposto por FRANCE *et al.* (1993):

$$A (mL) = Af \times \{1 - e^{[-b \times (t-t_0) - c \times (\sqrt{t} - \sqrt{t_0})]}\}$$

Em que A = volume acumulado de gases (mL) produzidos até o tempo  $t$  (h);  $Af$  = volume assintótico (potencial máximo) dos gases produzidos (mL);  $b$  ( $h^{-1}$ ) e  $c$  ( $h^{-1}$ ) = taxas fracionais constantes;  $t_0$  = tempo de colonização discreto (h) (lag time).

A taxa de fracional média de produção de gases ( $\mu$ ) foi calculada de acordo com o modelo:

$$\mu (h^{-1}) = \frac{b+c}{2 \times \sqrt{t_0}}$$

em que  $\mu$  = taxa fermentação ( $h^{-1}$ );  $b$  ( $h^{-1}$ ) e  $c$  ( $h^{-1/2}$ ) são constantes do modelo de France.

## 2.2. Análises estatísticas

Um delineamento inteiramente casualizado foi utilizado, sendo quatro tratamentos (níveis de inclusão do LCC nas dietas), quatro períodos de coleta e quatro inóculos ruminais. Todos os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.0) (SAS Inst. Inc., Cary, NC). O efeito dos níveis de LCC e período foram considerados como efeitos fixos e os inóculos como efeito aleatório.

Os efeitos de tratamento sobre as variáveis analisadas foram avaliados usando contrastes ortogonais para determinar os efeitos linear e quadrático. Os contrastes foram significativos quando  $P < 0,05$ . Os resíduos foram plotados contra os valores preditos e foram usados para verificar os pressupostos do modelo de homoscedasticidade, independência e normalidade dos erros. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS.

Na produção de gases, os parâmetros do modelo de France foram estimados pelo método iterativo de Marquardt inserido no procedimento NLIN do SAS.

## 3. Resultados

A produção de gases (PG) expressas em mL/g MS ( $P = 0,002$ ) e em mL/g MOD ( $P = 0,04$ ) reduziu linearmente à medida que o nível do LCC aumentou nas dietas (Tabela 2). A matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD; g/kg), a produção de metano em mL/g MS e em mL/g MOD não sofreram interferências ( $P > 0,05$ ) da inclusão de LCC nas dietas. Por outro lado, o fator de partição (PF) aumentou linearmente ( $P = 0,0002$ ) com a inclusão do LCC (Tabela 2).

**Tabela 2.** Produção de gases, degradabilidade e concentração líquida de metano de dietas com a inclusão do líquido da casca da castanha de caju (LCC), após 24 horas de incubação *in vitro*.

Item	Nível de inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,5	15	22,5		L	Q
<i>Produção de gases (PG)</i>							
PG (mL/g MS)	93,74	89,32	85,49	82,51	1,50	0,002	0,77
PG (mL/g MOD)	39,29	36,51	35,64	33,77	0,98	0,04	0,80
<i>Degradabilidade</i>							
MOVD (g/kg)	417,0	406,2	411,8	407,7	5,46	0,65	0,76
<i>Metano (CH<sub>4</sub>)</i>							

CH <sub>4</sub> (mL/g MS)	1,80	1,33	1,74	1,14	0,14	0,16	0,78
CH <sub>4</sub> (mL/g MOD)	0,54	0,52	0,68	0,44	0,05	0,73	0,21
FP	3,65	3,78	4,06	4,18	0,07	0,0002	0,95

MS = matéria seca; MOD – matéria orgânica degradada; MOVD – Matéria orgânica verdadeiramente degradada; PG - Produção líquida de gases; CH<sub>4</sub> – Produção líquida de metano; FP (mg MOD/mL PG na MS) – Fator de partição; EPM - Erro Padrão da média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

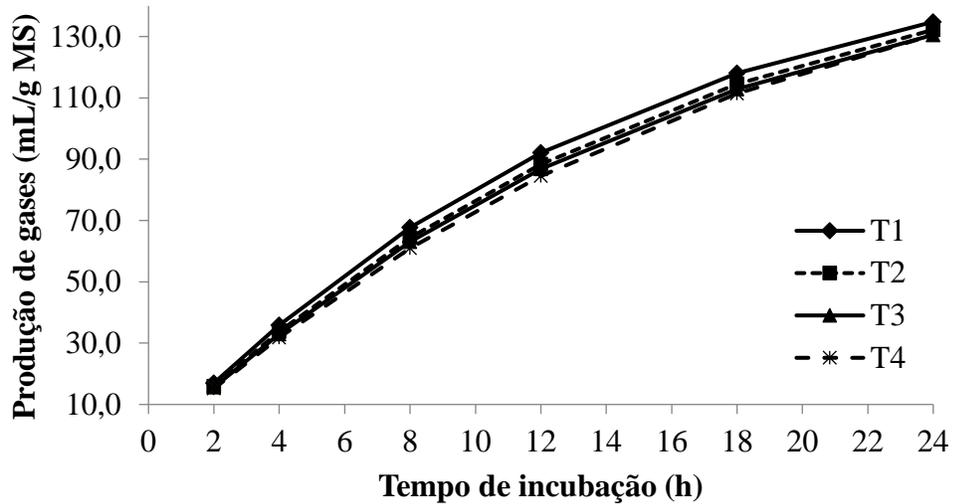
O potencial de produção de gases A ( $P = 0,17$ ) e o Lag time ( $P = 0,91$ ) não foram influenciados pela inclusão de LCC às dietas experimentais, enquanto a taxa de fracionária de fermentação  $\mu_{24}$  ( $P = 0,005$ ) reduziu e o tempo na metade de A,  $T^{1/2}$  ( $P = 0,007$ ) aumentou linearmente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Cinética de fermentação de dietas com a inclusão de diferentes níveis do líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item	Nível de inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,5	15	22,5		L	Q
A	116,5	168,7	167,2	177,5	4,85	0,17	0,42
B	0,08	0,07	0,07	0,06	0,00	0,007	0,80
C	-0,04	-0,03	-0,03	-0,02	0,00	0,05	0,69
Lag time (h)	0,16	0,16	0,16	0,15	0,02	0,91	0,59
$T^{1/2}$	3,25	3,37	3,39	3,58	0,13	0,007	0,60
$\mu_{24}$ (mL/h)	0,07	0,06	0,06	0,06	0,00	0,005	0,80

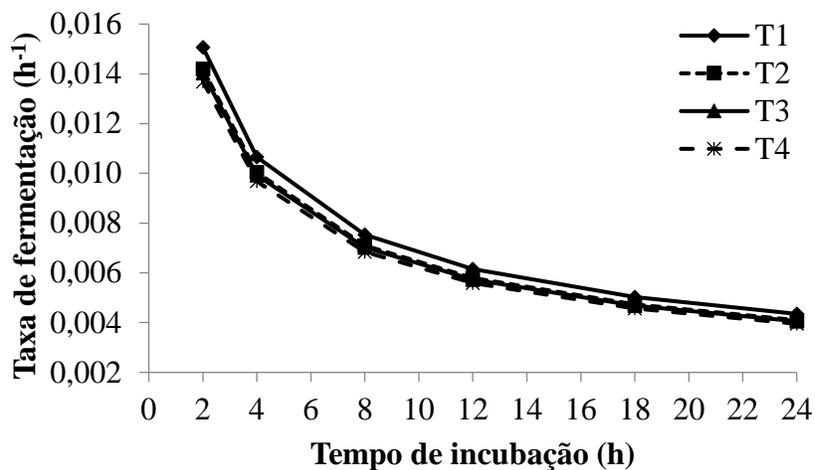
LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; A – Gases potencialmente produzidos (mL); L – Lag time (tempo de atraso para o início da fermentação);  $\mu$  - Taxa fracionária de fermentação;  $T^{1/2}$  – Tempo na metade de A; L – Efeito linear; Q – Efeito quadrático; EPM – Erro padrão da média.

O potencial de produção de gases (mL/g MS) aumentou em função do tempo de incubação *in vitro*, sendo semelhante para todas as dietas experimentais (Figura 1).



**Figura 1.** Produção de gases *in vitro* de dietas contendo líquido da casca da castanha de caju (LCC) em função do tempo de incubação (T1 = 0; T2 = 7,5; T3 = 15,0 e T4 = 22,5 g/kg MS).

A taxa de fermentação *in vitro* reduziu com o aumento do tempo de incubação para todas as dietas experimentais, sendo linearmente menor para as dietas que receberam LCC (Figura 2).



**Figura 2.** Taxa de fermentação de dietas contendo o líquido da casca da castanha de caju após 24 horas de incubação *in vitro* (T1 = 0; T2 = 7,5; T3 = 15,0 e T4 = 22,5 g/kg MS).

A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) reduziu linearmente ( $P = 0,014$ ) com a elevação dos níveis de LCC nas dietas. Assim como, reduziu linearmente as concentrações de acetato ( $P = 0,03$ ), proprionato ( $P = 0,002$ ), valerato ( $P = 0,005$ ) e isovalerato ( $P = 0,02$ ). A relação entre acetato e proprionato foi linearmente menor ( $P = 0,009$ ), o pH não sofreu alterações com a inclusão de LCC as dietas, já a concentração de  $N-NH_3$  (mg/dL) foi reduzida linearmente ( $P = 0,04$ ; Tabela 4).

**Tabela 4.** Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) após 24 horas de incubação *in vitro* de dietas com a inclusão do líquido da casca da castanha de caju (LCC).

Item	Nível de inclusão do LCC (g/kg MS)				EPM	P-valor	
	0	7,5	15	22,5		L	Q
AGCC Total (mM)	113,00	111,36	108,36	105,09	1,95	0,01	0,63
Acetato (mol/100mol)	51,38	50,18	49,28	47,71	0,87	0,03	0,87
Butirato (mol/100mol)	16,42	16,42	16,03	15,38	0,42	0,10	0,48
Propionato (mol/100mol)	24,99	24,67	23,36	22,29	0,60	0,002	0,55
Valerato (mol/100mol)	2,15	2,11	2,04	1,89	0,05	0,005	0,40
Isobutirato (mol/100mol)	0,69	0,64	0,68	0,65	0,02	0,65	0,90
Isovalerato (mol/100mol)	3,08	3,02	2,97	2,76	0,08	0,02	0,44
2-Etil-butírico (mol/100mol)	14,30	14,31	14,58	14,41	0,10	0,27	0,42
C2:C3	2,07	2,06	2,16	2,19	0,03	0,009	0,53
pH	6,13	6,17	6,18	6,17	0,02	0,39	0,38
$N-NH_3$ (mg/100 mL)	39,94	39,26	39,29	36,09	0,71	0,04	0,30

LCC – Líquido da casca da castanha de Caju; AGCC - Ácido graxo de cadeia curta;  $N-NH_3$  - Nitrogênio amoniacal; C2:C3 - Relação entre acetato e propionato; EPM - Erro Padrão da média; L – Efeito Linear; Q – Efeito Quadrático.

#### 4. Discussão

O cardol e cardanol, lipídeos fenólicos presentes no LCC, promovem efeitos biológicos ao ambiente ruminal. Bactérias Gram-positivas como *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Ehrlichia ruminantum* e *Butyrivibrio fibrisolvens* mostraram-se sensíveis ao LCC (SHINKAI *et al.*, 2012). A redução linear da produção de gases, possivelmente, esteja associada ao efeito bactericida dos compostos presentes no LCC. A redução da produção de gases refletiu na

menor produção total de AGCC, com possível interferência do LCC sobre degradabilidade da parede celular, visto que a taxa fracionária de fermentação foi menor para as dietas contendo LCC (Tabela 3).

A redução de bactérias Gram-positivas pela utilização de LCC proporcionou aumento de bactérias Gram-negativas no rúmen como *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantum* e *Megasphaera elsdenii* (SHINKAI *et al.*, 2012). O tempo de incubação nesse estudo, possivelmente, não tenha sido suficiente para o desenvolvimento desses microrganismos, uma vez que não houve mudanças na DVMO com a utilização de LCC (Tabela 2), resposta comumente observada em ensaios *in vitro* de curto prazo, especialmente com a utilização de aditivos (ARAÚJO *et al.*, 2011).

O fator de partição (FP), reúne em uma única variável, a degradabilidade da matéria orgânica sendo convertida em biomassa microbiana e AGCC, ao invés de ser convertido para a produção de gases, sendo utilizado para verificação de eficiência microbiana (BUENO *et al.*, 2005). Neste estudo o FP aumentou com a inclusão do LCC (Tabela 2), não estando essa resposta condicionada à menor concentração de metano nos gases produzidos pela fermentação, mas pela menor produção total de gases, tendo em vista que a produção de metano não foi afetada pela inclusão do LCC (Tabela 2).

A falta de efeito do LCC sobre os gases potencialmente produzidos (A) ao logo das 24 horas de incubação e o tempo de colonização (*lag time*, L), possivelmente esteja associado ao curto tempo de incubação, indicando que esse tempo devesse ser protelado, uma vez que, a maior produção de gases com a inclusão de LCC foi observada após 12 horas de incubação ( $T^{1/2}$ ). A inclusão do lipídeo fenólico nas dietas experimentais, possivelmente, interferiu na aderência dos microrganismos as partículas do alimento. Dietas lipídicas podem acarretar efeitos negativos no ambiente ruminal, pelo recobrimento de partículas alimentares, com consequente redução do contato destas com agentes de digestão (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

O potencial de produção de gases aumentou em função do tempo de incubação e taxa fracionária de fermentação diminuiu em detrimento do tempo de incubação (Figuras 1 e 2). Esse comportamento observado durante o processo de fermentação, ocorre porque diferentes frações do alimento estão sofrendo degradação. Alimentos mais fermentescíveis, como carboidratos não estruturais são rapidamente degradados, possuindo inicialmente maiores taxas de fermentação, com o transcorrer do tempo de incubação, esses componentes tornam-se escassos, as fontes de

energia são diminuídas, assim como a velocidade em que outros componentes do alimento são fermentados (FRANCE *et al.*, 1993). O LCC incluído às dietas acarretou em menor taxa fermentativa pelo possível recobrimento das partículas do alimento, especialmente do alimento concentrado, no qual o LCC apresentou maior aderência (Tabela 3).

A produção de AGCC está diretamente relacionada com a capacidade de degradação dos carboidratos (MAKKAR, 2002). Neste estudo, a redução da produção total de AGCC e a produção de acetato, valerato e propionato demonstram que a inclusão de LCC às dietas, dificultou a degradação pela menor aderência microbiana às partículas dos ingredientes da dieta. Ação surfactante (redução de tensão superficial) e elevação da viscosidade do líquido ruminal com a inclusão de LCC foram relatadas (WATANABE *et al.*, 2010; SEONGJIN Oh *et al.*, 2017), associada a isso a ação bactericida do lipídeo fenólico incluídos, possivelmente afetando especialmente a população de fibrolíticas. O aumento da relação C2:C3 neste estudo, indica que as proporções molares de acetato e propionato foram alteradas, com efeito negativo do aditivo sobre a fermentação de carboidratos e a redução de propionato com menor eficiência de utilização de energia no rúmen (Makkar, 2002).

A capacidade do LCC em diminuir a concentração N-NH<sub>3</sub> ruminal *in vitro* têm sido relatadas e explicadas pelo efeito inibitório sobre bactérias proteolíticas ou sobre a desaminação, com a assimilação de amônia (WATANABE *et al.*, 2010). Resposta semelhante foram observadas neste estudo, com a elevação dos níveis de LCC nas dietas, as concentrações de N-NH<sub>3</sub> no fluido ruminal diminuíram. O efeito do LCC sobre bactérias proteolíticas pode ser observado pelo aumento das concentrações de isovalerato.

## 5. Conclusão

A inclusão de LCC nas dietas testadas (7,50; 15,0 e 22,5 g/kg de MS) não contribuiu para melhorias dos parâmetros fermentativos, na DVMO e redução de metano entérico, sendo não recomendadas para este objetivo.

## 6. Referências bibliográficas

AOAC - Association of Official Analytical Chemists., 2011. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** (HORWITZ, W. & G. W. LATIMER JR., EDS.) 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

- ABDALLA, A. L., LOUVANDINI, H., SALLAM, S. M. A. H., BUENO, I. C. D. S., TSAI, S. M., & FIGUEIRA, A. V. D. O. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.953–964, 2012.
- ARAUJO, R. C., PIRES, A. V., MOURÃO, G. B., ABDALLA, A. L., & SALLAM, S. M. A. Use of blanks to determine in vitro net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed Science and Technology**, p.155–162, 2011.
- BEAUCHEMIN, K. A.; Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v, 48, n. 2, p. 21, 2008.
- BLÜMMEL, M., STEINGASS, H., & BECKER, K. The relationship between *in vitro* gas production, in vitro microbial biomass yield and N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. **British Journal of Nutrition**, v.77, p.911–921, 1997.
- BRANCO, A. F.; GIALLONGO, F.; FREDERICK, T.; WEEKS, H., OH, J.; HRISTOV, A. N. Effect of technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy cows. **Journal of dairy science**, v.98, n.6, p.4030-4040, 2015.
- BUENO, I.C.S., CABRAL FILHO, S.L.S., GOBBO, S.P., LOUVANDINI, H., VITTI, D.M.S.S., ABDALLA, A.L., Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.
- CARVALHO, V. M., ÁVILA, V. A. D., BONIN, E. et al. Effect of extracts from baccharis, tamarind, cashew nut shell liquid and clove on animal performance, feed efficiency, digestibility, rumen fermentation and feeding behavior of bulls finished in feedlot. **Livestock Science**. v.244, n.1, p.104-361, 2021.
- FRANCE, J., DHANOA, M.S., THEODOROU, S.J., LISTER, D. R., DAVIES, D. R., ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds, **Journal of Theoretical Biology**, v.163, p.99–111, 1993.
- LIMA, P. M. T., MOREIRA, G. D., SAKITA, G. Z., NATEL, A. S., MATTOS, W. T., GIMENES, F. M. A., LOUVANDINI, H. Nutritional evaluation of the legume *Macrotyloma axillare* using in vitro and in vivo bioassays in sheep. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.102, p.669–676, 2018.
- LONGO, C., BUENO, I. C. S., NOZELLA, E. F., GODDOY, P. B., CABRAL FILHO, S. L. S., ABDALLA, A. L. The influence of head-space and inoculum dilution on in vitro ruminal methane measurements. **International Congress Series**, v.1293, p.62–65, 2006.
- MAKKAR, H.P.S. Applications of the in vitro gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-

- products. **Animal Production and Health Section**. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, p.1294, 2002.
- MAKKAR, H. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tanninrich feeds. **Small Ruminant Research**, v. 49, p. 241–256, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. **National Academy Press**, Washington, D. C. 2007.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n.6, p.1217–1240, 2002.
- OSMARI, M.P; BRANCO, A.F.; GOES, R.H.T.B.; Diaz, T.G.and Matos, L.F. Increasing dietary doses of cashew nut shell liquid on rumen and intestinal digestibility of nutrient in steers fed a high-grain diet. **Archivos de Zootecnia**. v. 66, n. 255, p. 376, 2017.
- PALMQUIST, D. L., & CONRAD, H. R. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. **Journal of Dairy Science**, v.54, p.1025–1033, 1971.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. IN: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.583, 2006.
- PRESTON, T. R. 1995. **Tropical animal feeding: a manual for research workers**. Rome: FAO.
- SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal of dairy science**, v.95, n.9, p.5308-5316, 2012.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.