

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

VALOR ALIMENTÍCIO DA DIETA, NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO
DO LEITE EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA, ALIMENTADAS
COM CONCENTRADO CONTENDO LÍQUIDO DA CASCA DA
CASTANHA DE CAJU

Autor: Diogo Antignani Coutinho
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro – 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

VALOR ALIMENTÍCIO DA DIETA, NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO
DO LEITE EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA, ALIMENTADAS
COM CONCENTRADO CONTENDO LÍQUIDO DA CASCA DA
CASTANHA DE CAJU

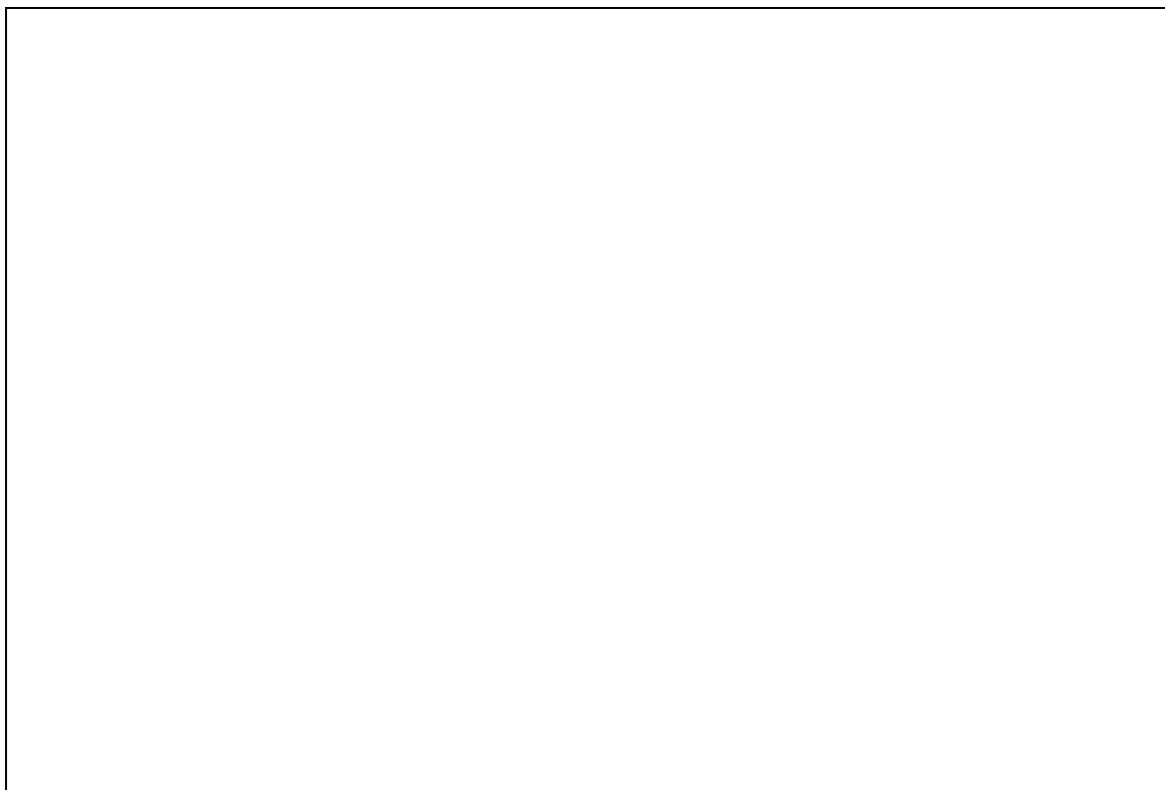
Autor: Diogo Antignani Coutinho

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal".

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro – 2014

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação
da Biblioteca Central da UEM





UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU NA
DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO: CONSUMO,
DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, PRODUÇÃO
E COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Autor: Diogo Antignani Coutinho
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 27 de fevereiro de 2014.

Prof. Dr. Geraldo Tadeu
dos Santos

Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

Prof.ª Dr.ª Gisele Fernanda Moura

"Seja você quem for, seja qual for posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá.

De alguma maneira você chega lá."

Ayrton Senna

A Deus,

Que sempre iluminou meu caminho e dia após dia me cercou com sua fidelidade.
Mostrou-me que tudo que tenho, tudo que sou devo a ele, pois a minha vida está sempre em suas mãos.

Aos meus pais,

Eduardo Coutinho e Tania Regina Antignani Coutinho

Minha inspiração, meu exemplo de força, caráter e bondade incondicional, que ensinou meus valores. Seus ensinamentos e amor me guiaram e deram força para me tornar a pessoa que sou.

Aos meus irmãos,

Rodrigo Antignani Coutinho e Aline Antignani Coutinho

Pelo amor, carinho e incentivo. Por proporcionarem momentos de alegria e me darem forças nos momentos difíceis.

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Eduardo Coutinho e Tânia Regina Antignani Coutinho, pelo amor incondicional, apoio moral e financeiro, além das sábias orientações.

Ao Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco pelos ensinamentos, conselhos, paciência e oportunidades que me proporcionou ao longo desses dois anos de orientação no Mestrado.

A Universidade Estadual de Maringá, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e a Fazenda Experimental de Iguatemi que possibilitaram o desenvolvimento deste experimento.

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

Ao Prof. Dr. Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos pelas orientações e ensinamentos durante a condução deste experimento, auxílio no envio das amostras de leite e autorização para a condução do experimento no Setor de Bovinocultura de Leite.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Rose Mary Pepinelli e Denílson dos Santos Vicentin, por todo auxílio nos procedimentos burocráticos.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, por auxiliarem na execução do experimento e pela amizade.

Aos funcionários do LANA (Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal – UEM), Cleuza Volpato, Creuza Azevedo e Roberto Carlos D’Avila, pelo auxílio nas análises laboratoriais e condução do trabalho.

A pós-doutoranda Dr^a Paula Adriana Grande pelo auxílio nas análises de perfil de ácidos graxos das amostras de leite.

A todos os colegas do grupo de pesquisa, Milene Puntel Osmari, Thiago Lira, Eloisa Fiaschi, Marilize Bittencourt, Amanda Pesqueira, Laiz Fiorilli de Matos, Tatiana Garcia Diaz, Ana Lucia Teodoro e Berik Salab pela ajuda e dedicação na realização do experimento.

Ao mestre Dani Perondi e à doutora Milene Puntel Osmari pelo auxílio nas análises estatísticas.

A todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Obrigado,

BIOGRAFIA DO AUTOR

DIOGO ANTIGNANI COUTINHO, filho de Eduardo Coutinho e Tânia Regina Antignani Coutinho, nasceu em São Paulo-SP, no dia 24 de junho de 1983.

Em dezembro de 2007, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Londrina.

Em março de 2011, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Bovinocultura de leite.

Em fevereiro de 2014, submeteu-se à banca para defesa da dissertação de Mestrado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
I – INTRODUÇÃO	1
1.1. Introdução	Geral 1
.....	
1.2. Uso de óleos funcionais na alimentação de ruminantes	2
.....	
1.3. Uso do líquido da casca da castanha de caju na alimentação de ruminantes..	3
Referências bibliográficas.....	6
II – OBJETIVOS GERAIS	9
III – VALOR ALIMENTÍCIO DA DIETA, NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA, ALIMENTADAS COM CONCENTRADO CONTENDO LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU	10

Resumo	10
Abstract	11
Introdução	12
Material e Métodos	13
Resultados e Discussão	16
Conclusões.....	21
Referências Bibliográficas	25

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1. Principais constituintes do LCCC	3
FIGURA 2. Processo de descarboxilação do ácido anacárdico	4
FIGURA 3. Principais sítios reacionais da molécula do cardanol	5

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1. Composição química e bromatológica dos alimentos e da dieta experimental	14
TABELA 2. Consumo de matéria seca (CMS), de proteína bruta (CPB), de fibra em detergente neutro (CFDN), de FDN (%PC), de extrato etéreo (CEE) e de carboidratos não fibrosos (CNF)	17
TABELA 3. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e NDT	18
TABELA 4. Produção e composição do leite de vacas recebendo dietas com líquido da casca da castanha de caju (LCCC)	20
TABELA 5. Composição em ácidos graxos da gordura do leite de vacas recebendo dietas com níveis crescentes de LCCC (mg/g de lipídeos totais)	22
TABELA 6. Composição (mg/g de lipídeos totais) em ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), e razão AGS/AGI E n-3/n-6 da gordura do leite de vacas recebendo dietas com LCCC	24

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) na alimentação de vacas leiteiras, em terço médio da lactação, e seus efeitos sobre o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, a produção e a composição química e de ácidos graxos do leite. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, com peso médio de 600 ± 43 kg distribuídas em um delineamento em quadrado latino, com quatro períodos experimentais de 21 dias. Os tratamentos consistiram na inclusão de LCCC no concentrado utilizado na alimentação das vacas, como segue: 1) Controle (CON), 0%; 2) LCCC a 0,02% (0,02); 3) LCCC a 0,04% (0,04) e 4) LCCC a 0,06% (0,06). A dieta utilizada foi formulada para conter 17% de proteína bruta e 1,6 Mcal de EL_L /kg de MS. O consumo de matéria seca e dos nutrientes não foi influenciado pelos tratamentos. O consumo médio diário de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro foi de 21,3; 3,6 e 6 kg/dia, respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes também não foram influenciados pela inclusão do LCCC na dieta, cujos valores médios foram 64,8; 67,5; 70,2; 59,2; 73,7 para MS, MO, PB, FDN e EE, respectivamente. O valor de Nutrientes Digestíveis Totais (68,8%) não foi influenciado pelos tratamentos. A produção corrigida para 4,0% de gordura (23,8 kg/dia), bem como a composição do leite, a contagem de células somáticas e a concentração média de N ureico no leite (17,1 mg/dL) não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelo uso do LCCC. Em relação à composição percentual dos ácidos graxos do leite, o uso de LCCC reduziu linearmente o C6:0, produziu uma resposta quadrática sobre o C13:1n-5, e aumento linear para o C16:1n-7. Os resultados mostram que o uso de 7 g/vaca/dia pode alterar a composição de ácidos graxos do leite, mas não influencia os parâmetros estudados.

Palavras chave: cardanol, cardol, metilcardol, polifenóis

ABSTRACT

The aim this study was to evaluate the use of cashew nut shell liquid (CNSL) in diets of mid-lactating dairy cows and its effects on dry matter and nutrients intake, apparent digestibility of nutrients, milk yield, and chemical and fatty acids milk composition. Four Holstein cows (600 ± 43 kg) were used, and the statistical design was a Latin square 4x4 with 21 d of experimental periods. The experimental treatments consisted of CNSL inclusion in the concentrate used to feed the cows, as follows: 1) CNSL 0% - Control (CON), 2) CNSL 0.02% (0.02), 3) CNSL 0.04% (0.04) and 4) CNSL 0.06% (0.06). The diet was formulated to contain 17% crude protein and 1.6 Mcal NE_1 /kg of DM. Dry matter and nutrients intake were not affected by treatments. Average daily intake was 21.3, 3.6 and 6.0 kg/d for dry matter, crude protein and neutral detergent fiber, respectively. Total apparent digestibility of nutrients also were not affected by the inclusion of CNSL in the diet, and the mean values of DM, OM, CP, NDF and EE were 64.8, 67.5, 70.2, 59.2, respectively. The Total Digestible Nutrients value (68.8%) was not affected by treatments. Milk yield corrected for 4.0% fat (23.8 kg/day), milk composition, somatic cell count and the average concentration of milk urea nitrogen (17.1 mg/dL) were not affected by the use of CNSL. Regarding to the percent composition of the milk fatty acids, the use of LCCC linearly decreased C6:0, produced a quadratic response on C13:1n-5, and a linear increase on C16:1n-7. The results show that using CNSL up to 7 g/cow/d may influence the milk fatty acid composition, but does not influence the other parameters studied.

Keywords: cardol, cardanol, metilcardol, CNSL, polyphenols

I - INTRODUÇÃO

1.1 Introdução geral

A alimentação de vacas leiteiras é relacionada aos custos de produção, de forma plenamente justificada, já que esta variável representa mais da metade do custo operacional na produção de leite. A importância da alimentação de vacas leiteiras implica diretamente na eficiência produtiva, na qualidade do leite, na saúde, na reprodução e no bem-estar dos animais (Pimentel et al., 2012).

A segurança em relação ao uso de aditivos químicos na alimentação de vacas leiteiras é constantemente questionada, havendo atualmente uma tendência ao uso de substâncias naturais. A proibição da utilização de antibióticos, como promotores da eficiência alimentar na nutrição animal, pela União Europeia, a partir de 2006 (Regulamentação 1831/2003/EC), intensificou a procura por substâncias naturais capazes de influenciar a fermentação ruminal e melhorar a eficiência de uso dos nutrientes.

O início do século XXI está sendo marcado pela busca do desenvolvimento sustentável, e junto, há uma tendência de obtenção de alimentos mais seguros, ou seja, alimentos que não apresentem resíduos prejudiciais à saúde humana. A segurança de antibióticos, como ionóforos, é constantemente questionada em virtude da possível relação destes com a resistência das bactérias do rúmen, além da possibilidade de deposição de resíduos na carne ou no leite. Essa realidade leva a proibições ou restrições ao uso desses aditivos na alimentação animal em vários países (Brugalli, 2003).

Para assegurar que os nutrientes sejam ingeridos, digeridos, absorvidos e transportados às células do organismo, podem ser incluídos na dieta certos “aditivos”. Apesar de não fornecerem nutrientes, esses aditivos são incluídos em quantidades e concentrações ótimas, com a finalidade de obter um melhor balanceamento dos nutrientes (CODEX ALIMENTARIUS, 2011).

Mas, a realidade em relação ao uso de aditivos tem mostrado a ocorrência de um uso indiscriminado, na busca da melhoria no desempenho dos animais, e assim, os órgãos fiscalizadores oficiais, nacionais e internacionais, se viram obrigados a aprofundar as pesquisas nos efeitos metabólicos dos aditivos empregados na alimentação dos animais. Esses órgãos têm listado periodicamente os aditivos permitidos e os proibidos, haja vista a possibilidade de efeitos metabólicos indesejáveis como a mutagênese e/ou a carcinogênese (Butolo, 2002).

Nesse contexto, os extratos de plantas, principalmente os óleos funcionais podem ser utilizados como aditivos alternativos, os quais podem melhorar o metabolismo dos microrganismos produzindo aumento na concentração de propionato no rúmen, bem como melhoria na digestibilidade dos nutrientes da dieta (Kubo et al., 1993). Sustentado pela necessidade do mercado, o desenvolvimento de alimentos funcionais tem relação direta com três fatores: a conscientização por parte dos consumidores sobre o papel positivo ligado a uma dieta com alimentos deste gênero; os órgãos reguladores então cientes a respeito dos benefícios trazidos à saúde pública; e em relação ao governo, este está ciente do potencial econômico adquirido por estes produtos (Amoratii et al., 2001). Mas vale ressaltar que nem todo aditivo natural é totalmente livre de princípios ativos que sejam nocivos aos animais, bem como grande parte dos aditivos sintéticos e/ou artificiais são altamente benéficos ao metabolismo dos animais, havendo raros casos de disfunções metabólicas em virtude de seu emprego (Anjo, 2004).

1.2. Uso de óleos funcionais na alimentação de ruminantes

O número crescente de trabalhos científicos publicados nas últimas duas décadas sobre a relação entre dieta e incidência de doenças crônicas, tem destacado o extraordinário potencial dos alimentos para manter ou melhorar o estado de saúde do ser humano. Como resultado destas evidências científicas, surgiu no Japão na década de 1980 os chamados “alimentos funcionais”, que consistem na incorporação de determinados ingredientes biologicamente ativos, presentes nos alimentos em baixas concentrações (Van Amburgh, 1997).

Os alimentos funcionais são definidos como aqueles que fornecem aos consumidores, benefícios adicionais aos da alimentação, podendo reduzir o risco de doenças (Santos et al., 2008). Os alimentos funcionais objetivam reforçar a dieta com a ingestão de substâncias cujo efeito salutar não é suficiente através da dieta habitual (Van Amburgh, 1997).

Novas tendências em relação à alimentação justificam o desenvolvimento de alimentos funcionais, pois muitos hábitos adquiridos pelos consumidores mostram a busca por dietas mais saudáveis, e que apresentem melhor balanço de nutrientes (Burt, 2004).

Atualmente, quando se trata de nutrição de ruminantes, algumas substâncias naturais têm se destacado, principalmente no sentido de modificar a fermentação ruminal, e dentre essas, destacam-se os óleos funcionais, pois, além de suas propriedades energéticas, apresentam diferentes funções podendo ser anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano, entre outras (Chao, 2000; Amaratii et al., 2001). Essas substâncias apresentam um grande potencial para alimentação animal, principalmente de ruminantes, e tem sido uma alternativa de produto natural, com características que demonstram potencial para serem estudados como elementos que influenciam fermentação ruminal (Benchaar et al., 2007; Calsamiglia et al., 2007).

O processo de aquecimento contínuo produz o envelhecimento do óleo, promovendo reações de polimerização nos constituintes insaturados. Assim, o cardanol se torna um dos mais importantes e promissores componentes do LCCC. Apresenta peculiaridades em suas características químicas e físico-químicas, especialmente no que se refere à posição da dupla ligação, permitindo inúmeras funções, além das usuais do anel aromático (Figura 1).

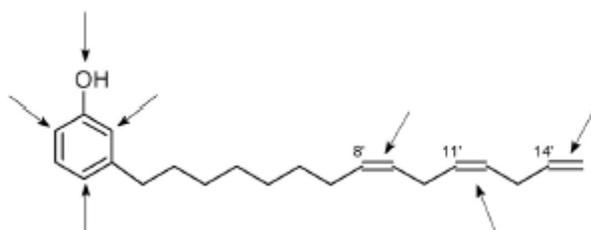


Figura 1. Principais sítios reacionais da molécula do cardanol

1.2 Uso do líquido da casca da castanha de caju na alimentação de ruminantes

Pertencente à família Anacardiaceae, o nome científico do cajueiro é *Anacardium occidentale* L. O fruto do cajueiro, popularmente conhecido como castanha de caju, é um aquênio de comprimento e largura variável, casca coriácea lisa, mesocarpo alveolado, repleto de um líquido escuro quase preto, cáustico e inflamável, chamado de líquido da casca da castanha do caju (LCCC) ou *cashew nut shell liquid* (CNSL), como é conhecido internacionalmente (Mazzetto et al., 2009; Skinkai et al., 2012).

O caju apresenta produção expressiva no Nordeste e ocupa lugar de destaque entre as frutas tropicais, sendo a castanha o verdadeiro fruto, a qual contém no interior a amêndoa (López et al., 2012; Shinkai et al., 2012). Na indústria do cajueiro, durante o processo de beneficiamento da amêndoa, do mesocarpo se produz o LCCC, com várias aplicações industriais (Menon et al., 1985; Gedam & Sampathkumaran, 1986; Trevisan et al., 2006).

No Brasil o processamento é semiautomático, com menor desempenho e geração de grande quantidade de LCCC como subproduto. No mercado internacional, este produto tem sido adquirido para processamento do óleo, que posteriormente é revendido a preços elevados, pois é usado na produção de resinas e polímeros. Assim, os preços do LCCC são muito variados e dependem exclusivamente da política adotada pelo cartel das multinacionais (Menon et al., 1985).

Destaca-se que o LCCC representa aproximadamente 25% do peso da castanha e é considerado um subproduto de agronegócio do caju, de baixíssimo valor agregado (Mazzetto et al., 2009). Este líquido é uma das fontes mais ricas de lipídeos fenólicos não-isoprenoides de origem natural (López et al., 2012), e seus principais componentes podem ser vistos na Figura 2.

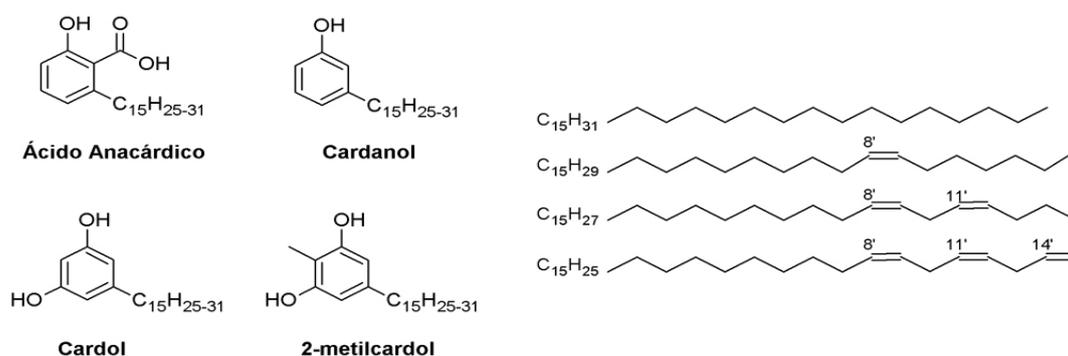


Figura 2. Principais constituintes do LCCC

De acordo com Mazzetto (2009) e López et al. (2012), diferentes processos podem ser empregados para a obtenção do LCCC: extração a frio (prensas), extração por solvente, processo térmico-mecânico (*hot oil process*) em que o próprio LCCC quente é usado como meio para aquecer as castanhas *in natura* a aproximadamente 190 °C. Nessa temperatura, a casca externa se rompe e libera os alquilfenóis presentes na casca porosa (mesocarpo), seguido da remoção da casca interna, permitindo a recuperação das amêndoas ou, ainda, extração supercrítica com CO₂, e o rendimento é praticamente 100%.

Quando submetido as altas temperaturas (180°C), o ácido anacárdico sofre reação de descarboxilação convertendo-se a cardanol (Figura 3), produzindo o denominado LCCC técnico (Kumar et al., 2002).

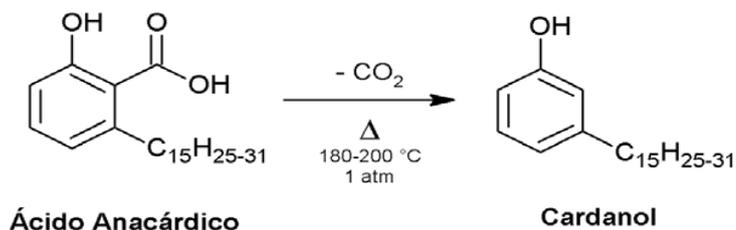


Figura 3. Processo de descarboxilação do ácido anacárdico

Em função do conhecimento das suas inúmeras potencialidades, diversos produtos derivados do LCCC devem começar a surgir nos próximos anos, especialmente no ramo de surfactantes, polímeros e aditivos. Outras áreas permanecem pouco exploradas, especialmente às vinculadas às ciências biológicas e farmacêuticas, para a produção de materiais biologicamente ativos com aplicação como inseticidas, agrotóxicos e medicamentos (Souza et al., 1991; Kubo et al., 1993; Burt, 2004).

O LCCC é também conhecido por exibir uma ampla atividade biológica, pelos seus componentes antimicrobianos seletivos (Kubo et al., 1993). Pode-se atribuir esse efeito principalmente ao ácido anacárdico, ao cardol e ao cardanol, os quais são todos derivados do ácido salicílico (grupo alquil C-15).

A afinidade dos grupamentos hidroxilas com os fosfolipídios por meio de pontes de hidrogênio é o fator determinante para a alta ligação do LCCC às camadas lipídicas presentes nas membranas bacterianas. Uma vez incorporados às membranas celulares, os lipídios fenólicos danificam as proteínas de membrana, provocando aumento de permeabilidade, e consequente saída dos componentes e lise dos microrganismos (Kubo et al., 1991; Lima et al., 1998; Burt et al., 2004).

Outra propriedade dos lipídios fenólicos do LCCC é a influência no processo de fermentação ruminal, que foi demonstrado pela primeira vez, em experimentos *in vitro*, por Van Nevel et al. (1971), sendo o ácido anacárdico o principal determinante desse efeito (Correia et al., 2006; Watanabe et al., 2010). Após o trabalho de Van Nevel et al. (1971) não ocorreram mais estudos com LCCC na alimentação de ruminantes até a década passada. Mais recentemente, por meio de experimentos *in vitro*, Watanabe et al. (2010) demonstraram uma

redução no número de bactérias Gram positivas, em oposição à multiplicação das bactérias Gram negativas (*Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*) com o uso de LCCC.

Em experimentos *in vitro* utilizando meio ruminal, Watanabe et al. (2010) obtiveram redução de até 70% na metanogênese e aumento de 44% na concentração de propionato pelo uso de LCCC. Posteriormente, Shinkai et al. (2012) encontraram a redução de 38% na produção de metano, em vacas alimentadas com feno e concentrado (relação 60:40), utilizando 4 g de LCCC/100 kg de peso corporal como aditivo.

Ainda em experimento *in vitro*, usando o LCCC em dietas com diferentes teores de concentrado, Diaz (2013) encontrou resposta quadrática para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), um aumento linear no pH ruminal e a queda linear na concentração de amônia no rúmen.

Os efeitos positivos observados *in vitro* têm impulsionado as pesquisas *in vivo*, no sentido de validar os efeitos positivos do uso de LCCC na dieta de ruminantes, tanto para produção de carne, como de leite.

Referências Bibliográficas

- AMORATII, R.; PEDULLI, G. F.; VALGIMIGLI, L. Absolute rate constants for there action of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, p.2142-2146, 2001.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p.145-154, 2004.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D.R.; CHIQUETTE, J.; CHOUINARD, P.Y. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p.886-897, 2007.
- BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...**Campinas: CBNA, p.167-182, 2003.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-253, 2004.

- BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: CBNA, 2002, 430p.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M; CARDOZO, P.W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2580-2595, 2007.
- CHAO, S.C.; YOUNG, D.G.; OBERJ, C.G. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 5, p. 639-649, 2000.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Procedural manual**. Rome: FAO/ONU, 20 Ed., 2011, 196p.
- CORREIA, S.J.; DAVID, J.P. DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de anacardiceae. **Química Nova**, v.29, n. 6, p.1287-1300, 2006.
- GEDAM, P.H.; SAMPATHKUMARAN, P.S. Cashew nut shell liquid: extraction, chemistry and applications. **Progress in Organic Coatings**, v.14, n. 2, p.115-157, 1986.
- KUBO, I.; MUROI, H; HIMEJIMA, M; YAMAGIWA, Y; MERA, H; TOKUSHIMA, K.; OTHA, S.; KAMIKAWA, T. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 41, n. 6, p. 1016-1019, 1993.
- KUMAR, P.P; PARAMASHIVAPPA, P.J; VITHAYATHIL, P.J. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid. **Journal Food and Chemistry**, v. 50, n. 16, p.4705-4708, 2002.
- LIMA, J.R.; GONÇALVES, L.A.G. Caracterização da fração lipídica de amêndoas de castanha de caju fritas e salgadas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.16, n. 2, p.131-138, 1998.
- LÓPEZ, C A. A; LIMA, K. R. S; MANNO, M. C; TAVARES, F.B; NETO, D. L.; JESUS, M.L.C; VIANA, M.A.O; FONSECA, L.A.B. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 4, p.1027-1035, 2012.
- 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.
- MENON, A.R.R; PILLAI, C.K.S.; SUDHA, J.D.; MATHEW, A.G. Cashew nut shell liquid – Its polymeric and other industrial products. **Journal Science of Industry and Research**, v.44, p.324-338, 1985.

- PIMENTEL, P.G.; REIS, R.B.; LEITE, L.A.; CAMPOS, W.E.; NEIVA, J.N.M.; SATURNINO, H.M.; COELHO, S.G. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.959-966, 2012.
- 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.
- SOUZA, M. P.; MATOS, M.E.Q.; MATOS, F.J.A. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras. **Imprensa Universitária/UFC**, Fortaleza, 1991, 416p.
- TREVISAN, M.T.S.; PFUNDSTEINB.; HAUBNERR. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food Chemical Toxicology**, v.44, n. 2, p.188-97, 2006.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I.; HENDERICKX, H. K. Effect of fatty acid derivatives on rumen methane and propionate in vitro. **Applied Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 365–366, 1971.
- WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M. FORESTER R. J.; KOBAYASHI, Y. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5258-5267, 2010.

II - OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se neste estudo avaliar o uso de líquido da casca de castanha de caju (LCCC) na dieta de vacas em lactação e seus efeitos sobre o consumo da matéria seca e dos nutrientes, a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, a produção e a composição química e de ácidos graxos do leite.

III - Valor alimentício da dieta, na produção e composição do leite em vacas da raça Holandesa, alimentadas com concentrado contendo líquido da casca de castanha de caju

RESUMO: O presente estudo foi conduzido como objetivo de avaliar o uso do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) na alimentação de vacas leiteiras, em terço médio da lactação, e seus efeitos sobre o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, a produção e a composição química e de ácidos graxos do leite. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, com peso médio de 600 ± 43 kg distribuídas em um delineamento em quadrado latino com quatro períodos experimentais de 21 dias. Os tratamentos experimentais consistiram na inclusão de LCCC no concentrado utilizado na alimentação das vacas, como segue: 1) Controle (CON), 0%; 2) LCCC a 0,02% (0,02); 3) LCCC a 0,04% (0,04) e 4) LCCC a 0,06% (0,06). A dieta utilizada foi formulada para conter 17% de proteína bruta e 1,6 Mcal de EL_L /kg de MS. O consumo de matéria seca e dos nutrientes não foi influenciado pelos tratamentos. O consumo médio diário da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro foi de 21,3; 3,6 e 6 kg/dia, respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes também não foram influenciados pela inclusão do LCCC na dieta, e os valores médios foram 64,8; 67,5; 70,2; 59,2; 73,7% para MS, MO, PB, FDN e EE, respectivamente. O valor médio de NDT (68,8%) não foi influenciado pelos tratamentos. A produção corrigida para 4,0 % de gordura (23,8 kg/dia), a composição do leite, a contagem de células somáticas e a concentração média de N ureico no leite (17,1 mg/dL) não foram influenciadas pelo uso do LCCC. Em relação à composição percentual dos ácidos graxos do leite, o uso de LCCC reduziu linearmente o C6:0, produziu resposta quadrática sobre o C13:1n-5, e aumento linear para o C16:1n-7. Os resultados mostram que o uso de 7 g/vaca/dia pode otimizar a composição de ácidos graxos do leite.

Palavras-chave: cardanol, cardol, metilcardol, polifenóis

III - Feed value of the diet, in the milk yield and composition milk in the holstein cows, feeded with concentrate containing cashew nut shell liquid

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate the use of cashew nut shell liquid (CNSL) in diets of mid-lactating dairy cows and its effects on dry matter and nutrients intake, apparent digestibility of nutrients, milk yield, and chemical and fatty acids milk composition. Four Holstein cows (600 ± 43 kg) were used, and the statistical design was a Latin square 4x4 with 21 d of experimental period. The experimental treatments consisted of CNSL inclusion in the concentrate used to feed the cows, as follows: 1) CNSL 0% - Control (CON), 2) CNSL 0.02% (0.02), 3) CNSL 0.04% (0.04) and 4) CNSL 0.06% (0.06). The diet was formulated to contain 17% crude protein and 1.6 Mcal NE_L /kg of DM. Dry matter and nutrients intake were not affected by treatments. Average daily intake was 21.3, 3.6 and 6.0 kg/d for dry matter, crude protein and neutral detergent fiber, respectively. Total apparent digestibility of nutrients also were not affected by the inclusion of CNSL in diet, and the mean values were 64.8, 67.5, 70.2, 59.2 and 73.7 for DM, OM, CP, NDF and EE, respectively. The mean TDN value (68.8%) was not affected by treatments. Milk yield corrected for 4.0% fat (23.8 kg/day), milk composition, somatic cell count and the average concentration of milk urea nitrogen (17.1 mg/dL) were not affected by the use of CNSL. Regarding the percent composition of the milk fatty acids, the use of LCCC linearly decreased C6:0, produced a quadratic response on C13:1n-5, and a linear increase on C16:1n-7. The results show that using CNSL up to 7 g/cow/d may optimize the milk fatty acid composition.

Keywords: cardol, cardanol, metilcardol, CNSL, polyphenols

Introdução

Os ionóforos são antibióticos amplamente utilizados para alterar a população microbiana do rúmen, no sentido de melhorar a eficiência do metabolismo energético e proteico, e diminuir a incidência de distúrbios digestivos, aumentando a produtividade animal. No entanto, a segurança dos ionóforos é constantemente questionada e a Regulamentação 1831/2003/EU proibiu sua utilização na alimentação animal em países da União Europeia. Além disso, a busca por maior segurança alimentar tem aumentado e o mercado consumidor está cada vez mais exigente neste sentido. Esses fatos têm levado cientistas da área de nutrição de ruminantes a pesquisar substâncias naturais capazes de modular a fermentação ruminal.

De acordo com Tager & Krause (2011), os óleos funcionais têm sido a alternativa de produto natural com características que demonstram potencial para serem estudados como moduladores da fermentação ruminal. Óleos funcionais são todos os óleos que, além de suas propriedades energéticas, apresentam diferentes funções, podendo ser anti-inflamatório, antioxidante, antimicrobiano, entre outras.

No entanto, na literatura, grande parte dos trabalhos de investigação com extratos vegetais no metabolismo dos ruminantes se refere a atuação no ambiente ruminal (Molero et al., 2004; Newbold et al., 2004; Castillejos et al., 2006). Poucas são as informações referentes ao uso de extratos vegetais como aditivo promotor de crescimento, ou como melhorador da produção de leite.

Sabe-se que o líquido da casca da castanha de caju (LCCC) contém quantidade significativa de ácido anacárdico, que tem atividade contra as bactérias Gram positivas (Kuboet al., 1993). Em estudos realizados *in vitro*, Watanabe et al. (2010) constataram que o uso do LCCC inibe a produção de metano em 70% e estimula a produção de propionato em 44%, resultados que podem contribuir para a mitigação de metano, aumento na eficiência energética e aumento na eficiência produtiva, mas que carecem de comprovação em experimentos *in vivo*.

A utilização de monensina para animais confinados recebendo grandes quantidades de cereais causou aumento na eficiência alimentar de 6,4% (resultados de 228 ensaios). Já na utilização para animais em pastejo, foi observada melhora de 13,5% em ganho de peso para animais suplementados em relação ao controle (Goodrich et al., 1984). Esses valores sugerem que bactérias ruminais de animais em pastagem, são mais sensíveis a monensina do que bactérias de animais recebendo grandes quantidades de concentrado.

Posteriormente, trabalhando com vacas da raça Holandesa, canuladas no rúmen, Shinkai et al. (2012) encontraram aumento na produção ruminal de propionato e redução de 38% na produção de metano, em vacas alimentadas com feno de alfafa e concentrado (relação 60: 40), utilizando 4g de LCCC/100 kg de peso corporal como aditivo.

A maior parte das pesquisas publicadas com o uso de LCCC para ruminantes tem sido realizada *in vitro*, dificultando sua adoção na nutrição animal, fazendo-se necessários estudos *in vivo*. Assim, esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o uso de líquido da casca da castanha de caju (LCCC) em dietas de vacas em lactação e seus efeitos sobre o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, a produção e a composição química e de ácidos graxos do leite.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no período de outubro de 2011 a janeiro de 2012, no setor de Bovinocultura de Leite, da Fazenda Experimental de Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizadas quatro vacas da raça Holandesa, múltíparas, com média de 100 ± 20 dias de lactação, peso médio de 600 ± 43 kg. Esses animais foram distribuídos em um quadrado latino 4 x 4, com períodos de 21 dias cada, sendo 16 dias para adaptação e 5 dias para coleta de amostras e de dados.

As vacas foram mantidas em uma instalação de alvenaria, em sistema de estabulação, em baias individuais cobertas, com comedouros de alvenaria e bebedouros automáticos individualizados.

A dieta dos animais experimentais foi formulada para conter 17% de proteína bruta e 1,6 Mcal de EL_L /kg de MS, atendendo as exigências das vacas em lactação conforme preconizado pelo NRC (2001) e mostrado na Tabela 1. Os tratamentos consistiram na inclusão de quatro teores de LCCC no concentrado: sem inclusão de LCCC no concentrado (CON); inclusão de 0,02% de LCCC no concentrado (0,02); inclusão de 0,04% de LCCC no concentrado (0,04); inclusão de 0,06% de LCCC no concentrado (0,06).

As vacas foram alimentadas duas vezes ao dia, após as ordenhas, para evitar o mínimo possível de sobras e servir como um manejo pós-ordenha favorecendo a higiene do aparelho mamário.

A partir do 4º dia até o 21º dia de cada período experimental, todas as vacas receberam a dose diária de 20 g de dióxido de titânio, como indicador externo, por meio da mistura com com pequena porção de concentrado. Para a determinação da digestibilidade aparente total dos nutrientes foi efetuada a coleta de fezes na ampola retal, do 10º ao 14º dia de cada período, quatro vezes por dia em intervalos de três horas (9, 12, 15 e 18 horas).

Foram realizadas amostras semanais dos alimentos fornecidos, e as sobras de alimento e foram pesadas e amostradas diariamente, sendo após, congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriores análises bromatológicas. Foi feita a coleta homogênea das amostras de sobras, resultando em uma única amostra por animal por período.

Tabela 1 – Composição química e bromatológica dos alimentos e da dieta experimental (na base da MS).

Alimento	Nutriente ¹ (%)						ELL (Mcal/kg MS)	Dieta (%)
	MS	MM	PB	EE	FDN	CNF		
Silagem de milho	31,0	5,3	7,5	2,4	50,3	34,5	1,40	40,0
Milho moído	89,9	1,3	9,5	4,4	15,2	69,6	1,80	32,8
Farelo de soja	88,6	7,3	49,9	1,7	15,7	25,4	1,80	20,1
Farelo de trigo	88,0	5,5	17,8	3,2	40,1	33,4	1,60	4,4
Sal mineral	99,3	99,3	-	-	-	-		2,7
Dieta, %	66,2	6,9	16,9	2,8	30,0	43,7	1,58	100,0

¹MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; ELL: energia líquida de lactação.

Posteriormente, as amostras de alimentos, sobras e fezes foram analisadas para a determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas (AOAC, 1990), e fibra em detergente neutro (FDN), segundo Van Soest et al. (1991).

Após a secagem as amostras foram processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal/período, e armazenadas em frascos de polietileno para posterior análise.

O teor de dióxido de titânio foi determinado segundo Myers et al. (2004).

A percentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas foi determinada pela equação descrita por Sniffen et al. (1992).

$$\text{NDT} = \text{PBD} + \text{CHOD} + (\text{EED} \times 2,25)$$

Em que: PBD= proteína bruta digerida, CHOD= carboidratos totais digeríveis, EED= extrato etéreo digerido.

A produção de leite foi aferida diariamente no sistema coletor de leite nas ordenhas da manhã e da tarde. A produção de leite corrigida para 4% de gordura foi obtida usando a equação: $\text{PLG} = (0,4 \times \text{Produção leite (kg/dia)}) + [(15 \times (\text{Produção gordura} \times \text{Produção leite}/100))]$, conforme recomendação do NRC (2001). Nos 15º e 16º de cada período experimental foram coletadas amostras de leite compostas proporcionalmente de acordo com a produção da manhã e da tarde de todas as vacas. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos devidamente identificados contendo bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol) para conservação, e posterior análise de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e contagem de células somáticas. Estas análises foram realizadas no laboratório do Programa de Análises de Rebanhos Leiteiros da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa em Curitiba –PR.

Outras duas amostras de leite por animal/período foram coletadas no 15º e 16º dias de cada período experimental, acondicionadas em frascos plásticos e congeladas a -20°C para posterior análise de nitrogênio ureico no leite (Marshet al., 1965).

Para a análise de ácidos graxos, a gordura foi extraída do leite após descongelamento das amostras e foi esterificada conforme método 5509 da ISO (1978), utilizando KOH/metanol e n-heptano.

Os ésteres de AG foram analisados em cromatógrafo gasoso ThermoScientific® (Thermo Fisher Scientific Inc., USA), modelo Trace GC Ultra, equipado com injetor automático TriPlus, com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP-7420 (100 m, 0,25 mm e 0,39 μm od, 100% cianopropil ligado). As vazões dos gases (White Martins, Praxair Technology Inc., USA) foram de 1,4 mL/min para o gás de arraste (H_2), 30 mL/min para o gás auxiliar (N_2), 30 mL/min e 300 mL/min para o H_2 e para o ar sintético da chama, respectivamente.

As temperaturas do injetor e do detector foram 230°C e 240°C , respectivamente. A temperatura da coluna foi programada a 65°C por 4 minutos, seguido pela primeira rampa de $16^\circ\text{C}/\text{min}$ até atingir 185°C , permanecendo assim por 12 minutos.

A segunda rampa foi programada, de 20°C/min até 235°C, permanecendo nesta temperatura por 9 minutos. O tempo total da análise foi de 35 minutos. As áreas dos picos foram determinadas pelo software Chrom Quest, versão 5.0. As injeções foram realizadas em triplicatas e os volumes de injeção foram de 2 µL.

A identificação dos AG foi baseada na comparação dos tempos de retenção aos de padrões de ésteres metílicos de AG. A quantificação de CLA e dos ésteres metílicos de AG das amostras foi feita por meio da comparação com tempos de retenção da mistura de padrões Sigma-Aldrich®. A quantificação (mg de ácido graxo/g de lipídios totais) foi feita usando o éster metílico do ácido tricosanoico como padrão interno (23:0), como descrito por Joseph & Ackman (1992). A concentração dos AG foi obtida por meio da utilização de um fator de correção teórico (Visentainer, 2012) para o detector de ionização de chama (FID).

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o procedimento ANOVA, seguido da análise de regressão polinomial utilizando o SAS (2004), para cada variável independente. Os dados foram analisados considerando-se o delineamento de quadrado latino 4 x 4, e o valor de $\alpha = 0,05$. O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}, \text{ onde:}$$

Y_{ijk} = variáveis observadas, μ = média geral; A_i = efeito do animal i , variando de 1 a 4; P_j = efeito do período j , variando de 1 a 4; T_k = efeito do tratamento k , variando de 1 a 4; e_{ijk} = erro aleatório. Todos os efeitos foram considerados fixos, exceto o efeito de animal que foi considerado aleatório.

Resultados e Discussão

Os resultados para consumo de nutrientes são apresentados na Tabela 2. O consumo de MS, tanto em valor absoluto (21,3 kg MS/dia), com em percentual do peso corporal das vacas (3,6%), não foi influenciado ($P < 0,05$) pela inclusão de LCCC na dieta (Tabela 2). O consumo de matéria seca estimado pelo NRC (2001), para vacas nas mesmas condições é da ordem de 20,6 kg/dia, muito próximo do observado no experimento.

Tabela 2 – Consumo de matéria seca (CMS), de proteína bruta (CPB), de fibra em detergente neutro (CFDN), de FDN (%PC), de extrato etéreo (CEE) e de carboidratos não fibrosos (CCNF).

	Tratamentos				P<	Média	EPM
	COM	0,02	0,04	0,06			
CMS, kg	20,5	21,7	22,2	20,8	0,11	$\hat{Y} = 21,3$	0,50
CMS, %PC	3,4	3,7	3,6	3,5	0,13	$\hat{Y} = 3,6$	0,10
CPB, kg	3,5	3,4	3,9	3,5	0,12	$\hat{Y} = 3,6$	0,10
CFDN, kg	5,8	6,2	6,3	6,0	0,20	$\hat{Y} = 6,0$	0,20
CFDN, %PC	1,3	1,4	1,4	1,4	0,22	$\hat{Y} = 1,4$	0,10
CEE, kg	0,6	0,4	0,8	0,6	0,20	$\hat{Y} = 0,6$	0,20
CCNF, kg	9,0	9,3	9,5	9,3	0,19	$\hat{Y} = 9,3$	0,20

O efeito dos óleos funcionais no CMS ainda não está plenamente esclarecido. Segundo Madrid et al. (2003), Denli et al. (2004) e Alcicek et al. (2004) a adição de óleos funcionais na dieta maximizou o CMS pelos animais. Da mesma forma, Cardozo et al. (2005), testando os efeitos do óleo funcional (*Capsicum annum*), observou aumento na ingestão de água e de matéria seca. Os autores afirmam que este efeito é benéfico em situações em que o CMS é comprometido, como em animais sob estresse térmico ou na ocasião da chegada ao confinamento, período em que os animais são submetidos a condições de estresse do transporte e desembarque, geralmente seguido de atividades de manejo nos currais.

Os consumos de PB e de FDN não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de LCCC das dietas, apresentando média de 3,5 e 6,0 kg/dia. Considerando que para vacas em lactação o consumo de matéria seca é um indicador extremamente importante para avaliar a qualidade da dieta, os resultados mostram não ter ocorrido limitação ao uso do LCCC no tocante a este parâmetro. Esses resultados também têm sido constatados em várias pesquisas com óleos essenciais (OE). Benchaar et al. (2006) usaram um produto contendo a mistura de óleos essenciais (*Crina Ruminants, Akzo Nobel Surface Chemistry Ltd*) na quantidade de 2 g/vaca/dia na alimentação de vacas em lactação e não observaram efeito sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes, fato confirmado por Benchaar et al. (2007) também com a mistura de óleos essenciais (750 mg/vaca/dia), e por Yang et al. (2007) que utilizaram óleo de alho (5 g/vaca/dia) e de zimbros (2 g/vaca/dia).

Mais recentemente, Tager & Krause (2011) utilizaram dose elevada de OE (10 g/vaca/dia) e também confirmaram esses resultados. No entanto, com vacas de maior produção (48 kg/dia), quando comparadas aos trabalhos anteriores, Tassoul & Shaver (2009)

observaram redução de 7% no consumo de matéria seca durante as primeiras 15 semanas de lactação.

Os coeficientes de digestibilidades aparente dos nutrientes são mostrados na Tabela 3. O coeficiente de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, FDN, CNF e EE não foram influenciados ($P>0,05$) pelo uso de LCCC na dieta, e apresentaram valores médios de 64,8; 67,5; 70,2; 59,2; 76,3 e 73,7, respectivamente. Os valores de NDT observados também não foram influenciados ($P>0,05$) pela utilização de LCCC em diferentes tratamentos, sendo o valor médio igual a 68,8%.

Tabela 3 – Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF), extrato etéreo (EE) e NDT

(%)	Tratamentos				P<	Média	EPM
	COM	0,02	0,04	0,06			
CDAMS	63,5	65,8	64,6	65,1	0,32	$\hat{Y}=64,8$	0,80
CDAMO	67,0	68,3	66,1	68,5	0,39	$\hat{Y}=67,5$	0,80
CDAPB	70,0	69,6	70,6	70,8	0,89	$\hat{Y}=70,2$	0,70
CDAFDN	59,0	60,4	58,2	59,4	0,65	$\hat{Y}=59,2$	0,70
CDACNF	75,4	78,6	74,9	76,5	0,23	$\hat{Y}=76,3$	1,00
CDAAE	74,5	73,9	73,0	73,4	0,68	$\hat{Y}=73,7$	0,60
NDT	67,9	69,7	68,3	69,4	0,37	$\hat{Y}=68,8$	0,60

Os estudos para determinar os efeitos da inclusão de LCCC na dieta de ruminantes estão apenas no início, e dessa forma, poucas informações estão disponíveis. Em pesquisa recente, Shinkai et al. (2012) conduziram dois experimentos e verificaram a ocorrência de variabilidade do efeito da inclusão de LCCC na dieta sobre a digestibilidade da MS, sendo que, no primeiro não houve efeito, mas no segundo, a inclusão de LCCC reduziu ($P<0,05$) a digestibilidade da MS de 75,6 para 72,3%.

Por outro lado, acredita-se que alguns óleos funcionais possam estimular a produção de saliva e dos sucos gástrico e pancreático, beneficiando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos nutrientes (MELLOR, 2000). O estímulo da produção de enzimas e secreções intestinais é um dos efeitos estudados na tentativa de explicar a melhora da digestibilidade. Porém, pode existir a contribuição de outros mecanismos nesse processo.

A mesma variabilidade observada para digestibilidade da MS foi observada em relação à digestibilidade da PB e da FDN (Shinkai et al., 2012). Em relação à PB, enquanto em um experimento houve o direcionamento ($P=0,076$) para queda na digestibilidade aparente (68,2 para 63,2%); entretanto, já em outro experimento ($P=0,063$) houve aumento na digestibilidade

aparente da PB (67,4 para 73,1%) com a inclusão de LCCC na dieta dos animais. Em relação à digestibilidade aparente da FDN, os autores não observaram diferença em um experimento, e tendência ($P=0,054$) de aumento no outro (57,3 para 60,8%). Shinkai et al. (2012) sugeriram que a queda na digestibilidade da MS e da PB, em bovinos de corte, foi decorrente da redução na abundância de algumas bactérias importantes no rúmen (*B. fibrisolvens* e espécies de *Ruminococcus*) com o uso do LCCC.

A variabilidade nos resultados relacionados à digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta quando se usa o LCCC podem ser, em parte, explicados pelo efeito inibitório que os componentes fenólicos presentes no LCCC produzem sobre microrganismos (Kubo et al., 1993), podendo o mesmo ocorrer no ambiente ruminal.

As bactérias provenientes de dieta rica em concentrado, produziram menos acetato, mais propionato e menos metano, que bactérias provenientes da dieta exclusiva de volumoso, sendo as taxas de acetato:propionato 1,75:1 e 3,75:1, respectivamente. A menor produção de metano das bactérias provenientes da dieta com alto teor de concentrado foi provavelmente por causa da menor população de microrganismos metanogênicos existentes *in vitro*, assim como *in vivo*, pela sua inibição pelo pH ruminal.

Em experimentos *in vivo*, com vacas em lactação, os estudos também mostram essa variabilidade com uso de óleos essenciais. Enquanto Benchaar et al. (2006) observaram aumento na digestibilidade da FDA, com o uso de óleos essenciais, outros autores (Benchaar et al., 2007; Yang et al., 2007; Tager & Krause, 2011) não observaram qualquer efeito sobre a digestibilidade da MS e dos nutrientes da dieta. Mas mesmo com esses óleos, o número de experimentos ainda é pequeno e a maior parte realizada *in vitro*, e ainda é importante destacar, que os óleos essenciais são compostos por mais de 100 componentes individuais (Guillén e Manzanos, 1998).

Os resultados referentes à produção e composição do leite são mostrados na Tabela 4. Não houve diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos em relação à produção de leite (PL: 25,8 kg/dia), e produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLC; 23,8 kg/dia). A composição do leite também não foi influenciada ($P>0,05$) pela inclusão do LCCC na dieta, e os teores médios de proteína, gordura e lactose foram 3,1; 3,5 e 4,6%; respectivamente. As produções diárias de gordura (0,91 kg), de proteína (0,81 kg) e de sólidos totais (3,16 kg) não foram influenciadas ($P>0,05$) pelos tratamentos. A contagem de células somáticas do leite (CCS) também não foi influenciada ($P>0,05$) pelo uso de LCCC, e o valor médio em base logarítmica foi igual a 5,1.

O nitrogênio ureico no leite (17,1 mg/dL) não foi influenciado ($P>0,05$) pelo uso do LCCC. Trata-se de um indicativo do catabolismo proteico nos tecidos e no rúmen e indica se a concentração de proteína da dieta está adequada. Segundo Torrent (2000), os valores devem estar entre 12-18 mg/dL, em vacas com adequada ingestão de matéria seca.

Shinkai et al. (2012) utilizaram 4 g de LCCC/vaca/dia, atingindo aproximadamente 30 g de LCC/dia, uma dosagem muito superior aquela utilizada no presente experimento. Não há na literatura trabalhos publicados com resultados de produção e composição do leite com uso de LCCC na dieta de vacas.

Tabela 4 – Produção e composição do leite de vacas recebendo dietas com níveis crescentes de líquido da casca da castanha do caju (LCCC)

	Tratamentos				P<	Média	EPM ¹
	CON	0,02	0,04	0,06			
PL (kg/dia) ²	25,7	26,0	25,3	26,3	0,51	$\hat{Y}=25,8$	0,60
PLC (kg/dia) ³	23,9	23,2	23,4	24,5	0,32	$\hat{Y}=23,8$	0,50
	Teor (%)						
Proteína	3,07	3,10	3,17	3,14	0,68	$\hat{Y}=3,12$	0,40
Gordura	3,55	3,56	3,50	3,55	0,54	$\hat{Y}=3,54$	0,20
Lactose	4,63	4,67	4,63	4,59	0,32	$\hat{Y}=4,63$	0,20
Sólidos totais	12,30	12,23	12,25	12,18	0,44	$\hat{Y}=12,24$	0,20
CCSlog10 ⁴	3,60	5,40	4,70	4,30	0,38	$Y=5,10$	0,30
	Produção (kg/dia)						
Proteína	0,788	0,806	0,802	0,826	0,28	$\hat{Y}=0,81$	0,00
Gordura	0,912	0,926	0,886	0,934	0,38	$\hat{Y}=0,91$	0,00
Lactose	1,189	1,214	1,171	1,207	0,46	$\hat{Y}=1,17$	0,00
Sólidos totais	3,160	3,180	3,099	3,203	0,52	$\hat{Y}=3,16$	0,20
NUL ⁵ (mg/dL)	16,3	18,1	16,7	17,4	0,40	$\hat{Y}=17,1$	0,30

¹EPM: erro padrão da média. ²PL: produção de leite. ³PLG: produção de leite corrigida para 4% de gordura.

⁴CCSlog10 = Contagem de células somáticas. ⁵NUL = Nitrogênio ureico no leite.

Nos poucos trabalhos realizados com vacas em lactação e uso de EO, de forma geral, não há resposta em relação à produção de leite, mas podem ocorrer alterações na composição. Benchaar et al. (2006) e Yang et al. (2007) trabalharam com vacas com produção superior (32 kg) às usadas no presente experimento e não observaram diferenças na produção e composição do leite, e sobre a produção diária de gordura, proteína, lactose e sólidos totais. Em outras pesquisas com óleos essenciais, apesar de não ocorrer alteração na produção, ocorreu aumento na concentração de lactose no leite (Benchaar et al., 2007), e redução na concentração de proteína no leite (Tassoul & Shaver, 2009).

A composição dos ésteres de ácidos graxos do leite é mostrada na Tabela 5. O uso do LCCC produziu a redução linear que chegou a 41% no ácido graxo caproico (C6:0; $P < 0,02$), a resposta quadrática em relação ao tridecanoico (C13:1n-5; $P < 0,03$), e aumento linear que chegou a 44% no palmitoleico (C16:1n-7; $P < 0,04$). Não há resultados de pesquisas publicados com a composição de ácidos graxos do leite de vacas que receberam LCCC na dieta, e mesmo em relação ao OE, também não há publicações.

Quanto à biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen, a formação dos produtos e o seu fluxo para os intestinos, é dependente do ambiente ruminal e sua população predominante. Conforme Kelly et al. (1998) encontraram maiores níveis de CLA (ácido linoleico conjugado ou *cis-9, trans-11*) no leite em animais a pasto do que em confinamento, como no presente estudo. O que corrobora com Dhiman et al. (1999), tais pesquisadores também verificaram que vacas à pasto produziram leite com concentração de CLA superior ao de animais recebendo dieta com relação volumoso: concentrado em 50:50. Entretanto, existem contradições quanto à resposta no conteúdo de CLA no leite em função do nível de concentrado na dieta.

Tabela 5 – Composição em ácidos graxos da gordura do leite de vacas recebendo dietas com níveis crescentes de LCCC (mg/g de lipídeos totais).

Ácido graxo	CON	0,02	0,04	0,06	P<	ER	EPM
4:0	3,35	3,49	3,29	3,04	0,86	Y=3,3	0,17
6:0	2,46	2,41	1,79	1,45	0,02	*	0,13
8:0	6,00	6,00	6,00	6,00	0,57	Y=6,1	0,09
10:0	17,00	13,00	14,00	15,00	0,19	Y=14,9	0,21
12:0	21,00	21,00	21,00	21,00	0,70	Y=21,1	0,02
13:0	1,12	1,13	0,90	0,80	0,29	Y=1,0	0,01
13:1n-5	0,91	1,32	1,08	1,00	0,03	**	0,49
14:0	77,00	78,00	77,00	78,00	0,27	Y=77,0	4,70
14:1n-5	8,52	11,06	12,73	12,72	0,33	Y=11,3	0,13
15:0	7,00	7,00	8,00	8,00	0,50	Y=7,5	0,11
15:1n-5	4,29	4,65	4,05	4,70	0,22	Y=4,4	0,80
16:0	325,00	314,00	319,00	321,00	0,45	Y=319,8	0,01
16:1n-7	8,35	11,27	11,70	12,06	0,04	* **	0,01
16:1n-5	4,36	4,12	4,05	4,42	0,23	Y=4,2	1,40
17:0	9,40	10,70	8,00	9,50	0,29	Y=9,4	0,04
17:1n-7	1,10	1,70	1,80	1,70	0,47	Y=1,4	0,05
18:0	111,50	121,00	106,00	103,00	0,53	Y=110,4	0,40
18:1n-9t	31,70	32,00	32,20	32,60	0,48	Y=31,2	4,60
18:1n-9c	309,00	311,00	321,00	279,00	0,25	Y=305,0	18,30
18:2n-6c	36,00	32,00	32,00	29,00	0,39	Y=32,3	4,20
18:3n-3	4,00	4,00	4,00	3,00	0,38	Y=3,8	0,07
CLA: 9c, 11t	5,56	5,19	6,82	5,43	0,79	Y=5,8	0,10
10t, 12c	2,00	2,00	2,00	3,00	0,65	Y=2,3	0,06
Outros	3,60	3,60	3,60	3,50	0,16	Y=3,6	0,08

* $Y = 2,13 - 0,29 X$. ** $Y = 1,09 - 0,19 X^2$. *** $Y = 11,39 + 0,47 X$.

Esses resultados são importantes, pois o ácido graxo palmitoleico (C16:1n-7), um ômega 7 monoinsaturado, que recentemente recebeu o nome de lipocina, surge como um novo sinalizador produzido pelo tecido adiposo, que protege ratos do efeito prejudicial de um longo tempo consumindo dietas ricas em lipídeos.

Foi demonstrado que o nível mais elevado de C16-1n-7 no soro suprime a lipogênese hepática, e melhora significativamente a ação sistêmica da insulina e o metabolismo da glicose (Caoet al., 2008). Se esses resultados se aplicarem aos humanos, o palmitoleico pode servir como um poderoso marcador biológico para monitorar susceptibilidade a doenças metabólicas e prover uma estratégica terapêutica para prevenção e tratamento de diabetes e esteatose (Caoet al., 2008).

Considerando que a síntese ruminal e passagem de CLA para o duodeno é função da concentração de lipídeos poli-insaturados e das alterações ocorridas no ambiente ruminal pelas manipulações dietéticas, a suplementação com lipídeos é uma alternativa viável de aumentar a produção de CLA no rúmen e sua concentração nos tecidos e leite dos ruminantes.

De acordo com Kalscheur et al. (1997), encontraram aumento do fluxo do ácido C18:1 trans-11 no intestino delgado de vacas de leite suplementas com gordura, independente da fonte e, que na utilização do óleo de girassol rico em ácido linoleico, o aumento era resultado da incompleta hidrogenação de ácidos graxos no rúmen. Já outros pesquisadores, WONSIL et al. (1994), encontraram que o fluxo duodenal de C18:1 trans-11 em dietas suplementadas com óleo de peixe ou óleo de soja era quatro vezes maior que para a dieta controle ou com sebo, sendo este aumento, atribuído à incompleta hidrogenação dos ácidos graxos insaturados.

Possivelmente, os ácidos graxos C18:2 proveniente de óleos apresenta maior acessibilidade aos microrganismos do rúmen que os oriundos de grãos e forrageiras. Desta forma, adicionalmente ao ambiente (pH) e espécies microbianas presentes, a quantidade de ácidos graxos insaturados disponíveis é importante fator afetando o acúmulo de C18:1 trans-11 no rúmen. Assim, a adição de gorduras à dieta de ruminantes pode levar o aumento na concentração de ácidos graxos insaturados, incluindo o CLA, na carne e no leite dos ruminantes os quais são caracterizados por possuírem propriedades específicas benéficas à saúde humana, além fornecer nutrientes para o metabolismo (CORL et al., 2001). Os AG poli-insaturados, como os da série ômega-3 e o ácido linoleico conjugado (CLA), estão relacionados à redução na incidência de doenças cardiovasculares, prevenção e tratamento de tumores (TAPIERO et al., 2002) e prevenção da osteoporose (ALBERTAZZI & COUPLAND, 2002).

Na Tabela 6 são mostrados os resultados para composição em ácidos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados, razão AGS/AGI, e n-3/n-6 na gordura do leite. Os resultados mostram que não houve efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre esses parâmetros.

Tabela 6 – Composição (mg/g de lipídeos totais) em ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), e razão AGS/AGI e n-3/n-6 da gordura do leite de vacas recebendo dietas com LCCC

	CON	0,02	0,04	0,06	P<	ER	EPM
AGS	580,33	586,32	564,98	566,79	0,29	Y=574,6	0,04
AGMI	367,32	377,12	387,61	348,20	0,19	Y=370,1	0,18
AGPI	40,00	36,00	36,00	32,00	0,70	Y=36,0	0,05
AGS/AGI	1,42	1,41	1,32	1,49	0,23	Y=1,4	0,57
n-6/n-3	9,50	8,50	8,50	10,67	0,40	Y=9,3	0,34

Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) que compõe a gordura do leite são derivados da corrente sanguínea que passam pela glândula mamária. O conteúdo desses ácidos graxos, portanto, é bastante influenciado pelo perfil das fontes lipídicas provenientes da dieta (Soglia, 2003).

No presente trabalho, as fontes lipídicas não foram efetivas em aumentar a proporção dos AGPI, até satisfazer uma relação máxima de 4:1 para a razão n-6/n-3 (HMSO, 1994).

Conclusões

O uso de LCCC em níveis de até 7 g/vaca/dia não altera o consumo de matéria seca, a digestibilidade dos nutrientes da dieta, a produção e a composição do leite de vacas com produção média próxima de 26 kg de leite/dia, mas pode melhorar a composição de ácidos graxos do leite.

Os óleos funcionais representam a nova geração em produtos melhoradores da fermentação ruminal.

A manutenção de baixos valores de pH no rúmen através da utilização de dietas com alto concentrado, pode se constituir em estratégia para a proteção de fontes suplementares de lipídeos insaturados (óleos) contra a biohidrogenação, possibilitando que mais ácidos graxos insaturados cheguem ao intestino, e poderão então ser absorvidos e incorporados à gordura do leite.

Referências Bibliográficas

- ALBERTAZZI, P.; COUPLAND, K. 2002. Polyunsaturated fatty acids. Is there a role in postmenopausal osteoporosis prevention? **Maturitas**, v.42, n.1, p.13–22.
- ALÇIÇEK, A., BOZKURT, M. and ÇABUK, M. The effects of a mixture of herbal essential oil, an organic acid or a probiotic on broiler performance. South African **Journal of Animal Science** 34: p.217-222. 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**.15 ed. Arlington, V.A., 1990. 1298 p.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D. R., CHIQUETTE, J.; CHOUINARD, P. Y. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 886–897, 2007.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T. D.; CHOUINARD, P. Y. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 11, p. 4352–4364, 2006.
- BESSA, R.J.B., SANTOS-SILVA, J., RIBEIRO, J.M.R., PORTUGAL, A.V. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, v.63; p. 201-211, 2000.
- CAO, H.; GERHOLD, K.; MAYERS, J.R.; WIEST, M.M.; WATKINS, S.M.; HOTAMISLIGIL, G. Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. **Cell**, v. 134, n. 6, 933-944, 2008.
- CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow *in vitro* systems. **Journal of Dairy Science**, v.89, n. 7, p.2649-2658, 2006.
- CORL, B.A.; BAUMGARD, L.H.; DWYER, D.A. The role of D9 - desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v.12, n.11, p.622– 630, 2001.
- DAWSON, K.A.; BOLING, J.A. Monensin resistant bacteria in the rumen of calves on monensin containing and unmedicated diets. **Application Enviromental Microbiology**., v.46, p. 160-164, 1983.

- DENLI, M., OKAN, F., ULUOCAK, A., M. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*). **South African Journal of Animal Science**. 34: p.174-179, 2004.
- DHIMAN, T. R., ANAND, G. R., SATER, L. D. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, v. 82, n. 10, p. 2146-2156, 1999.
- GOODRICH, R.D.; GARRET, J.E.; GAST, D.R. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v.58, p. 1484-1498, 1984
- GUILLÉN, M. D.; MANZANOS, M. J. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. Plant. **Food Chemistry**, v. 63, n. 3, p. 373–383, 1998.
- HMSO. **Report on Health and Social Subjects**. Departments of Health. Nutritional aspects of cardiovascular disease. England, London, v. 46, p. 37-46, 1994.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO**. Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids. Method ISO 5509. Geneva: 1978. p. 1-6.
- JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R.G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n.3, p. 488-506, 1992.
- KALSCHEUR, K. F., TETER, B. B., PIPEROVA, L. S., ERDMAN, R. A. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 80, p. 2104-2114, 1997.
- KELLY, M. L., KOLVER, E. S., BAUMAN, D. E., VAN AMBURGH, M. E., MULLER, L. D. 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1630-1636, 1998.
- KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA M. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 6, p.1016-1019, 1993.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumos ou concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 254-260, 2001.

- LÓPEZ, C.A.A.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C.; TAVARES, F.B.; FERNANDES NETO, D.L.; JESUS, M.L.C.; VIANA, M.A.O.; FONSECA, L.A.B. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.1027-1035, 2012.
- MADRID J., MEGIAS M.D., HERNANDEZ F. Determination of short chain volatile fatty acids in silages from artichoke and orange by-products by capillary gas chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 79, 580-584. 2003.
- MARSH, W. H.; FINGERHUT, B.; MILLER, H. Automated and manual direct methods for the determination of blood urea. **Clinical Chemistry**, v. 11, n. 6, p. 624-627, 1965.
- MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, v.16, p.18-21, 2000.
- MOLERO R.; IBARS M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; LOSA, R. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology**, v. 114, n. 1-4, p. 91-104, 2004.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, n. 1, p.179-183, 2004.
- NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R.; WALLACE, R.J. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.114, n. 1-4, p. 105-112, 2004.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. Ed. Washington, D.C.: national academic press, 2001.381p.
- SAS – SAS/STAT. **Statistical Analysis System**. User's guide, version 9.0 (Compact Disc). Cary, 2004.
- 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.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.S. 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.

- TAGER, L.R.; KRAUSE, K.M. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, n. 5, p.2455-2464, 2011.
- TAPIERO, H.; NGUYEN, B.; COUVREUR, P. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy, Paris*, v.56, n.5, p.215–222, 2002.
- TASSOUL, M. D.; SHAVER, R. D. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1734–1740, 2009.
- TORRENT, J. Nitrogênio ureico no leite e qualidade do leite. In: **Simpósio Internacional sobre a Qualidade do Leite**, 2000, Curitiba, p. 27-29.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n. 10, p.3583-3597, 1991.
- VISENTAINER, J.V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v.35, n.2, p.274-279, 2012.
- WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M. FORESTER R. J.; KOBAYASHI, Y. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-enhancing agent for ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p.5258-5267, 2010.
- YANG, W. Z.; BENCHAAAR, C.; AMETAJ, B. N.; CHAVES, A. V.; HE, M. L.; MCALLISTER, T. A. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5671–5681, 2007.
- WONSIL, B. J., HERBEIN, J. H., WATKINS, B. A. Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. *Journal of Nutrition*, v. 124, p. 556-565, 1994.