

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola De Veterinária
Programa De Pós-Graduação Em Zootecnia

Ludhiana Rosa Ferreira

**ALUMINOSSILICATOS EM DIETAS DE BOVINOS DE CORTE E INDICADORES
NA ESTIMATIVA DE CONSUMO TOTAL, DIFERENCIADO E DIGESTIBILIDADE
DA MATÉRIA SECA**

Belo Horizonte
2020

Ludhiana Rosa Ferreira

**ALUMINOSSILICATOS EM DIETAS DE BOVINOS DE CORTE E INDICADORES
NA ESTIMATIVA DE CONSUMO TOTAL, DIFERENCIADO E DIGESTIBILIDADE
DA MATÉRIA SECA**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientadora: Profa. Dra. Eloísa de Oliveira
Simões Saliba

Belo Horizonte
2020

F383a

Ferreira, Ludhiana Rosa, 1989-

Aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte e indicadores na estimativa de consumo total, diferenciado e digestibilidade da matéria seca / Ludhiana Rosa Ferreira.-2020
105 f.

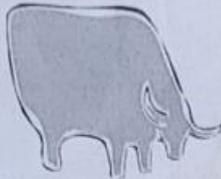
Orientadora: Eloísa de Oliveira Simões Saliba

Tese (Doutorado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Doutora.

Bibliografias: f. 36 – 40; f. 63 – 66; f.83 – 84; f.100 – 101.

1. Bovino - Teses - 2. Nutrição animal - Teses – 3. Digestibilidade - Teses - I. Saliba, Eloísa de Oliveira Simões – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE (31)-3409-2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail cpzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE TESE DE LUDHIANA ROSA FERREIRA

Às 09:30min do dia 17 de fevereiro de 2020, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado em reunião no dia 10/10/2019, para julgar, em exame final, a defesa da tese intitulada: Aluminaossilicato em dietas de espinho de leite, indicadores na estimativa de consumo total e diferenciado, e digestibilidade de matéria seca., como requisito final para a obtenção do Grau de **Doutor em Zootecnia** área de concentração **Nutrição de Ruminantes**.

Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Prof.^a Eloisa de Oliveira Simões Saliba, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Tese, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento da tese, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Eloisa de Oliveira S. Saliba</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Filipe Aguiar e Silva</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Hermilys M. de Sá</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Clarinda Fracis A. Américo</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Ângela Maria Quintão Lana</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)
 Reprovado (a)

Para concluir o Doutorado, o(a) candidato(a) deverá entregar 10 volumes encadernados da versão final da tese acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da tese apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 17 de fevereiro de 2020.

Assinatura dos membros da banca:

Eloisa de Oliveira S. Saliba
Filipe Aguiar e Silva
Hermilys M. de Sá

Clarinda Fracis A. Américo
Ângela Maria Quintão Lana

Prof.^a Ângela Maria Quintão Lana
Coordenadora do Colegiado de
Pos-Graduação em Zootecnia
Ângela

(Vide Normas Regulamentares da defesa de Tese no verso)

(Este documento não terá validade sem assinatura e carimbo do Coordenador)

Doutorado/Atadefesa.doc

Ludhiana Rosa Ferreira

**ALUMINOSSILICATOS EM DIETAS DE BOVINOS DE CORTE E INDICADORES
NA ESTIMATIVA DE CONSUMO TOTAL, DIFERENCIADO E DIGESTIBILIDADE
DA MATÉRIA SECA**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientadora: Profa. Dra. Eloísa de Oliveira
Simões Saliba

Banca examinadora

Clarindo Inácio de Aparecida Queiroz

Filipe Aguiar e Silva

Angela Maria Quintão Lana

Hemilly Cristina Menezes de Sá

Belo Horizonte
2020

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Fátima e Marcos, a meu irmão Marquinhos e a meu marido, Luiz pela paciência, incentivo e compreensão.

À minha orientadora, Eloísa de Oliveira Simões Saliba, pela oportunidade, confiança, paciência e ensinamentos dados.

Aos professores, Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa Clarindo Inácio, Aparecida Queiroz pela ajuda fundamental durante o experimento.

À UFV Campus Florestal por prover a realização de todo o meu trabalho experimental.

Aos funcionários do setor de zootecnia da UFV, campus Florestal pela receptividade, ajuda na condução dos experimentos, pela dedicação e companheirismo; com sua ajuda, o experimento se tornou muito mais agradável.

Aos colegas do GIL: Cecília, Filipe, Hebiene, Henrique e Jaqueline pela amizade, ajuda e conhecimento compartilhados.

Aos funcionários do laboratório de Nutrição Animal: Fabiana, Gabriela e Toninho pela ajuda nas análises e pela escuta dos desabafos e frustrações.

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Departamento de Zootecnia por proporcionarem meu desenvolvimento acadêmico-profissional.

À Universidade Federal de Viçosa-Campus Florestal por ter cedido o espaço e os animais para a realização do experimento.

À CAPES (Coordenação de apoio à pesquisa de ensino superior) pela concessão da bolsa de estudos.

À empresa VerdeAgritech pela doação da *Beefplus*.

A todos que acreditaram e confiaram em mim e que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Martin Luther King)

RESUMO GERAL

O objetivo do primeiro artigo foi investigar o efeito de diferentes teores de um produto elaborado, a partir do aluminossilicato glauconita, de nome comercial *Beefplus* sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, metabolismo de compostos nitrogenados, pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), derivados de purina, eficiência e produção de proteína microbiana em dietas de bovinos de corte. Cinco bovinos machos da raça Nelore, fistulados no rúmen, foram distribuídos em um Quadrado Latino 5 × 5, composto por cinco tratamentos (inclusões de 0.0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% de aluminossilicatos, com base na MS da dieta) e cinco períodos experimentais de 15 dias, com o total de 75 dias de experimento. A dieta basal era composta por 40% de silagem de milho e 60% de concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja. A adaptação à dieta ocorreu do 1º ao 10º dia de cada período; nos cinco dias posteriores (do 11º ao 15º dia) foram realizadas as coletas totais de fezes e, no último dia (15º) coletavam-se as amostras de líquido ruminal para a análise de pH e nitrogênio amoniacal e procedia-se à coleta “spot” de urina para a determinação das concentrações de alantoína, ácido úrico e creatinina. Durante o período de coleta, foram feitas amostragens dos volumosos e concentrados e das sobras para posteriores análises. Não foi observado efeito dos teores de aluminossilicatos (P>0.05) sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes. Não houve efeito (P>0.05) da adição de aluminossilicatos no metabolismo de compostos nitrogenados. Houve interação (P<0.05) entre o nível de aluminossilicatos e o pH. Nos horários de 4h e 6h, após a alimentação e, na média geral, o pH do tratamento de 2.0% de inclusão de aluminossilicato foi significativamente maior que o tratamento controle. Houve interação (P<0.05) entre o nível de aluminossilicatos e a concentração de N-NH₃, no entanto não houve diferença entre o tratamento controle e as inclusões de aluminossilicatos. Não houve diferença estatística na eficiência de síntese de proteína microbiana (P>0.05), provavelmente, pelo alto coeficiente de variação. Concluiu-se que a adição de aluminossilicatos na dieta melhora o pH, mas não altera o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal. O objetivo do segundo trabalho foi avaliar a produção fecal (PF) e a recuperação fecal (RF), o consumo de matéria seca (CMS) e a digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) estimada pelos indicadores dióxido de titânio (TiO₂) e NANOLIPE® em dietas contendo diferentes níveis de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% de inclusão na MS da dieta). Foram utilizados cinco bovinos Nelore, em um delineamento experimental Quadrado Latino 5 × 5, em esquema de parcelas subdivididas. As parcelas foram os teores de aluminossilicatos e as subparcelas foram os indicadores. O experimento contou com cinco períodos de 15 dias, totalizando 75 dias. Não houve diferença estatística (p<0.05) entre a PF real e a PF estimada por indicadores. Houve interação entre dieta e indicadores na RF. Os indicadores diferiram entre si (p>0.05) na RF, da dieta sem adição de aluminossilicatos, mas foram semelhantes à coleta total. Nas demais dietas, não houve diferença significativa entre as estimativas de RF entre indicadores e entre a RF real. O CMS e a DAMS estimados por indicadores foram semelhantes (p>0.05) aos valores obtidos pela coleta total de fezes em todos os tratamentos. Conclui-se que os indicadores estimaram os parâmetros avaliados satisfatoriamente e que podem ser usados em ensaios de consumo e digestibilidade com bovinos de corte. O terceiro trabalho contou com três experimentos. No primeiro experimento, o objetivo foi avaliar o consumo involuntário (fornecido diretamente no rúmen) de suplemento mineral pelo método do duplo indicador, em dietas contendo diferentes

níveis de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% na MS da dieta). O segundo e o terceiro experimentos tiveram como objetivo avaliar o consumo voluntário de suplemento mineral (o animal consumia o suplemento no cocho *ad libitum*) pelo método do duplo indicador. No primeiro experimento foram utilizados cinco bovinos Nelore, em um Quadrado Latino 5×5 , em um esquema de parcelas subdivididas, visto que as parcelas eram as inclusões de aluminossilicatos e as subparcelas eram os indicadores. No segundo ensaio, foram usados oito bovinos Nelore. O primeiro e o segundo experimentos foram realizados no Brasil, no campus da UFV-Florestal. No terceiro experimento, realizado na Estação Experimental da Universidade da Flórida, nos Estados Unidos, foram utilizadas oito novilhas *Aberdeen Angus*. O delineamento estatístico utilizado, no segundo e terceiro experimentos, foi inteiramente casualizado (DIC). O consumo de mistura mineral real foi semelhante ao estimado pelos indicadores nos experimentos 1 e 2. Entretanto a técnica superestimou em 145% o consumo da mistura mineral no ensaio 3. Conclui-se que os indicadores estimaram o consumo de suplemento mineral com êxito.

Palavras-chave: Aditivos; Dióxido de titânio; NANOLIPE[®]; Nutrição.

GENERAL ABSTRACT

The first study aimed to investigate the effect of different contents of a product elaborated from the aluminosilicate glauconite, of trade name *Beefplus*, on nutrient intake and digestibility, the metabolism of nitrogen compounds, pH, ammonia nitrogen (N-NH₃), purine derivatives, efficiency, and production of microbial protein in the diets of beef cattle. Five Nelore bulls, fistulated in the rumen, were distributed in a 5 × 5 Latin Square, composed of five treatments (inclusions of 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% aluminosilicates, based on the diet DM) and five experimental periods of 15 days, totaling 75 days of experimentation. The base diet consisted of 40% corn silage and 60% concentrate based on cornmeal and soybean meal. Adaptation to the diet occurred from day 1 to 10 of each period. Total feces was collected in the five subsequent (from 11 to 15) and, on the last day (15), samples of ruminal fluid were collected for pH and ammonia nitrogen analysis and urine was "spot" collected to determine the concentrations of allantoin, uric acid, and creatinine. The forage and concentrates, as well as the leftovers, were sampled during the collection period for further analysis. There was no effect of aluminosilicate content (P>0.05) on nutrient intake and digestibility. There was no effect (p>0.05) of the addition of aluminosilicates on the metabolism of nitrogen compounds. Interaction was observed (p<0.05) between the content of aluminosilicate and pH. The pH of the 2.0% aluminosilicate inclusion treatment was significantly higher than the control treatment at 4 and 6 hours after feeding and in the general average. There was interaction (p<0.05) between the content of aluminosilicate and the concentration of N-NH₃. However, there was no difference between the control treatment and the treatments with aluminosilicate inclusions. There was no statistical difference in the efficiency of microbial protein synthesis (P>0.05), possibly due to the high coefficient of variation. In conclusion, the addition of aluminosilicates in the diet improves the pH but does not change nutrient intake and digestibility or the ruminal concentration of ammonia nitrogen. The second study aimed to evaluate fecal output (FO) and recovery (FR), dry matter intake (DMI), and dry matter apparent digestibility (DMAD) estimated by the markers titanium dioxide (TiO₂) and NANOLIPE[®] in diets containing different levels of aluminosilicates (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% inclusion in the diet DM). Five Nelore bovines were used in a 5 × 5 Latin Square experimental design in a split-plot scheme. The plots were the aluminosilicate contents and the split-plots were the markers. The experiment consisted of five periods of 15 days, totaling 75 days. There was no statistical difference (P>0.05) between the real FO and the FO estimated by markers. There was an interaction between diet and markers in FR. The markers differed among themselves (p>0.05) in the FR of the diet with no addition of aluminosilicates, but were similar to total collection. The other diets presented no significant difference between the estimates of FR between markers and between the real FR. The DMI and DMAD estimated by markers were similar (p>0.05) to the values obtained by the total collection of feces in all treatments. In conclusion, the markers estimated the parameters evaluated satisfactorily and can be used in intake and digestibility assays with beef cattle. The third study consisted of three experiments. The first experiment aimed to evaluate the involuntary intake (provided directly in the rumen) of mineral supplement using the double marker method in diets containing different levels of aluminosilicates (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% in the diet DM). The second and third experiments aimed to evaluate the voluntary intake of mineral supplement (the animal consumed the supplement from the trough *ad libitum*) using the double marker method. The first experiment employed five Nelore bovines in a 5 × 5 Latin Square in a split-plot scheme. The plots were the inclusions of aluminosilicates and the subplots were the markers. The second experiment employed eight Nelore bovines. The first and second experiments were conducted in Brazil, at the UFV-Florestal campus. The third experiment, conducted at the Experimental Station of the University of Florida in the United States, employed eight *Aberdeen Angus* heifers. The statistical design used in the second

and third experiments was entirely randomized. The real mineral mixture intake was similar to that estimated by the markers in experiments 1 and 2. However, the technique overestimated the intake of the mineral mixture in experiment 3 by 145%. In conclusion, the markers estimated the intake of the mineral supplement successfully.

Keywords: Additive; Titanium dioxide; NANOLIPE[®]; Nutrition.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Relação entre a produção fecal real e estimada pelo NANOLIPE®.....	71
Figura 2 - Relação entre a produção fecal real e estimada pelo TiO ₂	72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Efeitos dos aluminossilicatos encontrados na literatura.	22
Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte.	45
Tabela 2 - Composição química (%) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte, com base na matéria seca (MS).	45
Tabela 3 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos de corte, com base na MS.	46
Tabela 4 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão do consumo dos nutrientes.	50
Tabela 5 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão da digestibilidade dos nutrientes.	51
Tabela 6 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão do metabolismo de nitrogênio.	51
Tabela 7 - Estimativas das médias de pH ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas com teores crescentes de aluminossilicatos, em diferentes horários.	52
Tabela 8 - Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas com teores crescentes de aluminossilicatos, em diferentes horários.	53
Tabela 9 - Estimativa das médias de excreção de derivados de purinas urinárias e purinas absorvidas, em função dos teores de aluminossilicatos.	54
Tabela 10 - Estimativa das médias de produção e eficiência microbiana, em função dos níveis de aluminossilicato.	54
Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte.	66
Tabela 2 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos de corte, com base na MS.	66
Tabela 3 - Estimativas das médias de produção fecal, em kg.dia ⁻¹ , referência e estimada pelos indicadores NANOLIPE® e TiO ₂ , em função das diferentes inclusões de aluminossilicatos.	70
Tabela 4 - Estimativa das médias de recuperação fecal, em %, real e obtida pelos indicadores NANOLIPE® e TiO ₂ , em função das diferentes inclusões de aluminossilicatos.	71
Tabela 5 - Estimativa das médias de consumo da matéria seca (CMS kg.dia ⁻¹) real e estimada pelos indicadores NANOLIPE® e TiO ₂ em função dos diferentes tratamentos.	72
Tabela 6 - Estimativa das médias de digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS, %) da dieta e estimada pelos indicadores NANOLIPE® e TiO ₂ , em função dos diferentes tratamentos.	73
Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos Nelore, no primeiro experimento.	84
Tabela 2 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos Nelore, com base na MS, no primeiro experimento.	85
Tabela 3 - Composição da mistura mineral fornecida aos bovinos Nelore no primeiro e segundo ensaios.	85
Tabela 4 - Composição bromatológica da dieta experimental fornecida para bovinos Nelore, com base na MS, no segundo experimento,	86

Tabela 5 - Composição bromatológica da dieta experimental fornecida às novilhas <i>Aberdeen Angus</i> , com base na MS, no terceiro experimento.	86
Tabela 6 - Composição da mistura mineral fornecida às novilhas <i>Aberdeen Angus</i> , com base na MS, no terceiro experimento.	87
Tabela 7 - Estimativas de média de consumo involuntário de mistura mineral real e baseado na técnica do duplo indicador, no primeiro experimento.	89
Tabela 8 - Consumo voluntário de mistura mineral real e estimado pela técnica do duplo indicador, no segundo experimento.	90
Tabela 9 - Consumo voluntário de mistura mineral real e estimado pela técnica do duplo indicador, no terceiro experimento.	90

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV	Ácido graxo volátil
Al	Alumínio
B12	Cobalamina
Ca	Cálcio
CDMN	Consumo de matéria natural
CIA	Cinzas insolúveis em ácido
CIDA	Cinzas insolúveis em detergentes ácidos
Cl	Cloro
CMS	Consumo de matéria seca
Co	Cobalto
CR	Consumo real
Cr	Cromo
Cr ₂ O ₃	Óxido crômico
Cu -	Cobre
DAMS	Digestibilidade aparente da Matéria seca
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar
EUA	Estados Unidos da América
F	Flúor
F.D.A.	Food and Drug Administration
FDA	Fibra em detergente ácido
FDAi	Fibra em detergente ácido indigestível
FDN	Fibra em detergente neutro
FDNcp	Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
FDNi	Fibra em detergente neutro indigestível
Fe	Ferro
GMD	Ganho médio diário
HCl	Ácido clorídrico
I	Iodo
K	Potássio
LIPE [®]	Lignina purificada enriquecida
Mg	Magnésio

MM	Mistura mineral
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
MS	Matéria seca
Na	Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaCO ₃	Carbonato de sódio
NANOLIPE [®]	Lignina purificada enriquecida em nanopartículas
NH ₄ ⁺	Amônio
Ni	Níquel
P	Fósforo
PF	Produção fecal
PF	Recuperação fecal
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por Milhão
S	Enxofre
Se	Selênio
Si	Silício
TiO ₂	Dióxido de titânio
TNT	Tecido não tecido
UV	Ultravioleta
V	Vanádio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Aluminossilicatos	19
2.1.1 Estrutura, classificação e propriedades dos aluminossilicatos.....	19
2.1.2 Efeitos dos aluminossilicatos sobre a fermentação ruminal	21
2.1.3 Intoxicação com Alumínio.....	24
2.1.4 Capacidade dos aluminossilicatos em adsorver micotoxinas	25
2.1.5 Eliminação de gases poluentes	26
2.2 Minerais.....	27
2.3 Indicadores	29
2.3.1 Uso de indicadores para a estimativa do consumo, digestibilidade e produção fecal.....	29
2.3.2 Dióxido de Titânio (TiO ₂).....	30
2.3.3 NANOLIPE®	31
REFERÊNCIAS	34
3 ALUMINOSSILICATOS NO CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E FERMENTAÇÃO RUMINAL DE BOVINOS DECORTE.....	41
3.1 Introdução.....	43
3.2 Material e métodos	44
3.2.1 Caracterização da área experimental	44
3.2.2 Animais, delineamento experimental e dietas	44
3.2.3 Análises químicas das amostras e cálculos.....	47
3.2.4 Análises Estatísticas.....	48
3.3 Resultados	50
3.3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes	50
3.3.2 Características da fermentação ruminal	51
3.3.3 Derivados de Purinas, produção e eficiência microbiana	53
3.4 Discussão.....	55
3.4.1 Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e metabolismo de compostos nitrogenados	55

3.4.2	Características da fermentação ruminal.....	57
3.4.3	Derivados de Purinas, produção e eficiência microbiana.....	58
3.5	Conclusão.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
	4 INDICADORES NA ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DA	
	MATÉRIA SECA DE BOVINOS NELORE.....	63
4.1	Introdução.....	64
4.2	Material e métodos.....	65
4.2.1	Local.....	65
4.2.2	Instalações, animais e delineamentos.....	65
4.2.3	Dietas, aluminossilicatos e fornecimento da alimentação e dos indicadores.....	65
4.2.4	Determinação das variáveis.....	67
4.2.4.1	Produção fecal.....	67
4.2.4.2	Digestibilidade aparente e estimada por indicadores.....	68
4.2.4.3	Consumo real e estimado por indicadores.....	68
4.2.5	Análises Químicas.....	68
4.2.6	Análises Estatísticas.....	69
4.3	Resultados.....	70
4.3.1	Produção e recuperação fecal.....	70
4.3.2	Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca.....	72
4.4	Discussão.....	74
4.4.1	Produção e recuperação fecal.....	74
4.4.2	Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca.....	75
4.5	Conclusão.....	77
	REFERÊNCIAS.....	78
	5 INDICADORES NA ESTIMATIVA DE CONSUMO DIFERENCIADO DE	
	SUPLEMENTO MINERAL.....	80
5.1	Introdução.....	81
5.2	Material e métodos.....	83
5.2.1	Local.....	83
5.2.2	Instalações, animais e delineamentos.....	83
5.2.3	Dietas e fornecimento da alimentação e dos indicadores.....	84
5.2.4	Determinação do consumo de mistura mineral.....	88
5.2.5	Análises Químicas.....	88

5.2.6 Análises Estatísticas.....	88
5.3 Resultados	89
5.3.1 Avaliação do consumo diferenciado de sal por meio da técnica do duplo indicador.....	89
5.4 Discussão.....	91
5.4.1 Avaliação do consumo diferenciado de sal por meio da técnica do duplo indicador	91
5.5 Conclusão	92
REFERÊNCIAS	93

INTRODUÇÃO GERAL

A lucratividade da venda de carne bovina é estimada por fatores internos e externos à economia, como efeitos do clima, exportação e variação do dólar. Produtos de origem de animal têm alta elasticidade de demanda, isto é, quanto mais alto o preço, menor o consumo.

Para manter a viabilidade do sistema, é importante avaliar estratégias que possam diminuir o custo de produção, como, por exemplo, aumentar a eficiência para alimentar os animais. O controle da dieta é usado para aperfeiçoar a fermentação ruminal, a qual influencia todos os processos produtivos.

O fornecimento de nutrientes de forma adequada cria um ambiente que permite melhorar a atividade microbiana, balancear a proteólise e desaminação ruminal e diminuir a emissão de gases do efeito estufa, de modo a minimizar o desperdício de nutrientes e maximizar o seu uso pelos ruminantes.

Os aluminossilicatos são compostos que apresentam características físicas e químicas que melhorariam o uso da dieta pelos animais. A “Beefplus” é um produto comercial, composto por glauconita, um aluminossilicato de cor verde, do grupo da mica, formado de modo autógeno e encontrada em grande quantidade na Serra da Saudade, localizada no Centro-Oeste mineiro (PIZA *et al.*, 2011).

Em estudos em nutrição animal, nem sempre é possível obter os dados desejados de forma direta. Desta forma, o uso de indicadores, para estimativa de parâmetros, como produção fecal, consumo e digestibilidade, são importantes nos ensaios em que não é possível realizar a coleta total de fezes (BERCHIELLI; OLIVEIRA; GARCIA, 2005).

Indicadores são compostos usados à determinação qualitativa ou quantitativa de fenômenos fisiológicos, ou nutricionais relacionados à digestão. O indicador é um composto usado como monitor químico (hidrólise e síntese de compostos) e físico (taxa de passagem) sobre a digestão e/ou sobre a produção de metabólitos (OWENS; HANSON, 1992).

Segundo Saliba (2013), um indicador ideal deve possuir propriedades fundamentais, como a fácil determinação, não ser absorvido, não interagir no trato gastrointestinal dos animais e não ser prejudicial aos microrganismos ruminais.

Cada indicador tem uma indicação de uso específico, por exemplo, os indicadores, usados em estudos de taxa de passagem, diferentes dos utilizados para a determinação do consumo. Portanto o estudo dessas substâncias deve ser aplicado a cada caso específico, para avaliar a viabilidade, acurácia e facilidade de aplicação.

Diante do exposto, no primeiro capítulo deste trabalho, o objetivo foi realizar a revisão de literatura sobre os tópicos abordados.

No segundo capítulo, objetivou-se estudar a influência de aluminossilicatos no consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos de corte.

No terceiro capítulo, o objetivo foi estudar a acurácia da estimativa dos indicadores externos NANOLIPE[®] e dióxido de titânio (TiO₂) sobre a produção e a recuperação fecal, o consumo e a digestibilidade da matéria seca

No quarto e último capítulo, o objetivo foi usar a técnica do duplo indicador, para estimar a ingestão diferenciada involuntária e voluntária de mistura mineral, em diferentes raças de bovinos em países diferentes.

REVISÃO DE LITERATURA

1 ALUMINOSSILICATOS

1.1 Estrutura, classificação e propriedades dos aluminossilicatos

Aluminossilicatos são compostos de alumínio, silício e oxigênio, com fórmula geral Al_2SiO_5 e são importantes componentes da argila (WHITNEY, 2002).

São agrupados, nessa classificação, minerais naturais ou sintéticos que compartilham de características, como: metais arranjados em estruturas cristalinas tridimensionais, compostas por átomos agrupados em forma de tetraedros e octaedros ligados aos vértices por átomos de oxigênio (MOORE; REYNOLDS, 1989).

Esses arranjos formam canais e cavidades interconectadas, em que se encontram os íons trocáveis, moléculas de água, sais ou outros adsorvatos (FLEISCHER; MANDARINO, 1995).

Os aluminossilicatos possuem características importantes para os processos industriais, como capacidade de troca catiônica, adsorção de substâncias e propriedades catalíticas, sem perder a estabilidade da estrutura cristalina (LUZ, 1994).

A estrutura cristalina é estável, porque a troca catiônica de átomos de Si^{4+} das folhas tetraédricas por átomos de Al^{3+} , ou de átomos de Al^{3+} por Mg^{2+} nas folhas octaédricas, são substituições isomórficas, isto é, não causam distorção na estrutura das lamelas, por serem átomos de tamanhos similares (BROWN; BRINDLEY, 1980).

A estrutura cristalina dos aluminossilicatos pode trocar 3 ou 4 meq de íons por grama, entretanto essa capacidade não é uniforme entre todas as rochas, visto que a troca catiônica depende de fatores, como a posição dos cátions, que podem estar em locais relativamente inacessíveis (MUMPTON, 1999).

A adsorção de substâncias é reflexo das trocas catiônicas. Essas substituições geram um excesso de cargas negativas, nas camadas dos aluminossilicatos, que é compensado pela adsorção de cátions nas superfícies externas da estrutura (SANTOS, 1975).

Sob condições normais, as cavidades e canais dos aluminossilicatos estão cheios de água e formam esferas hidratadas ao redor de cátions trocáveis. Se a água for removida pelo aquecimento, moléculas que tenham tamanho suficiente para entrar nas cavidades são rapidamente adsorvidas nas superfícies interiores desidratadas (MUMPTON; FISHMAN, 1977).

A área disponível para a adsorção é bastante variável, e alguns aluminossilicatos podem adsorver até 30% de gás, baseados no peso seco da rocha.

Os aluminossilicatos são catalisadores eficientes, porque os canais e cavidades interiores possuem fortes potenciais eletrostáticos, e a aproximação forçada entre moléculas e reagentes provoca o abaixamento da energia de ativação necessário ao fenômeno da catálise (RONG; XIAO, 2002).

Entre os aluminossilicatos mais usados na nutrição, destacam-se as zeólitas e as bentonitas.

As zeólitas são aluminossilicatos hidratados de metais alcalinos e alcalinos terrosos (principalmente sódio, potássio, magnésio e cálcio), cujo arranjo estrutural apresenta cavidades com íons de compensação, como, por exemplo, Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ (LUZ, 1994).

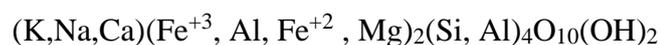
Existem mais de 40 espécies de zeólitas naturais; a clinoptilolita é a mais abundante, tanto nos solos como em sedimentos (MONTÉGUT *et al.*, 2016). Essas rochas são usadas como catalisadoras na indústria petroquímica e a síntese de zeólitas movimenta um mercado multimilionário. Essa rocha é usada desde 1965, no Japão, em ensaios de consumo e digestibilidade (MUMPTON; FISHMAN, 1977).

As bentonitas são rochas argilosas, gordurosas ao tato, muito utilizadas na indústria por suas propriedades de inchamento e geleificação (SAEED, 1996). Na nutrição animal, as bentonitas são usadas principalmente na adsorção de toxinas no trato gastrointestinal (PAPPAS *et al.*, 2014).

A glauconita é um aluminossilicato pouco estudado na nutrição animal, possui cor verde e faz parte do grupo da mica. A quantidade total dessa rocha está estimada em 3,3 bilhões de toneladas (VERDE POTASH, 2014), o que oferece grande potencial, para a exploração comercial de potássio, para uso tanto na agricultura como na pecuária (PIZA *et al.*, 2011).

De maneira geral, a glauconita é um silicato lamelar hidratado de potássio e ferro. As lamelas do mineral são compostas por três folhas (duas tetraédricas e uma octaédrica). Nas folhas octaédricas, há a substituição isomórfica de mais da metade dos íons Al^{3+} por Fe^{2+} (SILVA *et al.*, 2012).

Na glauconita, o cátion interlamelar predominante é o K^+ , podendo haver também os íons Na^+ e Ca^{2+} (SRASRA; TRABELSI--AYEDI, 2000). A glauconita possui a seguinte fórmula química geral (ODIN; FULLAGAR, 1988):



Segundo Hodk *et al.* (2015), a glauconita não tem arestas, seus cristais são redondos e não causam danos ao trato gastrointestinal. Seu tamanho é de 4 Ångströms (Å), o que significa que suas propriedades adsorptivas interagem com íons ou moléculas pequenas (H^+ e $N-NH_3$) e não agem com os macronutrientes da dieta (proteína, carboidrato e lipídeos) e, conforme estudos prévios, a glauconita pode ser incluída em menores quantidades que a zeólita, mantendo os benefícios.

1.2 Efeitos dos aluminossilicatos sobre a fermentação ruminal

Durante a evolução, os ruminantes desenvolveram estruturas anatômicas (pré-estômagos) que permitiram o aproveitamento eficiente dos carboidratos estruturais como fonte energética e compostos nitrogenados não proteicos como substrato para a síntese de proteína (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

As adaptações anatômicas do sistema digestivo dos ruminantes resultaram em melhor utilização da fibra dietética e uma relativa liberdade da necessidade de ingestão de fontes externas de vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais (VAN SOEST, 1994).

O rúmen, uma dessas estruturas anatômicas, é uma câmara de fermentação, em que o animal hospedeiro fornece condições fisiológicas adequadas, como pH, temperatura, anaerobiose e substrato à população de microrganismos simbiotes.

Existem três categorias de microrganismos ativos no interior do rúmen: bactérias, protozoários e fungos. As bactérias constituem de 60 a 90% da biomassa microbiana com 200 espécies (KOZLOSKI, 2017).

No rúmen, ocorrem processos tais como: degradação e utilização de substratos por microrganismos, síntese de biomassa microbiana, formação de ácidos graxos voláteis (AGV), amônia, metano e dióxido de carbono (ALLEN; BRADFORD; HARVATINE, 2005).

Os AGV mais produzidos, durante a fermentação ruminal, são os ácidos acético, propiônico e butírico. A maior parte dessas substâncias é absorvida diretamente no epitélio ruminal.

A velocidade de absorção dos AGV varia, de acordo com o pH, dado que, na faixa entre 5,6–5,8 ocorre maior absorção que em faixas mais elevadas (entre 7,0 e 7,5) (SLYTER, 1976).

O pH ruminal é um parâmetro importante, pois reflete as características da dieta e influencia a fermentação ruminal. Valores de pH ruminal menores que 6,0 resultam em perda acentuada da atividade fibrolítica, com completa interrupção da digestão da fibra em pH entre 4,5 e 5,0.

Segundo Church (1988), o pH do rúmen varia de 5,0 a 7,0 e o limite mínimo para a adequada fermentação da fibra seria de 6,2 (HOOVER *et al.*, 1986).

Já a amônia é o principal elemento do metabolismo dos compostos nitrogenados nos ruminantes (HUNTINGTON; ARCHIBEQUE, 2000). De 60 a 80% do nitrogênio incorporado pelos microrganismos vêm dessa substância e sua presença é fundamental no rúmen, já que as bactérias celulolíticas usam somente a amônia para a síntese de proteína microbiana (SATTER; ROFFLER, 1975).

O metabolismo microbiano ruminal pode se beneficiar com a capacidade de troca iônica dos aluminossilicatos mediante a estabilização do pH ruminal e da captura e liberação de cátions preferenciais (McCOLLUM; GALYEAN, 1983).

Segundo White e Ohlrogge (1983), até 15% do amônio (NH_4^+) disponível no rúmen poderia ser adsorvido, nas estruturas cristalinas das zeólitas, permitindo a liberação gradual do excesso de nitrogênio (N) pela ação regeneradora do íon sódio (Na^+), vindo da saliva, o que contribuiria para melhorar a assimilação do N em proteína microbiana.

Pond, Yen e Varel (1988) relataram que a zeólita se ligava à amônia livre no trato gastrointestinal, impedindo a sua acumulação em níveis tóxicos ao sistema.

A Tabela 1 mostra de forma resumida os efeitos dos aluminossilicatos na concentração de N-NH₃ e no pH ruminal encontrados na literatura que serão discutidos mais adiante.

Tabela 1 - Efeitos dos aluminossilicatos encontrados na literatura.

Autor	Rocha	Espécie	Quantidade	Efeito	
				Concentração de N-NH ₃	pH
Henkem et al., (1984)	Clinoptilolita	Vacas leiteiras	6% MS concentrado	Reduziu	-
Sweeney et al., (1983)	Clinoptilolita	Novilhos	5% MS da dieta	Reduziu	-
Pond et al., (1984)	Clinoptilolita	Cordeiros	2% MS da dieta	Reduziu	-
McCollum e Galyean, (1983)	Clinoptilolita	Novilhos	5% MS da dieta	Reduziu	pH reduziu
Bosi et al., (2002)	Clinoptilolita	Vacas de leite em lactação	1% MS da dieta	Não afetou	Não afetou
Johnson et al., (1988)	Zeólita A sintética	Vacas de leite em lactação	2% MS da dieta	Não afetou	Aumentou o pH em 0,2 Pp*

*Pp= Pontos percentuais.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Hemken, Harmon e Mann (1984) relataram que a suplementação de 6% de clinoptilolita com ureia na ração de vacas leiteiras reduziu significativamente a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). A mesma tendência foi observada pela adição de 5% de clinoptilolita em dietas de novilhos (SWEENEY; POND; MUMPTON, 1984) e cordeiros (POND; MUMPTON, 1984).

Além disso, a Clinoptilolita foi eficaz na diminuição do acúmulo ruminal de amônia da dieta de novilhos alimentados com alto concentrado. Essa redução foi linearmente associada à porcentagem de inclusão de clinoptilolita (McCOLLUM; GALYEAN, 1983).

Entretanto Bosi, Creston e Casini (2002) relataram que o nível de amônia no líquido ruminal não foi afetado pela suplementação de zeólita em 1,0% da dieta em vacas leiteiras em lactação.

Segundo Peterson (1980), a zeólita pode atuar como agente tampão, pois, ao ser introduzida em um ambiente ácido, troca os íons presentes em sua constituição por íons hidrogênio.

Johnson, Sweeney e Muller (1988) demonstraram que o pH ruminal aumentou, quando a zeólita sintética foi adicionada à dieta de vacas leiteiras Holandês em lactação, entretanto a alteração no pH foi de apenas 0,2 unidades e a adição da zeólita sintética, com ou sem NaHCO₃, resultou em efeitos negativos sobre o consumo de ração, a produção e o rendimento de leite e a digestibilidade dos nutrientes.

Os aluminossilicatos tanto naturais como sintéticos podem modificar o padrão de fermentação ruminal, mas a extensão dessas alterações é variável em cada estudo.

Uma das hipóteses que justifica a alteração no padrão de fermentação promovida pelos aluminossilicatos tem a ver com a ligação destes ao NH₄⁺, que disponibilizaria o nitrogênio de forma lenta e mais sincronizada com a disponibilidade de energia no rúmen, o que favoreceria o crescimento microbiano ruminal, melhorando o processo de fermentação ruminal (KATSOULOS *et al.*, 2005).

Alguns trabalhos têm sugerido que os aluminossilicatos podem reduzir a produção de metano e a concentração de protozoários *in vitro* (BARAN *et al.*, 2003; VÁRADYOVÁ; ŠTYRIAKOVÁ; KIŠIDAYOVÁ, 2007).

Segundo Váradyová *et al.* (2006), quando se utilizam técnicas *in vitro*, variáveis, como a dieta dos animais doadores, a adaptação da população microbiana, o tempo de coleta do líquido ruminal, após a alimentação e o grau de anaerobiose alcançado na incubação, podem afetar a produção de gás.

Contudo a inclusão de zeólita, bentonita ou dolomita aos fermentadores, em estudos *in vitro*, tende a diminuir a emissão de metano.

Em um experimento com montmorilonita (um constituinte da bentonita), Dal Pozzo *et al.* (2016) observaram a redução do metano em 24h de estudo, decorrente da menor viabilidade de protozoários responsáveis em abrigar *Archaeas*.

Segundo Wallace e Newbold (1991), os principais efeitos tóxicos da bentonita *in vitro* aos protozoários seriam a ingestão de grãos das rochas e a interferência na superfície celular desses microrganismos, que impedem a movimentação dos cílios e interferem na motilidade.

1.3 Intoxicação com Alumínio

Uma das preocupações do uso de aluminossilicatos como aditivo alimentar é a respeito da estabilidade da rocha no trato gastrointestinal. A liberação de alumínio (Al), em caso de hidrólise, poderia interferir no metabolismo e absorção de fósforo, entre outros minerais (ALLEN, 1984).

Grabherr *et al.* (2009) forneceram zeólita sintética (Zeólita A) nas concentrações de 0, 10 e 20 g/dia, para vacas leiteiras. Os autores observaram alta concentração de alumínio no fluido ruminal (13,84 mmol/L e 14,31 mmol/L) em comparação com o tratamento controle (6,33 mmol/L). O fluxo de alumínio para o duodeno também foi maior (11,5 mmol/L do tratamento com 20 g/dia de zeólita contra 0,3 mmol/L do tratamento controle). A biodisponibilidade de fósforo da dieta e a concentração de fósforo no sangue foram menores. Os autores concluíram que a Zeólita A era instável às variações de pH ruminal.

Todavia as zeólitas naturais podem ser mais estáveis à alteração de pH do trato gastrointestinal. Ilic *et al.* (2007) investigaram a presença de lesão hepatocelular, em vacas leiteiras alimentadas com clinoptilolita em longo prazo e não encontraram diferenças significativas entre os grupos, sugerindo que a inclusão de clinoptilolita em 1,25 e 2,5% nos concentrados não exercem nenhum efeito adverso sobre a função hepática e secreção biliar.

Em um estudo com vacas leiteiras alimentadas com 200 g de zeólita por dia, Karatzia (2010) encontrou que as concentrações de alumínio, no fluido ruminal e no soro sanguíneo, não foram afetadas pela suplementação com clinoptilolita, ao longo do período experimental, indicando a estabilidade da clinoptilolita.

Segundo Efsa Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP, 2013), a máxima inclusão de clinoptilolita na dieta é de 20.000 mg.kg⁻¹ e não há relatos de intolerância nas espécies alvo (suínos, bovinos, equinos, caninos e felinos). A

estabilidade das zeólitas no pH ácido depende da relação Si-Al e, quanto mais elevada for a proporção de silício maior será a estabilidade. A clinoptilolita tem a proporção Si-Al de 5:1 enquanto a zeólita A tem uma razão 1:1 que é o motivo pelo qual a clinoptilolita é mais estável que a zeólita sintética (KARATIZA, 2010).

1.4 Capacidade dos aluminossilicatos em adsorver micotoxinas

Os altos índices de contaminação de grãos com micotoxinas suscitaram o interesse no estudo de substâncias nutricionalmente inertes com capacidade de adsorção, na tentativa de reduzir os efeitos de transferência de compostos tóxicos para os produtos de origem animal (PAPAIOANNOU *et al.*, 2005).

Entre os aluminossilicatos, o uso de bentonitas mostrou resultados muito promissores. Em geral, o processo de adsorção está relacionado à distribuição de cargas, ao tamanho dos poros e à área superficial acessível do adsorvente, bem como à polaridade, à solubilidade e às dimensões moleculares da micotoxina adsorvida.

Os resultados de estudos *in vitro* têm sugerido que a superfície da bentonita tem afinidades e mecanismos de adsorção heterogêneos. No entanto a alta afinidade pela Aflatoxina B1 se deve à formação de ligações fortes por quimissorção e à interação do grupo β -carbonila da aflatoxina B1 com os íons de alumínio da bentonita (PAPPAS *et al.*, 2014).

Os tamanhos moleculares das aflatoxinas variam de 5,18 Å (B1 e B2) a 6,50 Å (G1 e G2). Para serem eficientes na adsorção, os aluminossilicatos devem possuir canais de entrada, suficientemente largos, para permitir a difusão de moléculas de aflatoxina para a estrutura cristalina (HUWIG *et al.*, 2001).

A clinoptilolita possui índices de adsorção de 80%, para as aflatoxinas B1 e G2 em estudos *in vitro*. O processo começa com uma reação rápida que adsorve a toxina dentro do mineral em alguns minutos (DAKOVIĆ *et al.*, 2005).

Os adsorventes minerais têm eficácia menor quando as micotoxinas têm grupos funcionais menos polares. Essa limitação pode ser superada pelo uso de aluminossilicatos quimicamente modificadas. As modificações consistem em alterações das propriedades da superfície, resultando em maior hidrofobicidade, pela troca de cátions estruturais (PAPAIOANNOU *et al.*, 2005).

1.5 Eliminação de gases poluentes

Alguns pesquisadores têm estudado o uso dietético de zeólitas, para a diminuição da emissão de amônia, um estressor ambiental que contribui para problemas persistentes de saúde sob condições de criação intensiva.

Cole, Todd e Parker (2007) relataram que a adição de 5% de zeólita, na dieta de bovinos de corte em confinamento, causou um efeito sodorizante e resultou na diminuição de 28,5% de amônia aérea.

Barrington e El Moueddeb (1995) estudaram a inclusão de zeólita na dieta de suínos em crescimento e observaram a redução da volatilização de nitrogênio e emissão de amônia em 21%.

Saoulidis *et al.* (2007) demonstraram que a suplementação de 2% de clinoptilolita na ração foi acompanhada pela diminuição de 27,1 e 21,3% no nível de amônia no ar, em criação de suínos em crescimento e terminação, respectivamente.

Uma das hipóteses, para a redução de amônia aérea, seria que as zeólitas deslocam a excreção de nitrogênio da urina para as fezes com conseqüente diminuição da ureia que é convertida em amônia (POULSEN; OKSBJERG, 1995). Há, também, redução na concentração de amônia no soro sanguíneo (POND; YEN; VAREL, 1988; SHURSON *et al.*, 1984).

Além disso, Pond, Yen e Varel (1988) observaram que a clinoptilolita reduziu o peso do fígado e do rim de suínos, como conseqüência da redução da concentração de amônia no trato gastrointestinal. Tais observações resultam da ligação direta das zeólitas a amônia, uma vez que a clinoptilolita não tem efeito adverso sobre as bactérias ureolíticas do intestino grosso e sobre a atividade de urease (VAREL; FRYDA; ROBINSON, 1984).

2 MINERAIS

Os minerais participam de componentes estruturais no organismo animal. Atuam em rotas metabólicas, integram biomoléculas e cofatores enzimáticos, ajudam no controle da pressão osmótica, no equilíbrio ácido-base e na regulação da replicação e diferenciação celular (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Esses elementos compõem 5% do peso total do corpo. A deficiência ou excesso impactam negativamente no desempenho produtivo pela alteração do crescimento, da imunidade, da reprodução e de outras funções fisiológicas importantes à vida (LAMB *et al.*, 2008).

Nos ruminantes, os minerais são imprescindíveis à microbiota ruminal, porque ajudam a criar o ambiente ideal para a sobrevivência e manutenção dos microrganismos e alguns íons são necessários à síntese de substâncias, por exemplo, o Cobalto é necessário à síntese de vitamina B12 (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006).

A classificação dos minerais pode ser feita considerando os requerimentos diários (macro e microminerais) ou função vital (essenciais, não essenciais ou tóxicos) (McDOWELL, 2003).

Os macrominerais são exigidos em quantidades superiores a 100 ppm (partes por milhão) e compõem ossos, tecidos e fluidos corporais. Os microminerais, também chamados de traço, são requeridos em doses menores que 100 ppm e são componentes das metaloenzimas, dos cofatores enzimáticos e dos hormônios (McDOWELL, 2003).

Minerais essenciais são elementos que, ao serem completamente retirados da dieta, provocam sintomatologia e, uma vez restabelecido seu fornecimento, cessam os sinais clínicos de deficiência (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Segundo o National Research Council (NRC, 2016) de bovinos de corte, existem 23 minerais essenciais à nutrição de ruminantes. Entre eles, sete são classificados como macrominerais (enxofre- S, cálcio- Ca, fósforo- P, magnésio- Mg, potássio- K, sódio-Na e cloro- Cl) e 16 são agrupados como microminerais (cobre- Cu, cobalto- Co, molibdênio- Mo, zinco- Zn, ferro- Fe, flúor- F, selênio- Se, silício- Si, alumínio- Al, cromo- Cr, vanádio- V, níquel- Ni, iodo- I, arsênico- As, estanho- Sn e manganês- Mn).

Os minerais não essenciais são encontrados em concentrações indefinidas no organismo animal e não têm função fisiológica. Todos os minerais podem ser tóxicos e o grau de toxidez depende do consumo, da espécie, da idade e da categoria animal, exemplos comuns desses casos são: Fe, Se e Mn (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006).

Segundo Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (2000), o fósforo é o elemento comumente mais deficiente no Brasil, e outras deficiências importantes são: Co, Cu, I, Na, Se e Zn.

Para que a elaboração da suplementação mineral seja eficiente, deve-se considerar a composição dos alimentos fornecidos, a fertilidade do solo, a qualidade e o manejo das pastagens, a biodisponibilidade e as relações sinérgicas e antagônicas dos minerais, a categoria animal, o clima e a época do ano (PIRES, 2010). Além disso, deve-se garantir com boas práticas de manejo o consumo da quantidade adequada de mistura mineral (MM).

A avaliação do consumo da MM por animal é complexa. O sal comum (NaCl), incorporado de 30 a 50% da mistura total, é um veículo e, ao mesmo tempo, um limitante da ingestão de outros minerais, uma vez que os bovinos ingerem o suplemento até atingir a necessidade de NaCl (PRADO *et al.*, 2002). Outro problema é o consumo variável entre os animais, em um mesmo lote, seja por impedimento do acesso por hierarquia ou por falta de espaço no cocho (PEIXOTO *et al.*, 2003).

Atualmente, a pesquisa em nutrição visa determinar as exigências minerais, para tornar o oferecimento da MM mais racional, com o intuito de estabelecer o nível ótimo de consumo que diminua os custos de produção e reduza a excreção de elementos inorgânicos no meio ambiente, mantendo o desempenho animal.

3 INDICADORES

3.1 Uso de indicadores para a estimativa do consumo, digestibilidade e produção fecal

Em ensaios de nutrição animal, normalmente, realiza-se a coleta total de fezes e o controle rigoroso do alimento fornecido. Após a mensuração desses dados, ocorre a estimativa da digestibilidade, um parâmetro importante na avaliação do valor nutritivo e qualidade dos alimentos.

No entanto, em alguns casos, como animais em pastejo, a aferição do consumo ou da produção fecal, torna-se inconveniente ou inviável e outras técnicas precisam ser utilizadas, entre elas, o método dos indicadores (PENNING; JOHNSON, 1983).

Os indicadores, também nomeados marcadores, traçadores e substâncias de referência ou indicadoras, são usados para avaliar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem), promovendo estimativas quali-quantitativas de acontecimentos nutricionais e fisiológicos associados ao processo digestivo (OWENS; HANSON, 1992; SALIBA, 1998).

As vantagens da utilização dos indicadores incluem: menor interferência no comportamento animal, simplicidade da coleta, evitar cirurgia para a colocação de cânulas ou o abate dos animais (RODRIGUEZ; SALIBA; GUIMARÃES JÚNIOR, 2006).

Os indicadores também permitem a determinação de informações adicionais, como a taxa de passagem de líquidos e sólidos, a digestibilidade parcial do nutriente ou alimento nos diferentes segmentos do trato gastrointestinal (TGI) (RODRIGUEZ; SALIBA; GUIMARÃES JÚNIOR, 2006) e a possibilidade de estimar o consumo diferenciado (isto é, a ingestão de cada componente da dieta).

Existem dois grupos de indicadores: internos e externos. O primeiro grupo abrange constituintes naturais dos alimentos, que não são digeridos e absorvidos pelos animais, tais como a Sílica, a Lignina, o Nitrogênio fecal, o Cromogênio e as fibras indigestíveis em detergente neutro ou ácido (FDNi e FDAi) (OWENS; HANSON, 1992).

Os indicadores externos não são encontrados nos alimentos, por serem uma substância inorgânica inerte ou um composto orgânico criado e modificado em laboratório. Geralmente é fornecido por via oral ou adicionado às dietas (SALIBA, 1998), a exemplo: óxido crômico, dióxido de titânio, LIPE® e NANOLIPE®.

Um indicador ideal possui características tais como: ser atóxico para o animal e para a população microbiana do TGI; não sofrer nenhuma alteração e não ser absorvido durante o

processo de digestão; ser completamente recuperável nas fezes e possuir um método de quantificação sensível, prático e preciso (HUHTANEN; JAAKKOLA; KUKKINEN, 1995; MAYES; LAMB; COLGROVE, 1986; OWENS; HANSON, 1992; SALIBA, 1998; VALADARES FILHO; MARCONDES, 2009).

A concentração do indicador nas fezes é aferida, após a adaptação à dieta, no caso dos internos ou ao próprio indicador, no caso dos externos. O que define o tamanho do período de adaptação é o alcance do “steady-state”, um patamar de excreção uniforme nas fezes. Quanto mais rápido esse patamar é alcançado, menor é o tempo necessário para a adaptação e melhor é o indicador. Após a adaptação, os ensaios têm duração de três a cinco dias (FERREIRA *et al.*, 2009).

Ao saber a quantidade exata do indicador externo fornecido ou a proporção do interno nos alimentos, é possível, a partir do percentual do indicador nas fezes, estimar a excreção fecal diária do animal, de acordo com a fórmula (VALADARES FILHO; MARCONDES, 2009):

$$PF = (dose\ do\ indicador\ (g)) / (concentração\ nas\ fezes\ (g/g)) * 100$$

Nenhum indicador proposto até hoje pode ser considerado ideal, por não atender a todos os critérios. Entretanto o grau tolerável de erros difere de acordo com a variável a ser medida (OWENS; HANSON, 1992). Portanto cada indicador deve ser desenvolvido e avaliado, para um fim específico, considerando o objetivo da pesquisa, os custos e os métodos de análise.

3.2 Dióxido de Titânio (TiO₂)

O Dióxido de Titânio (TiO₂) é uma alternativa ao uso do indicador tradicional óxido crômico (Cr₂O₃), por não possuir propriedades carcinogênicas, por ter custo mais baixo e por não ter variação de excreção diurna (VALADARES FILHO; PINA, 2006). Além disso, o uso de TiO₂, como aditivo alimentar, é liberado pelo Food and Drug Administration/ FDA (EUA).

O TiO₂ é um pó branco, sem odor ou gosto e insolúvel em água e ácidos diluídos (MOURA *et al.*, 2013). Tem sido usado como pigmento inorgânico em cosméticos, tintas e corantes de alimentos e em bloqueadores solares. O TiO₂ é encontrado, frequentemente, nos solos, mas não nas plantas e foi muito utilizado para estimar consumo de solo pelos animais (HEALY, 1968).

Foi proposto como indicador externo inicialmente por Askew, em 1931, após um estudo com ovinos. Entretanto, nas décadas de 30 e 50, não houve estudos relevantes com a utilização TiO_2 (COLODO; FIGUEIREDO, 2013).

Marcondes *et al.* (2006) avaliaram o consumo diferenciado de concentrado de novilhas mestiças e de bovinos Nelore. Os autores concluíram que o dióxido de titânio forneceu resultados confiáveis quando comparado à ingestão real.

Ferreira *et al.* (2009), utilizaram TiO_2 , em novilhas alimentadas com cana-de-açúcar, para avaliar a digestibilidade dos nutrientes. A pesquisa indicou que esse indicador forneceu resultados semelhantes à coleta total de fezes. Estes autores também concluíram que três dias de coleta de fezes são suficientes para a estimativa adequada da digestibilidade com esse indicador.

Pina *et al.* (2010) compararam as estimativas de consumo e digestibilidade fornecidas por Cr_2O_3 e TiO_2 , em novilhas Nelore alimentadas com cana-de-açúcar hidrolisada, com diferentes teores de cal. Os indicadores produziram resultados similares para as estimativas de consumo, digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados.

Apesar dos bons resultados apresentados pelo uso TiO_2 na literatura, o método de análise desse indicador ainda é sua principal desvantagem. A metodologia tradicional de análise de titânio nas fezes mostra a presença do composto e não as quantidades encontradas (SALIBA, 2013).

3.3 NANOLIPE[®]

Saliba, Rodriguez e Pilo-Veloso (2003) isolaram a lignina de *Eucalyptus grandis* e a enriqueceram com grupamentos fenólicos incomuns na dieta animal e obtiveram o hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, ao qual denominaram LIPE[®] (Lignina Isolada Purificada e Enriquecida).

O LIPE[®] foi utilizado, a princípio, para estudar a produção fecal em coelhos em comparação com a coleta total. A estimativa fornecida pelo LIPE[®] não apresentou diferenças em relação à coleta total. Em seguida, foi realizado um experimento de modo a avaliar a eficiência do LIPE[®] para estudos de consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com Tifton 85. Os resultados foram semelhantes, o coeficiente médio de digestibilidade *in vivo* e obtido pelo LIPE[®] foi de 63,23 e de 64,78% respectivamente (SALIBA; RODRIGUEZ; PILO-VELOSO, 2003).

Em um estudo de caso envolvendo 11 experimentos, conduzido por Saliba *et al.* (2015), cujo objetivo era validar o LIPE[®] como indicador externo para as seguintes espécies: ovinos, caprinos, aves de corte, poedeiras, avestruzes, vacas leiteiras, equinos e bubalinos, os autores encontraram que a taxa de recuperação fecal obtida pelo LIPE[®] varia de 95,8-106,3% e demonstraram que as estimativas encontradas com esse indicador são comparáveis à coleta total de fezes.

Além da eficiência na estimativa da produção fecal, o LIPE[®] apresenta como vantagens o curto período de adaptação, o baixo custo e o método de análise rápido e não destrutivo da amostra.

Após o avanço nos estudos com o LIPE[®], modificações físico-químicas foram sugeridas no processo de fabricação e geraram um novo indicador, o NANOLIPE[®]. Nesse processo, houve redução significativa do tamanho das partículas do LIPE[®] as quais alcançaram a escala nano (10^{-9} m de diâmetro) (SALIBA *et al.*, 2011).

O menor tamanho de partícula permite que a dispersão no TGI seja mais rápida e homogênea. A consequência desse fenômeno é que o “*steady state*” é alcançado mais rapidamente, e o tempo de adaptação e coleta do indicador pode ser diminuído (SALIBA *et al.*, 2011).

Couto Filho (2012) realizaram um experimento para avaliar o tempo de adaptação necessário para o NANOLIPE[®] atingir o equilíbrio de excreção. Esse autor concluiu que o protocolo de utilização do indicador deve ser de dois dias de fornecimento seguido de um único dia de coleta. Para tanto, a amostragem fecal deve ser feita, em quatro pontos equidistantes, ao longo do dia, de modo a eliminar a possível variação diurna na excreção.

Gonçalves (2012) utilizou cinco novilhas mestiças com o objetivo de validar o NANOLIPE[®] como indicador de consumo em bovinos leiteiros. Os resultados obtidos foram comparados a outros três métodos de mensuração de consumo: coleta total (método de referência), proteína bruta fecal e Lignina Klason (em combinação com o NANOLIPE[®]). Não houve diferença entre os métodos testados ($p > 0.05$), fato que validou o NANOLIPE[®] como indicador de consumo.

Também foram determinados a melhor forma e o horário mais adequado de coleta das fezes nos estudos com NANOLIPE[®]. A melhor forma de amostragem das fezes, para as estimativas de consumo com NANOLIPE[®], baseia-se na coleta de alíquotas do bolo fecal eliminado voluntariamente, duas vezes ao dia, o qual deve iniciar 24 horas após o segundo e último fornecimento do indicador (GONÇALVES, 2012).

Tendo em vista o menor tempo de adaptação e coleta do NANOLIPE[®], novos estudos devem ser realizados de modo a validá-lo em todas as espécies de interesse zootécnico.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; HARVATINE, K. J. The cow as a model to study food intake regulation. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 25, p. 523-547, 2005.
- ALLEN, V. G. Influence of dietary aluminum on nutrient utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 3, p. 836-844, Sept. 1984.
- BARAN, M. *et al.* Effect of silicate minerals (zeolite, bentonite, kaolin, granite) on in vitro fermentation of amorphous cellulose, meadow hay, wheat straw and barley. **Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift**, Germany, v. 116, n. 7-8, p. 317-321, July/Aug. 2003.
- BARRINGTON, S.; EL MOUEDDEB, K. Zeolite to control swine manure odours and nitrogen volatilization. *In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ODOR CONFERENCE, 1995, Ames. Proceedings [...]. Ames: Iowa State University, 1995. p. 65-68.*
- BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G. de; GARCIA, A. de V. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 205-211, jul./dez. 2005.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006.
- BOSI, P.; CRESTON, D.; CASINI, L. Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 1, n. 3, p.187-195, 2002.
- BROWN, G. W.; BRINDLEY, G. W. **Crystal structures of clay minerals and their X-ray identification**. London: Mineralogical Society, 1980.
- CHURCH, D. C. **The Ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1988.
- COLE, N. A.; TODD, R. W.; PARKER, D. B. Use of fat and zeolite to reduce ammonia emissions from beef cattle feed yards. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AIR QUALITY AND WASTE MANAGEMENT FOR AGRICULTURE, 2007, Broomfield. Proceedings [...]. Broomfield: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2007. p. 41.*
- COLODO, J. C. N.; FIGUEIREDO, M. R. P. Dióxido de titânio: indicadores externos de fase líquida. *In: SALIBA, E. O. S. Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*. Viçosa: Ed. UFV, 2013. p. 55-70.
- COUTO FILHO, C. C. de C. **Indicadores de digestão total, parcial e síntese de proteína microbiana em bovinos**. 2012. 109 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

- DAKOVIĆ, A. *et al.* Adsorption of mycotoxins by organozeolites. **Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 20-25, Nov. 2005.
- DAL POZZO, M. *et al.* Impacto dos adsorventes de micotoxinas β -glucana ou montmorilonita sobre a fermentação ruminal de bovinos *in vitro*. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 44, n. 1342, p. 1-6, jan. 2016.
- EFSA PANEL ON ADDITIVES AND PRODUCTS OR SUBSTANCES USED IN ANIMAL FEED (FEEDAP). Scientific Opinion on the safety and efficacy of clinoptilolite of sedimentary origin for all animal species. **EFSA Journal**, Parma, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2013.
- FERREIRA, M. de A. *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, ago. 2009.
- FLEISCHER, M.; MANDARINO, J. A. **Glossary of mineral species**. Tucson: Mineralogical Record Incorporated, 1995.
- GHAEMNIA, L. *et al.* Effects of different levels of zeolite on digestibility. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 9, n. 4, p. 779-781, Apr. 2010.
- GONÇALVES, N. C. **Validação do nanolipe como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros**. 2012. 109 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- GRABHERR, H. S. *et al.* Effect of zeolite A on rumen fermentation and phosphorus metabolism in dairy cows. **Archives of Animal Nutrition**, Abingdon, v. 63, n. 4, p. 321-336, 2009.
- HEALY, W. B. Ingestion of Soil by dairy cows. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 11, n. 2, p. 487-499, 1968.
- HEMKEN, R. W.; HARMON, R. J.; MANN, L. M. Effect of clinoptilolite on lactating dairy cows fed a diet containing urea as a source of protein. *In*: POND, W. G.; MUMPTON, F. A. (Ed.). **Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture**. Boulder: Westview Press, 1984. p. 175-181.
- HODK, M. G. *et al.* Effect of different dietary levels and particle size of aluminosilicates and glauconite on ruminal dry matter disappearance, feed intake, nutrients digestibility, and blood parameters in Dalagh sheep. **Animal Production Research**, Dublin, v. 4, n. 2, p. 21-37, 2015.
- HOOVER, W. H. *et al.* Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 69, n. 10, p. 2755-2766, Oct. 1986.
- HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S.; KUKKINEN, U. Ruminal plant cell wall digestibility estimated from digestion and passage kinetics utilizing mathematical models. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 52, n. 1-2, p. 159-173, Mar. 1995.

HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 1-11, 2000. Supplement E.

HUWIG, A. *et al.* Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 122, n. 2, p. 179-188, June 2001.

ILIC, Z. *et al.* Survey of Vietnamese coffee beans for the presence of ochratoxigenic *Aspergilli*. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 163, n. 3, p. 177-182, Mar. 2007.

JOHNSON, M. A.; SWEENEY, T. F.; MULLER, L. D. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 71, n. 4, p. 946-953, Apr. 1988.

KARATZIA, M. A. Effect of dietary inclusion of clinoptilolite on antibody production by dairy cows vaccinated against *Escherichia coli*. **Livestock Science**, Suwon, v. 128, n. 1-3, p. 149-153, 2010.

KATSOULOS, P. D. *et al.* Effects of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on incidence of parturient paresis and serum concentrations of total calcium, phosphate, magnesium, potassium, and sodium in dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 66, n. 12, p. 2081-2085, Dec. 2005.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria:-Ed. UFSM, 2017.

LAMB, G. C. *et al.* Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.106, n. 3-4, p. 221-231, July 2008.

LUZ, A. B. **Uso das Zeólitas: propriedades e usos industriais**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 1994.

MARCONDES, M. I. **Desempenho de bovinos Nelores alimentados individualmente ou em grupos, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes**. 2007. 136 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

MARCONDES, M. I. *et al.* Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 1-5.

MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 107, n. 1, p. 161-170, Aug. 1986.

McCOLLUM, F. T.; GALYEAN, M. L. Effects of clinoptilolite on rumen fermentation, digestion, and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 3, p. 517-524, Mar. 1983.

- McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p.
- MONTÉGUT, G. *et al.* Ammonium and potassium removal from swine liquid manure using clinoptilolite, chabazite and faujasite zeolites. **Journal of Environmental Management**, London, v. 167, p. 147-155, Feb. 2016.
- MOORE, D. M.; REYNOLDS, R. C. **X-Ray diffraction and the identification and analysis of clay minerals**. Oxford: Oxford University Press, 1989.
- MOURA, A. K. B. de *et al.* Uso de indicadores nos estudos da nutrição animal. **PubVet**, Maringá, v. 7, n. 24, p. 2446-2564, dez. 2013.
- MUMPTON, F. A. La Roca Magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 96, n. 7, p. 3463-3470, Mar. 1999.
- MUMPTON, F. A.; FISHMAN, P. H. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 45, n. 5, p. 1188-1203, Nov. 1977.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of beef cattle**. 8. ed. Washington, DC: National Academy Press, 2016.
- ODIN, G. S.; FULLAGAR, P. D. Geological significance of the glaucony facies. *In*: ODIN, G. S. (Ed.). **Green marine clays: developments in sedimentology**. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 295-332.
- OWENS, F. N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, n. 9, p. 2605-2617, Sept. 1992.
- PAPAIIOANNOU, D. *et al.* The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: a review. **Microporous and Mesoporous Materials**, Amsterdam, v. 84, n. 1-3, p. 161-170, Sept. 2005.
- PAPPAS, A. C. *et al.* Bentonite binders in the presence of mycotoxins: results of in vitro preliminary tests and an in vivo broiler trial. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 99, p. 48-53, Sept. 2014.
- PEIXOTO, P. V. *et al.* Eficiência reprodutiva de matrizes bovinas de corte submetidas a três diferentes tipos de suplementação mineral. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 125-130, set. 2003.
- PENNING, P. D.; JOHNSON, R. H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fiber. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 100, n. 1, p. 133-138, 1983.
- PETERSON, S. **Observations from the literature concerning the use of natural mineral zeolite clinoptilolite as an additive to animal feed**. Albuquerque: Leonard Resources, 1980.

PINA, D. dos S. *et al.* Efeitos da inclusão e dos tempos de exposição da cana-de-açúcar ao óxido de cálcio sobre os parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhas nelores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1579-1586, jul. 2010.

PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010.

PIZA, P. D. de T. *et al.* Verdete da região de Cedro de Abaeté (MG) como fonte alternativa para potássio. **Revista Geociências**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 345-356, 2011.

POND, W. G. Response of growing lambs to clinoptilolite or zeolite NAA added to corn, corn-fish meal, and corn-soybean meal diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 5, p. 1320-1328, Nov. 1984.

POND, W. G.; MUMPTON, F. A. (Ed.). **Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture**. Boulder: Westview Press, 1984.

POND, W. G.; YEN, J. T.; VAREL, V. H. Response of growing swine to dietary copper and clinoptilolite supplementation. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 37, p. 795-803, 1988.

POULSEN, H. D.; OKSBJERG, N. Effects of dietary inclusion of a zeolite (clinoptilolite) on performance and protein metabolism of young growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 53, p. 297-303, 1995.

PRADO, I. N. do *et al.* Desempenho de bovinos em crescimento e terminação mantidos em pastagem durante o verão e suplementados com sal proteinado. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 1059-1064, 2002.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 323-352.

RONG, T.; XIAO, J. The catalytic cracking activity of the kaolin-group minerals. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 297-301, Dec. 2002.

SAEED, A. Bentonite in animal food: a living mineral. **Industrial Minerals**, London, p. 49-51, July 1996.

SALIBA, E. de O. S. **Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais**. 1998. 251 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

SALIBA, E. de O. S. *et al.* Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker Lipe. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 4, p. 1-10, Aug. 2015.

SALIBA, E. de O. S. *et al.* Utilization of nanotechnology to the development of a marker of fecal output in dairy cattle. *In*: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 8., 2011, Aberystwyth. **Abstract [...]**. Aberystwyth: [s.n.], 2011.

- SALIBA, E. de O. S. Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE®). *In*: SALIBA, E. O. S. **Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal**. Viçosa: Ed. UFV, 2013. p. 117-127.
- SALIBA, E. de O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILO-VELOSO, D. Purified lignin extracted from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. *In*: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., Porto Alegre, 2003. **Proceedings** [...]. Porto Alegre: WAAP/ALPA/SBZ/UFRGS, 2003. p. 221-223.
- SANTOS, P. **Tecnologia de argilas, aplicada às argilas brasileiras**. São Paulo: Edgard Blucher, 1975.
- SAOULIDIS, K. *et al.* Effect of the dietary inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on aerial ammonia level in pig houses. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, Kallithea, v. 52, n. 4, p. 291-298, Jan. 2007.
- SATTER, L. D.; ROFFLER, R. E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 58, n. 8, p. 1219-1237, Aug. 1975.
- SHURSON, G. C. *et al.* Effects of zeolite a or clinoptilolite in diets of growing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 6, p. 1536-1545, Dec. 1984.
- SILVA, A. A. S. *et al.* Verdete de Cedro do Abaeté como fonte de potássio: caracterização, tratamento térmico e reação com CaO. **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 1061-1073, 2012.
- SLYTER, L. L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 43, n. 4, p. 910-929, Oct. 1976.
- SRASRA, E.; TRABELSI-AYEDI, M. Textural properties of acid-activated glauconite. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 17, n. 1-2, p. 71-84, July 2000.
- SWEENEY, T. F.; POND, W. G.; MUMPTON, F. A. Effects of dietary clinoptilolite on digestion and rumen fermentation in steers. *In*: POND, W. G.; MUMPTON, F. A. (Ed.). **Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture**. Boulder: Westview Press, 1984. p. 177-187.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 127-138, set. 2000.
- UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. (Ed.). **The mineral nutrition of livestock**. New York: CABI Publishing, 1999.
- VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I. Utilização de Indicadores na Avaliação do Consumo de Animais: Estado de Arte. *In*: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2., 2009, Pirassununga. **Anais** [...]. Pirassununga: Ed. 5D, 2009. p. 15-49.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação ruminal. *In*: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 151-179.

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

VARADYOVA, Z. *et al.* Influence of natural magnesium sources on the in vitro fermentation and protozoan population in the rumen fluid collected from sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 63-71, Jan. 2006.

VARADYOVA, Z.; ŠTYRIAKOVÁ, I.; KIŠIDAYOVÁ, S. Effect of natural dolomites on the in vitro fermentation and rumen protozoan population using rumen fluid and fresh feces inoculum from sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 73, n. 1-3, p. 58-66, 2007.

VAREL, V. H.; FRYDA, S. J.; ROBINSON, I. M. Cellulolytic bacteria from pig large intestine. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 47, n. 1, p. 219-221, Jan. 1984.

VERDE POTASH. Conventional potash from open pit Project in the heart of Brazil's agriculture region. **Verde Agritech**, Toronto, 2014. Disponível em: <http://www.verdepotash.com/English/Projects/cerrado-verde-potash/mineral-resources/default.aspx>>. Acesso em: 26 nov. 2019.

WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. Effects of bentonite on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec) and on rumen ciliate protozoa. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 116, n. 1, p. 163-168, 1991.

WHITE, J. L.; OHLROGGE, A. J. **Ion exchange materials to increase the consumption of non-protein nitrogen by ruminants**. U.S. Patent n. 4,393,082. Depósito: 12 jul. 1983.

WHITNEY, D. L. Coexisting andalusite, kyanite, and sillimanite: sequential formation of three Al₂SiO₅ polymorphs during progressive metamorphism near the triple point, Sivrihisar, Turkey. **American Mineralogist**, Washington, v. 87, n. 4, p. 405-416, 2002.

CAPÍTULO 2 - ALUMINOSSILICATOS NO CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E FERMENTAÇÃO RUMINAL DE BOVINOS DE CORTE

Artigo nas normas da *Animal feed science and technology*

*Correspondência:

Ludhiana Rosa Ferreira
ludhianar@ufmg.br

Highlights:

- Aluminossilicatos não influenciam o consumo e digestibilidade dos nutrientes;
- Aluminossilicatos influenciam positivamente o pH ruminal;
- Aluminossilicatos não influenciam as concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a inclusão de um produto comercial constituído pelo aluminossilicato glauconita, de nome *Beefplus*, sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, metabolismo de compostos nitrogenados, sobre o pH e o nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e sobre a síntese e a eficiência de proteína microbiana em dietas de bovinos de corte. Cinco bovinos machos da raça Nelore, fistulados no rúmen, foram distribuídos em um Quadrado Latino 5 × 5, composto por cinco tratamentos (inclusões de 0.0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% de aluminossilicatos, na matéria seca com base na MS da dieta) e cinco períodos experimentais de 15 dias, com o total de 75 dias de experimento. A dieta basal foi composta por 40% de silagem de milho e 60% de concentrado, formulados com e fubá de milho e farelo de soja. A adaptação à dieta ocorreu do 1º ao 10º dia de cada período e, nos cinco dias posteriores (do 11º ao 15º dia), foram realizadas as coletas totais de fezes e, no último dia (15º), coletavam-se as amostras de líquido ruminal para a análise de pH e nitrogênio amoniacal e procedia-se à coleta “spot” de urina para a determinação das concentrações de alantoína, ácido úrico e creatinina. Durante o período de coleta, foram feitas amostragens do volumoso, concentrado e das sobras para as posteriores análises laboratoriais. Não se observou efeito dos níveis de aluminossilicatos (P>0.05) sobre consumo e digestibilidade dos nutrientes. Não houve efeito (P>0.05) da adição de aluminossilicatos no metabolismo de compostos nitrogenados. Houve interação (P<0.05) entre o nível de aluminossilicatos e o pH. Nos horários de 4h e 6h, após a alimentação e na média geral, o pH do tratamento de 2.0% de inclusão de aluminossilicato foi significativamente maior que o tratamento controle. Houve interação (P<0.05) entre o nível de aluminossilicatos e a concentração de N-NH₃, no entanto não houve diferença entre o tratamento controle e as inclusões de aluminossilicatos. Não se encontrou diferença estatística na eficiência de síntese de proteína microbiana (P>0.05), provavelmente, pelo alto coeficiente de variação. Concluiu-se que a adição de aluminossilicatos na dieta melhora o pH, mas não altera o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal.

Palavras-chave: Aditivos; Nutrição; Ruminantes.

CHAPTER 2 - ALUMINOSILICATES IN THE INTAKE, DIGESTIBILITY, AND RUMINAL FERMENTATION OF BEEF CATTLE

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the inclusion of a commercial product constituted by the aluminosilicate glauconite, named *Beefplus*, on nutrient intake and digestibility, the metabolism of nitrogen compounds, pH, and ammonia nitrogen (N-NH₃) and on the synthesis and efficiency of microbial protein in diets of beef cattle. Five Nelore bulls, fistulated in the rumen, were distributed in a 5 × 5 Latin Square, composed of five treatments (inclusions of 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% aluminosilicates, based on the diet DM) and five experimental periods of 15 days, totaling 75 days of experimentation. The base diet consisted of 40% corn silage and 60% concentrate based on cornmeal and soybean meal. Adaptation to the diet occurred from day 1 to 10 of each period. Total feces was collected in the five subsequent (from 11 to 15) and, on the last day (15), samples of ruminal fluid were collected for pH and ammonia nitrogen analysis and urine was "spot" collected to determine the concentrations of allantoin, uric acid, and creatinine. The forage and concentrates, as well as the leftovers, were sampled during the collection period for further analysis. There was no effect of aluminosilicate content (P>0.05) on nutrient intake and digestibility. There was no effect (p>0.05) of the addition of aluminosilicates on the metabolism of nitrogen compounds. Interaction was observed (p<0.05) between the content of aluminosilicate and pH. The pH of the 2.0% aluminosilicate inclusion treatment was significantly higher than the control treatment at 4 and 6 hours after feeding and in the general average. There was interaction (p<0.05) between the content of aluminosilicate and the concentration of N-NH₃. However, there was no difference between the control treatment and the treatments with aluminosilicate inclusions. There was no statistical difference in the efficiency of microbial protein synthesis (P>0.05), possibly due to the high coefficient of variation. In conclusion, the addition of aluminosilicates in the diet improves the pH but does not change nutrient intake and digestibility or the ruminal concentration of ammonia nitrogen.

Keywords: Additives; Nutrition; Ruminants.

1 INTRODUÇÃO

A *Beefplus* é um aditivo nutricional comercial, elaborado a partir de glauconita, uma espécie mineral da família dos aluminossilicatos, a qual é uma rocha metassedimentar de coloração verde rica em potássio.

Minerais de aluminossilicato são compostos de alumínio, silício e oxigênio com fórmula geral Al_2SiO_5 . Caracterizam-se por ganhar ou perder água e trocar cátions sem modificar sua estrutura tridimensional (NEWMAN, 1969).

Os aluminossilicatos têm propriedades adsorptivas, capacidade de ligar reversivelmente ao amônio e não reagem com nutrientes ou fluidos corporais, pois são inertes no sistema digestivo (IVKOVIC *et al.*, 2004). A alta afinidade por água e cátions pode ajudar no controle do pH e melhorar a utilização de nitrogênio no rúmen.

A zeólita e bentonita são exemplos de aluminossilicatos usados na nutrição de ruminantes. Não há estudos com o uso da glauconita na alimentação animal e o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da suplementação de aluminossilicatos no consumo e digestibilidade dos alimentos, os efeitos no pH e na concentração de nitrogênio amoniacal e na eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área experimental

Os procedimentos descritos neste trabalho foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA/UFMG), sob o protocolo 15/2017. O experimento foi executado, no período de maio a agosto de 2017, no Campus de Florestal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). A UFV/Florestal está situada na cidade de Florestal (19° 53' 20"S 44° 25' 58"W), em Minas Gerais, a 60 km da capital, Belo Horizonte. O clima em Florestal é tropical, a temperatura média é de 21.5 °C, com máxima de 23 °C e mínima de 10.4 °C (dados climáticos: INMET).

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária (EV) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.2 Animais, delineamento experimental e dietas

Foram alocados cinco bovinos Nelore, com peso médio inicial de 397 ±32.10 kg, com fístula ruminal, distribuídos em um delineamento experimental Quadrado Latino 5 × 5. Os animais foram mantidos em baias individuais de cimento de 18m², providas de parte coberta e solário, com cochos e bebedouros automáticos.

Foram testados cinco tratamentos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% de adição de aluminossilicatos, na matéria seca da dieta). As dietas foram elaboradas com 40% de silagem de milho e 60% de concentrado e calculadas de acordo com o BR-corte (VALADARES FILHO *et al.*, 2016).

O aluminossilicato utilizado foi a glauconita, de nome comercial *Beefplus*, fornecido pela empresa VerdeAgritech.

O experimento contou com cinco períodos de 15 dias, totalizando 75 dias. Os dez primeiros dias corresponderam à adaptação às dietas e os seguintes compreenderam a avaliação do consumo, da digestibilidade e dos parâmetros ruminais. Os animais foram pesados antes e após cada período experimental.

A proporção dos ingredientes e a composição química dos alimentos utilizados estão nas Tabelas 1 e 2. A composição bromatológica das dietas experimentais está na Tabela 3.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte.

Ingredientes	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Composição percentual				
Silagem de milho	39.2	39.0	38.8	38.6	38.4
Fubá de milho	44.1	43.9	43.7	43.4	43.2
Farelo de soja	14.7	14.6	14.5	14.5	14.4
Aluminossilicato	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Sal mineral ¹	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹Composição sal mineral: 150-190g Cálcio; 85g Fósforo; 129.5g Sódio; 18g Magnésio; 18g Enxofre; 60 mg Cobalto; 1500 mg Cobre; 90 mg Iodo; 1500 mg manganês; 20 mg Selênio; 5250 mg Zinco; 1500 mg Ferro; 1000 mg Flúor.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 2 - Composição química (%) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte, com base na matéria seca (MS).

Variável	Silagem de milho	Fubá de milho	Farelo de soja	Aluminossilicatos
MS(%MN)	32.20	88.60	90.0	99.43
MM	4.50	2.50	6.5	97.70
PB	7.60	08.05	50.15	-
EE	3.40	4.60	4.20	-
FDNcp	51.40	10.70	17.90	-
FDA	27.90	3.18	6.70	-
CNF	33.10	74.20	21.30	-
NDT*	63.72	86.63	78.67	-
Ca	0.21	40	0.34	-
P	0.15	0.31	0.51	-

MS=matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA= fibra em detergente ácido; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT= nutrientes digestíveis totais; Ca= cálcio; P= fósforo; k= potássio.* Valores de NDT retirados do BR-corte 3
Fonte: Valadares Filho *et al.* (2016).

Tabela 3 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos de corte, com base na MS.

Variável	Teores Aluminossilicatos (%) ¹				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
MS	64.93	65.09	65.26	65.42	65.59
MM	3.98	4.29	4.76	5.23	5.70
PB	13.90	13.82	13.74	13.70	13.62
EE	3.98	3.96	3.94	3.92	3.90
FDNcp	27.50	27.36	27.21	27.08	26.94
FDA	13.32	13.26	13.19	13.12	13.05
CNF	48.83	48.59	48.36	48.07	47.83
NDT ²	81.41	81.00	80.59	80.16	79.75

MS =matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA= fibra em detergente ácido; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT= nutrientes digestíveis totais;

¹Com base na MS da dieta;

²Valores de NDT calculados a partir do BR-corte 3

Fonte: Valadares Filho *et al.* (2016).

A dieta foi oferecida às 7h e às 15h. A pesagem do alimento fornecido e das sobras foi feita diariamente para a estimativa do consumo. O consumo foi observado de modo a manter as sobras em 20% do total fornecido baseado na matéria natural (MN).

No momento da alimentação, durante o período de coletas (11^o ao 15^o dia), foi feita a amostragem dos alimentos fornecidos e das sobras, por tratamento e por animal. A coleta total de fezes foi realizada por cinco dias, recolhendo do piso de cada baia e pesando imediatamente após a defecção.

Após a pesagem e homogeneização, foram retiradas subamostras de 10% do total de cada coleta, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e mantidas congeladas a -20^o C. Ao final do ensaio, essas subamostras, referentes a cada animal, foram reunidas em uma amostra composta para as análises laboratoriais.

A coleta “spot” de urina foi efetuada, no último dia do período de coleta, quatro horas após o fornecimento da alimentação, durante micção espontânea. Recolheram-se 10 mL de urina diluída em 40 mL de ácido sulfúrico 0.036 Normal (H₂SO₄ 0.036 N) em um recipiente

com capacidade de 200 mL. A urina foi congelada a -20°C para as análises de alantoína, ácido úrico e creatinina (VALADARES *et al.*, 1997).

No último dia de cada período experimental, foram realizadas as coletas de líquido ruminal, para a determinação do pH e do nitrogênio amoniacal (N-NH_3), nos tempos 0 (antes do fornecimento da dieta), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 e 24 horas após o fornecimento da dieta.

O material coletado foi filtrado em camadas de gaze para obter 200 mL de líquido ruminal. Imediatamente, foi determinado o pH em pH-metro de bancada, modelo Hanna HP221. Em seguida, o líquido coletado foi acondicionado em recipientes plásticos e foi adicionado 1 mL da solução de H_2SO_4 1:1 para a análise de N-NH_3 . As amostras foram congeladas a -20°C .

2.3 Análises químicas das amostras e cálculos

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram descongeladas, homogeneizadas e pré-secas em estufa sob ventilação forçada a 55°C , por 72 horas, moídas em moinho tipo Willey, com peneira de malha de 1 mm e armazenadas em potes para a realização de análises laboratoriais.

As amostras dos alimentos oferecidos, sobras e fezes foram avaliadas, quanto à porcentagem de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE). Segundo Silva e Queiroz (2002) A), as determinações de FDN e FDA foram realizadas, com a técnica desenvolvida por Van Soest e Robertson (1985), utilizando-se o extrator ANKON 200 (Ankom Technology Corp. Fairport, NY, USA).

O resíduo de FDN foi utilizado para a análise de proteína e cinzas para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}). Os CNF dos alimentos foram obtidos pela equação (DETMANN, 2012):

$$CNF = 100 - (\% PB + \% FDN_{cp} + \% EE + \% cinzas)$$

O cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT) feito, a partir da equação:

$$NDT = PBD + (EED \times 2.25) + FDND + CNFD$$

Em que:

PBD = proteína bruta digestível;

EED = extrato etéreo digestível;

FDND = fibra em detergente neutro digestível;

CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (DA) foram determinados a partir dos dados de consumo e produção fecal. As digestibilidades aparentes dos nutrientes (MS, EE, FDN, FDA e CHT) foram obtidas, conforme Silva e Leão (1979), segundo a fórmula:

$$DA (\%) = ((\text{nutriente consumido} - \text{excretado nas fezes}) \times 100) / \text{consumido}$$

O metabolismo de compostos nitrogenados foi determinado, obtendo-se o nitrogênio (N) ingerido, urinário e fecal em gramas por dia ($\text{g} \cdot \text{dia}^{-1}$). Para os cálculos do balanço de nitrogênio e do nitrogênio retido, em relação ao absorvido, foram utilizadas as seguintes equações:

$$(1) \text{Balanço de nitrogênio} = N \text{ consumido} - (N \text{ fecal} + N \text{ urinário})$$

$$(2) N \text{ retido} / N \text{ ingerido} = (\text{Balanço de } N / N \text{ ingerido}) \times 100$$

A análise de derivados de purina foi realizada nas amostras de urina. A alantoína foi determinada pela técnica descrita por Young e Conway (1942), citados e adaptada por Valadares et al. (1997).

Ácido úrico e creatinina foram analisados usando kits comerciais (Labtest), de acordo com as determinações do fabricante

As purinas microbianas absorvidas (Y , $\text{mmol} \cdot \text{dia}^{-1}$) foram estimadas pela equação de Verbic, Chen e Macleod (1990):

$$Y = 0.85X + 0.385 PV^{0.75}$$

Em que:

0.85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas urinários;

0.385 $PV^{0.75}$ é a contribuição endógena para a excreção de purina.

A análise de $N\text{-NH}_3$ foi feita, utilizando-se 2 mL do líquido ruminal em aparelho Kjeldahl, seguindo as recomendações descritas por Silva e Queiroz (2002).

2.4 Análises Estatísticas

Foram realizadas análises de variância e regressão, em função da adição de aluminossilicatos às dietas (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0%), para consumo e digestibilidade dos nutrientes, metabolismo de compostos nitrogenados e eficiência de síntese de proteína

microbiana. O pH e o N-NH₃ foram avaliados, em esquema de parcelas subdivididas, em que as parcelas eram dietas e as subparcelas os horários de coleta, com aplicação do teste de Tukey. Os dados foram analisados no programa SISVAR, (FERREIRA, 2011) a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Os resultados da inclusão de aluminossilicatos em relação ao consumo, digestibilidade e metabolismo de compostos nitrogenados encontram-se nas Tabelas 4, 5 e 6. A inclusão dos teores de aluminossilicatos na dieta não influenciou ($P>0.05$) o consumo diário dos nutrientes ($\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$), o coeficiente de digestibilidade aparente (%) e o metabolismo de compostos nitrogenados ($\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$) em comparação com o tratamento sem inclusão de aluminossilicatos.

Tabela 4 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão do consumo dos nutrientes.

Variável	Teores de Aluminossilicatos* (%)					EPM	P	
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0		L	Q
	Consumo $\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$							
MS	9.06	8.32	7.63	7.40	8.81	0.61	0.45	0.06
MO	8.59	7.88	07.09	6.79	8.12	0.58	0.31	0.06
PB	1.24	1.15	0.98	0.97	1.16	0.11	0.38	0.11
EE	0.42	0.39	0.41	0.38	0.42	0.04	0.82	0.70
FDNcp	2.77	2.37	2.23	02.09	2.47	0.23	0.25	0.10
FDA	1.39	1.19	1.13	1.60	1.30	0.11	0.50	0.11
CNF	3.99	3.84	3.40	3.22	3.90	0.28	0.28	0.09
NDT	6.30	5.93	5.48	5.76	6.27	0.18	0.73	0.06
AS ²	0.00	0.04	0.07	0.11	0.18	-	-	-

*Calculado considerando a MS da dieta; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidratos não-fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais; EPM: erro padrão da média; ²AS: aluminossilicatos. Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 5 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão da digestibilidade dos nutrientes.

Variável	Teores de Aluminossilicatos* (%)					EPM	P	
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0		L	Q
Coeficiente de digestibilidade aparente (%)								
MS	67.99	67.08	68.63	62.39	68.85	5.18	0.86	0.73
MO	70.55	70.91	72.15	64.68	72.17	05.07	0.86	0.76
PB	62.84	63.79	64.75	65.69	66.64	9.23	0.75	0.48
FDNcp	48.28	49.00	49.77	50.56	51.30	6.99	0.73	0.99
FDA	35.50	27.42	39.96	44.79	41.05	6.99	0.78	0.79
CNF	84.70	83.04	86.88	81.24	86.56	5.11	0.90	0.81

*Calculado considerando a dieta; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidratos não fibrosos; EPM: erro padrão da média.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 6 - Efeito da inclusão de aluminossilicatos em dietas de bovinos de corte sobre as estimativas das médias e erro padrão do metabolismo de nitrogênio.

Variável	Teores de aluminossilicatos* (%)					EPM	P	
	0	0.5	1.0	1.5	2.0		L	Q
Metabolismo de Nitrogênio (g.dia ⁻¹)								
N ingerido	182.5	171.55	151.8	178.02	178.77	17.55	0.98	0.51
N fecal	80.36	73.05	56.47	58.99	56.11	16.97	0.26	0.67
N urinário	58.38	74.08	74.32	86.38	84.04	17.06	0.26	0.71
Retenção	43.77	24.41	21.08	32.67	38.62	12.28	0.38	0.93
%Nret/Nin	22.44	11.24	16.00	16.58	21.82	6.90	0.90	0.49

*Calculado considerando a dieta; Nret/Nin: taxa de utilização do nitrogênio calculada pela fórmula = (nitrogênio retido/ Nitrogênio ingerido)*100; EPM: erro padrão da média.

Fonte: Elaborado pelos autores.

3.2 Características da fermentação ruminal

O pH ruminal para os diferentes horários e inclusões de aluminossilicatos encontra-se na Tabela 7 e os valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) encontram-se na Tabela 8.

Neste estudo, o valor de pH médio, para a inclusão de 2.0% de aluminossilicatos, foi 4.9% maior que o tratamento controle (6.44 contra 6.14) e estatisticamente semelhante entre os

tratamentos intermediários. O mesmo comportamento foi observado, nos tempos de 2h e 4 horas após o fornecimento da alimentação. Entretanto todos os pH estão dentro da faixa da normalidade para a atividade microbiana (5.7 a 7.7).

A concentração de N-NH₃ foi semelhante entre os tratamentos de 0 e 2% de inclusão de aluminossilicatos.

Tabela 7 - Estimativas das médias de pH ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas com teores crescentes de aluminossilicatos, em diferentes horários.

Tempo (h)	Teores de aluminossilicatos*(%)					Média
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	6.48	6.45	6.61	6.33	6.63	6.48AB
2	5.96c	6.46ab	6.21c	6.36ab	6.53a	6.31BC
4	5.70b	6.10ab	6.30ab	6.44a	6.48a	6.20BC
6	6.13	6.25	5.99	6.07	6.21	6.13CD
8	6.09	6.07	6.11	6.44	6.5	6.25BC
10	6.07	6.18	6.12	6.32	6.52	6.24BC
12	5.75	5.8	5.74	5.92	5.86	5.81D
18	6.44	6.29	6.12	6.35	6.43	6.31BC
24	6.71	6.67	6.74	6.88	6.82	6.76A
Média	6.14b	6.25ab	6.21b	6.33ab	6.44a	

*Calculado considerando a dieta. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna e letras diferentes minúsculas na linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0.05). CV=6.20

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 8 - Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas com teores crescentes de aluminossilicatos, em diferentes horários.

Tempos (h)	Teores de aluminossilicatos*(%)					Média
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	7.2	4.58	7.22	5.68	6.11	6.14DE
2	13.79ab	6.32b	9.71b	9.97b	17.45a	11.45BC
4	12.85ab	12.23b	7.15b	11.31ab	19.88a	12.69A
6	7.34	8.53	7.49	6.87	10.78	8.21BCDE
8	7.97	6.81	6.42	4.36	7.53	6.62CDE
10	10.47	7.46	11.93	9.67	10.71	10.04BCD
12	11.03	8.97	7.79	5.85	12.43	9.22BCD
18	7.01	8.06	6.72	10.26	11.59	8.75BCDE
24	5.41	5.71	2.45	5.56	5.13	4.85E
Média	9.23ab	7.63b	7.43b	7.73b	11.29a	

*Calculado considerando a dieta; Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna e letras diferentes minúsculas na linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0.05). CV=30.42

Fonte: Elaborado pelos autores.

3.3 Derivados de Purinas, produção e eficiência microbiana

O resultado da excreção urinária de derivados de purinas encontra-se na Tabela 9 e a resposta da eficiência microbiana encontra-se na Tabela 10. A adição de aluminossilicatos à dieta não influenciou ($p>0.05$) na produção e eficiência de síntese de proteína microbiana. O tratamento com inclusão de 1.5% de aluminossilicatos aumentou a eficiência de síntese de proteína microbiana em 54%, em relação ao tratamento controle e a inclusão de 2,0% aumentou a síntese em 52% em comparação à dieta sem o aditivo. Entretanto, pelo alto coeficiente de variação, os tratamentos foram estatisticamente semelhantes.

Tabela 9 - Estimativa das médias de excreção de derivados de purinas urinárias e purinas absorvidas, em função dos teores de aluminossilicatos.

Variável	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0	0.5	1	1.5	2
	Excreção de derivados de purina (mmol.dia ⁻¹)				
Alantoína	97.71	102.53	81.92	141.18	150.54
Ácido úrico	1.76	2.35	4.82	1.99	5.09
Purinas totais	139.78	143.23	123.56	182.27	191.29
PA**	90.07	96.17	72.06	132.37	140.87

*Calculado considerando a MS da dieta;

**Purinas absorvidas (mmol.dia⁻¹)

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 10 - Estimativa das médias de produção e eficiência microbiana, em função dos níveis de aluminossilicato.

Variável	Teores de aluminossilicatos* (%)					EPM	P	
	0	0.5	1.0	1.5	2.0		L	Q
Pmic ¹	409.28	436.99	327.43	601.46	640.1	102.1	0.15	0.27
Emic ²	68.14	77.32	60.5	105.02	103.76	15.23	0.13	0.34

*Com base na MS da dieta;

¹Produção microbiana de compostos nitrogenados (g PB mic.dia⁻¹)

²Eficiência microbiana (g PB mic.kg⁻¹NDT)

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

4.1 Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e metabolismo de compostos nitrogenados

Segundo a Teoria Ionostática, aditivos minerais poderiam aumentar a osmolaridade, o que levaria à liberação de norepinefrina, um mediador que atua no Sistema Nervoso Central (SNC) e elevaria a ingestão de água e salivação e aumentaria a taxa de passagem e o consumo de MS (GONÇALVES; BORGES; FERREIRA, 2009).

Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados por Cole, Todd e Parker (2007) e Sherwood, Pond e Mumpton (2006), que incluíram 1.2 e 2.0% de zeólita, respectivamente, com base na MS da dieta de bovinos de corte e não encontraram diferenças estatísticas no consumo dos nutrientes.

Dschaak *et al.* (2010) forneceram 1.4% de clinoptilolita na MS da dieta para vacas leiteiras e, da mesma forma, não encontraram diferenças no consumo dos nutrientes. Uma possível explicação para esses resultados é que o consumo é controlado por fatores fisiológicos, físicos, psicogênicos, ambientais e aspectos inerentes ao animal. A dominância de um mecanismo de controle de ingestão em relação a outro pode estar relacionada com a qualidade da dieta, ao conteúdo energético e à digestibilidade, uma vez que os mecanismos de controle funcionam de forma integrada para a geração de estímulos positivos ou negativos (DETMANN; GIONBELLI; HUHTANEN, 2014).

Como as dietas eram isoproteicas e não houve diferença no consumo de MS, também não foi observado acréscimo na ingestão de PB no presente estudo. Entretanto Câmara *et al.* (2012), trabalhando com adição de até 3.0% de zeólita na dieta de bovinos de corte, encontraram efeito linear positivo para o consumo de PB com o aumento da inclusão. Essas diferenças foram encontradas, possivelmente, porque, com o aumento da proporção de zeólita, os autores alteraram as proporções dos ingredientes, adicionando ureia em substituição ao fubá de milho, nos tratamentos com inclusão de zeólita, alterando ligeiramente a concentração de PB fornecida entre os tratamentos.

Os efeitos da adição de aluminossilicatos sobre a digestibilidade são variados na literatura. Ghaemnia *et al.* (2010) reportaram que o aumento no conteúdo de matéria mineral (MM) com a adição de aluminossilicatos levaria à diminuição da digestibilidade dos nutrientes. Esse fato causaria o efeito de diluição, isto é, a concentração dos nutrientes por kg de tratamento com aditivo mineral diminuiria em relação ao tratamento controle. Johnson, Sweeney e Muller

(1988) constataram que a adição de zeólita à dieta diminuiu a digestibilidade da MS e justificaram esse dado pela influência do fator de diluição, uma vez que esses autores usaram inclusões de 9% de zeólita na MS da dieta.

A digestibilidade da dieta pode ser melhorada, ao diminuir a taxa de passagem, aumentando o tempo de exposição do substrato ao processo fermentativo (KREHBIEL, 2014). Os silicatos possuem propriedades adsorventes que aumentariam a viscosidade ruminal, o que poderia compensar o efeito de diluição, diminuindo a taxa de passagem e aumentando o coeficiente de digestibilidade (SPOTTI *et al.*, 2005). Foi observada maior coeficiente de digestibilidade da MO (aumento de 3.5%) com a adição de 50g.kg⁻¹ de MS de zeólita na dieta de bovinos de corte (SWEENEY; POND; MUMPTON, 1984).

No presente trabalho, a adição de aluminossilicatos não exerceu influência sobre a digestibilidade. Esses dados são corroborados por Câmara *et al.* (2012) e Cole, Todd e Parker (2007) que não encontraram diferenças entre as digestibilidades dos nutrientes com a suplementação de zeólita em dietas de bovinos de corte. Segundo Toprak *et al.* (2016), os silicatos na forma de pó não reagem quimicamente com nutrientes ou fluidos corporais, dado que são inertes no sistema digestivo, portanto podem não exercer influência sobre a digestibilidade.

Em ruminantes, existe pouca informação a respeito da influência de aluminossilicatos e digestão de carboidratos não fibrosos. Em não ruminantes (aves e suínos), a suplementação de zeólita aumentou a digestão do extrativo não nitrogenado (ENN) (ZHOU *et al.*, 2014). Essa resposta foi atribuída ao aumento da atividade das enzimas amilase, maltase e sucrase na mucosa do jejuno (TANG *et al.*, 2014).

Em ruminantes, Hemken, Harmon e Mann (1984) observaram melhores coeficientes de digestão do CNF para vacas suplementadas com zeólita. Entretanto, como neste trabalho, McCollum e Galyean (1983) não encontraram diferenças na digestão do CNF em bovinos de corte.

As respostas, quanto ao metabolismo de compostos nitrogenados e uso de aluminossilicatos, não têm sido consistentes entre os trabalhos. Em bovinos de corte alimentados com dietas de terminação de alta energia [60% da PB composta por proteína não degradável no rúmen (PNDR) e dieta com menos de 20% FDN, com base na MS da dieta], a suplementação de zeólita (2.5%) não afetou o metabolismo de compostos nitrogenados (COLE *et al.*, 2007). Entretanto, em cordeiros alimentados com dieta de crescimento (>70% PNDR e 32% FDN), a suplementação de zeólita (6%) aumentou em 3.5% o balanço de nitrogênio (GHAEMNIA *et al.*, 2010).

Essas inconsistências na literatura podem ser relacionadas aos diferentes teores de inclusão de aluminossilicatos, aos variados tipos de rocha (clinoptilolita, zeólita sintética, zeólita amoniada e etc) e/ou às porcentagens de PNDR e FDN. No presente trabalho, o maior teor de inclusão de aluminossilicatos foi de 2% da MS da dieta, a PNDR média estimada foi 44% e a FDN foi 27%.

4.2 Características da fermentação ruminal

Eng, Bechtel e Hutcheson (2006) trabalharam com adição de 1.2% de zeólita na MS da dieta de bovinos de corte em terminação e, como neste trabalho, encontraram que a inclusão do aluminossilicato aumentou o pH ruminal, mas em extensão menor que a encontrada neste estudo, 0.31 pontos percentuais.

A atividade fermentativa microbiana é sensível às variações do pH do meio (MOULD; ORSKOV, 1983). Segundo Silveira *et al.* (2006), o pH ruminal varia de acordo com a dieta e com o tempo após a alimentação. As bactérias fibrolíticas e os protozoários necessitam de pH entre 6.2 e 6.8, para atuarem de forma adequada e a redução acentuada do pH acarreta diminuição na taxa de digestão da fibra (HOOVER *et al.*, 1986).

No entanto as bactérias amilolíticas atuam em uma faixa de pH menor (5.8). Segundo Church (1988), o pH ruminal varia de 5.5 a 7.0 e a faixa de pH, para que haja atividade microbiana normal no rúmen é 6.7 ± 0.5 . A manutenção do pH, em níveis adequados, encontrados neste estudo, com a adição de aluminossilicatos, pode ter relação com a capacidade tamponante dos silicatos. Esses minerais têm afinidade por cátions que, em ambiente ácido, podem ajudar a regular o pH do rúmen, ao translocar íons de hidrogênio (H) oriundos do processo fermentativo (ERWANTO; ZAKARIA; PRAYUWIDAYATI, 2012; URÍAS-ESTRADA *et al.*, 2016).

Altas concentrações de amônia ruminal resultam em maior absorção líquida de nitrogênio amoniacal pela parede do rúmen, aumento da conversão em ureia e consequente perdas elevadas pela excreção (SATTER; SLYTER, 1974).

Segundo Mumpton e Fishman (1977), as zeólitas conseguem atuar como reservatório de N-NH₃ e podem contribuir para a proteção contra a superprodução de amônia no rúmen. É possível que os aluminossilicatos, contidos no produto do presente estudo, apresentem o mesmo efeito e, após a alimentação, esses silicatos absorvam o excedente de produção de N-NH₃ e os liberem de forma gradual (Bosi *et al.*, 2002). A concentração de N-NH₃ não foi afetada pela

inclusão de aluminossilicatos e, em todos os tratamentos, foi maior que 5 mmol/dL, concentração mínima para a produção microbiana (SATTER; SLYTER, 1974).

Similar a este resultado, Bosi, Creston e Casini (2002) reportaram que a concentração no fluido ruminal de N-NH₃ não foi afetada pela inclusão de 1% de zeólita nas dietas de vacas leiteiras.

Johnson, Sweeney e Muller (1988) encontraram que a concentração ruminal de N-NH₃ não foi afetada pela inclusão de zeólita sintética em dietas de bovinos de corte. Em contraste, Hemken, Harmon e Mann (1984) reportaram um decréscimo na concentração de N-NH₃ no fluido ruminal, quando vacas foram suplementadas com zeólita natural, entretanto encontraram efeito positivo na suplementação de zeólita quando a ureia foi fornecida como fonte de PB.

Cole, Todd e Parker (2007) forneceram zeólita para bovinos de corte e, como neste estudo, não encontraram diferenças estatísticas no metabolismo de compostos nitrogenados. Contudo a ingestão de zeólita diminuiu as perdas de amônia no esterco de 41% para 14%. Uma explicação possível à falta de resultados, nos estudos com silicatos no sequestro de amônia ruminal, é que a produção de amônia pode exceder a capacidade da aluminossilicatos em se ligar e, no esterco, o tempo de contato entre a rocha e nitrogênio é maior, favorecendo o sequestro de amônia.

4.3 Derivados de Purinas, produção e eficiência microbiana

A excreção de derivados de purina pode refletir o aporte de proteína microbiana (CHEN; GOMES, 1992). A tendência de aumento linear de produção e eficiência de produção de proteína microbiana neste estudo sugere que os microrganismos ruminais podem se beneficiar com a inclusão de aluminossilicatos. Esses resultados podem refletir a estabilidade do pH ruminal alcançada, nos tratamentos com aluminossilicatos, que pode ter favorecido o crescimento de bactérias celulolíticas. O valor médio encontrado, para a eficiência de síntese microbiana, foi de 82.65g PB mic/kg NDT, abaixo do recomendado pelo BR CORTE (VALADARES FILHO *et al.*, 2010) de 120 g PB mic/kg NDT.

5 CONCLUSÃO

A adição de aluminossilicatos na dieta melhorou o pH, apesar de os resultados de todos os tratamentos estarem na faixa de normalidade, mas não altera o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e os teores de nitrogênio amoniacal no rúmen.

REFERÊNCIAS

- BOSI, P.; CRESTON, D.; CASINI, L. Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 1, n. 3, p.187–195, 2002.
- CÂMARA, L. R. A. *et al.* Zeolite in the diet of beef cattle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 631-639, jun. 2012.
- CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of the technical details.** Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition.** Englewood Cliffs: O & Books, 1988.
- COLE, N. A.; TODD, R. W.; PARKER, D. B. Use of fat and zeolite to reduce ammonia emissions from beef cattle feed yards. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AIR QUALITY AND WASTE MANAGEMENT FOR AGRICULTURE*, 2007, Broomfield. **Proceedings** [...]. Broomfield: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2007. p. 41.
- DETMANN, E. **Métodos para análises de alimentos.** Ed. UFV, 2012.
- DETMANN, E.; GIONBELLI, M. P.; HUHTANEN, P. A. Meta-analytical evaluation of the regulation of voluntary intake in cattle fed tropical forage-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 4632-4641, Oct. 2014.
- DSCHAAK, C. M. *et al.* Effects of supplementation of natural zeolite on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactational performance of dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, Savoy, v. 26, n. 6, p. 647-654, Dec. 2010.
- ENG, K. S.; BECHTEL, R.; HUTCHESON, D. The use of Biolite (a calcium clinoptilolite zeolite) in diets for natural beef production. *In: BOWMAN, R. S.; DELAP, S. E. (Ed.). Book of abstracts.* Socorro: Zeolite, 2006. p. 29-30.
- ERWANTO, I. R.; ZAKARIA, W. A.; PRAYUWIDAYATI, M. The use of ammoniated zeolite to improve rumen metabolism in ruminant. **Animal Production**, Bletchley, v. 13, n. 3, p. 138–142, 2012.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, dez. 2011.
- GHAEMNIA, L. *et al.* Effects of different levels of zeolite on digestibility. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 9, n. 4, p. 779-781, Apr. 2010.
- GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. **Alimentação de vacas leiteiras.** Belo Horizonte: Ed. FEPMVZ, 2009.

- HEMKEN, R. W.; HARMON, R. J.; MANN, L. M. Effect of clinoptilolite on lactating dairy cows fed a diet containing urea as a source of protein. *In*: POND, W. G.; MUMPTON, F. A. (Ed.). **Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture**. Boulder: Westview Press, 1984. p. 175-181.
- HOOVER, W. H. *et al.* Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 69, n. 10, p. 2755-2766, Oct. 1986.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Normas climatológicas do Brasil. Brasília: INMET, 2019. Disponível em: www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisclimatologics. Acesso em: 5 jan. 2019.
- IVKOVIC, S. *et al.* Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system. **Advances in Therapy**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 135-147, 2004.
- JOHNSON, M. A.; SWEENEY, T. F.; MULLER, L. D. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 71, n. 4, p. 946-953, Apr. 1988.
- KREHBIEL, C. R. Invited review: applied nutrition of ruminants: Fermentation and digestive physiology. **The Professional Animal Scientist**, Savoy, v. 30, n. 2, p. 129–139, Apr. 2014.
- McCOLLUM, F. T.; GALYEAN, M. L. Effects of clinoptilolite on rumen fermentation, digestion, and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 3, p. 517-524, Mar. 1983.
- MOULD, F. L.; ORSKOV, E. R. Manipulation of the rumen fluid pH and its influence on cellulose in Sacco, dry matter degradation, and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 10, n. 1, p. 1-14, 1983.
- MUMPTON, F. A.; FISHMAN, P. H. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 45, n. 5, p. 1188-1203, Nov. 1977.
- NEWMAN, A. C. D. Cation exchange properties of micas. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 20, n. 2, p. 357–372, Sept. 1969.
- SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 32, n. 2, p. 199-208, 1974.
- SHERWOOD, D. M.; ERICKSON, G. E.; KLOPFENSTEIN, T. J. Nitrogen mass balance and cattle performance of steers fed clinoptilolite zeolite clay. **Nebraska Beef Report**, Lincoln, n. 134, p. 90, Jan. 2006.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2002.
- SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livrocere, 1979.

- SILVEIRA, M. F. da *et al.* Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 898-903, maio/jun. 2006.
- SPOTTI, M. *et al.* Aflatoxin B 1 binding to sorbents in bovine ruminal fluid. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 29, n. 6, p. 507–515, Aug. 2005.
- SWEENEY, T. F.; POND, W. G.; MUMPTON, F. A. Effects of dietary clinoptilolite on digestion and rumen fermentation in steers. *In*: POND, W. G.; MUMPTON, F. A. (Ed.). **Zeo-Agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture**. Boulder: Westview Press, 1984. p. 177-187.
- TANG, Z. *et al.* Effect of zinc-bearing zeolite clinoptilolite on growth performance, nutrient retention, digestive enzyme activities, and intestinal function of broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, London, v. 158, n. 1, p. 51–57, Apr. 2014.
- TOPRAK, N. N. *et al.* Effect of micronized zeolite addition to lamb concentrate feeds on growth performance and some blood chemistry and metabolites. **South African Journal of Animal Science**, Pretória, v. 46, n. 3, p. 313-320, 2016.
- URÍAS-ESTRADA, J. D. *et al.* Influence of zeolite (clinoptilolite) supplementation on characteristics of digestion and ruminal fermentation of steers fed a steam-flaked corn-based finishing diet. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 58, n. 7, p. 1239-1245, Dec. 2016.
- VALADARES FILHO, S. C. *et al.* **BR-CORTE 3.0**: cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. Pompéu, 2016. Disponível em: www.brcorte.com.br. Acesso em: 1 mar. 2017.
- VALADARES FILHO, S. C. *et al.* **BR-CORTE 4.0**: formulação de dietas, predição de desempenho e análise econômica de zebuínos puros e cruzados. Pompéu, 2010. Disponível em: www.brcorte.com.br. Acesso em: 1 mar. 2017.
- VALADARES, R. F. D. *et al.* Níveis de proteína em dietas de bovino. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1270-1278, 1997.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985.
- VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 114, n. 3, p. 243-248, 1990.
- ZHOU, P. *et al.* Effects of dietary supplementation with the combination of zeolite and attapulgitite on growth performance, nutrient digestibility, secretion of digestive enzymes, and intestinal health in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 27, n. 9, p. 1311–1318, Sept. 2014.

CAPÍTULO 3 - INDICADORES NA ESTIMATIVA DE CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SECA DE BOVINOS NELORE

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção fecal (PF) e recuperação fecal (RF), o consumo de matéria seca (CMS) e a digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) estimada pelos indicadores dióxido de titânio (TiO₂) e NANOLIPE[®] em dietas contendo diferentes níveis de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% de inclusão na MS da dieta). Foram utilizados cinco bovinos Nelore, em um delineamento experimental Quadrado Latino 5 × 5, em esquema de parcelas subdivididas. As parcelas foram os teores de aluminossilicatos e as subparcelas foram os indicadores. O experimento contou com cinco períodos de 15 dias, totalizando 75 dias. Não houve diferença estatística ($p < 0.05$) entre a PF real e a PF estimada por indicadores. Houve interação entre dieta e indicadores na RF. Os indicadores diferiram entre si ($p > 0.05$), na RF da dieta sem adição de aluminossilicatos, mas foram semelhantes à coleta total. Nas demais dietas, não houve diferença significativa entre as estimativas de RF pelos indicadores e entre a RF real. O CMS e a DAMS estimados por indicadores foram semelhantes ($p > 0.05$) aos valores obtidos pela coleta total de fezes em todos os tratamentos. Conclui-se que os indicadores estimaram os parâmetros estabelecidos com êxito.

Palavras-chave: Aluminossilicatos; Dióxido de titânio; NANOLIPE[®]; Nutrição.

CHAPTER 3 - MARKERS IN THE ESTIMATION OF DRY MATTER INTAKE AND DIGESTIBILITY OF NELORE CATTLE

ABSTRACT

The study aimed to evaluate fecal output (FO) and recovery (FR), dry matter intake (DMI), and dry matter apparent digestibility (DMAD) estimated by the markers titanium dioxide (TiO₂) and NANOLIPE[®] in diets containing different levels of aluminosilicates (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% inclusion in the diet DM). Five Nelore bovines were used in a 5 × 5 Latin Square experimental design in a split-plot scheme. The plots were the aluminosilicate contents and the subplots were the markers. The experiment consisted of five periods of 15 days, totaling 75 days. There was no statistical difference ($p > 0.05$) between the real FP and the FP estimated by markers. There was an interaction between diet and markers in FR. The markers differed among themselves ($p > 0.05$) in the FR of the diet with no addition of aluminosilicates, but were similar to total collection. The other diets presented no significant difference between the estimates of FR between markers and between the real FR. The DMI and DMAD estimated by markers were similar ($p > 0.05$) to the values obtained by the total collection of feces in all treatments. In conclusion, the markers have successfully estimated the established parameters.

Keywords: Aluminosilicates; Titanium dioxide; NANOLIPE[®]; Nutrition.

1 INTRODUÇÃO

O consumo é determinante ao desempenho animal, por meio do qual as exigências de produção e manutenção serão atendidas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2016) e a relação entre o consumo e a digestibilidade determina o valor nutritivo dos alimentos.

A estimativa acurada de ambos os fatores é importante, para a formulação de dietas balanceadas, que busquem o uso eficiente dos nutrientes presentes nos alimentos, com o objetivo de explorar toda a capacidade produtiva do animal, diminuir custos e minimizar o impacto ambiental.

Os indicadores são compostos indigestíveis presentes na dieta ou adicionados a ela, que podem estimar a excreção fecal, a partir do qual obtêm-se outros parâmetros, como a digestibilidade e o consumo.

O indicador óxido crômico foi usado, durante muito tempo, porém, por ser cancerígeno, sua substituição tem sido incentivada. O dióxido de titânio (TiO_2) é empregado em sua substituição, por ser uma substância adicionada às dietas sem riscos.

O NANOLIPE[®], uma variação do hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, LIPE[®], é um indicador externo de digestibilidade, desenvolvido especificamente para pesquisas. Esse indicador apresenta as vantagens de um curto período de adaptação e ter análise rápida e precisa.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia dos indicadores externos NANOLIPE[®] e TiO_2 na estimativa da produção e recuperação fecal, do consumo e digestibilidade da matéria seca de bovinos Nelore.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

Os procedimentos descritos adiante foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA/UFMG), sob o protocolo 15/2017. O experimento foi conduzido, no período de maio a agosto de 2017, no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Florestal/MG. O clima nessa região é classificado como tropical de altitude. A média de temperatura anual é 20.1°C, com mínima anual de 13.9 °C e a máxima de 28 °C. O índice médio pluviométrico anual é de 1465 mm. A umidade relativa do ar é de 72% (dados climáticos: INMET).

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária (EV) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.2 Instalações, animais e delineamentos

Foram alocados cinco bovinos Nelore, com peso médio inicial de 397 ±32.10 kg, com fístula ruminal, distribuídos em um delineamento experimental Quadrado Latino 5 × 5 com esquema em parcelas subdivididas. As parcelas foram as inclusões de aluminossilicatos (Beefplus) e as subparcelas foram os indicadores. Os animais foram mantidos em baias individuais de cimento de 18m², providas de parte coberta e solário, com cochos e bebedouros automáticos.

Os indicadores NANOLIPE[®] e dióxido de titânio (TiO₂) foram comparados à coleta total na estimativa da produção e da recuperação fecal e do consumo e da digestibilidade da matéria seca (CMS e DAMS).

2.3 Dietas, aluminossilicatos e fornecimento da alimentação e dos indicadores

As dietas foram elaboradas com 40% de silagem de milho e 60% de concentrado, calculadas com o BR-corte (VALADARES FILHO *et al.*, 2016) e acrescidas de diferentes teores de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0%). O aluminossilicato usado foi a *Beefplus*, um aditivo comercial com glauconita como ingrediente principal. A *Beefplus* foi doada pela empresa VerdeAgritech.

A proporção dos ingredientes utilizados e a composição bromatológica das dietas experimentais estão nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos de corte.

Ingredientes	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Composição percentual				
Silagem de milho	39.2	39.0	38.8	38.6	38.4
Fubá de milho	44.1	43.9	43.7	43.4	43.2
Farelo de soja	14.7	14.6	14.5	14.5	14.4
Aluminossilicato	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Sal mineral ¹	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

*Calculado considerando a dieta; ¹Composição sal mineral: 150-190g Cálcio; 85g Fósforo; 129.5g Sódio; 18g Magnésio; 18g Enxofre; 60 mg Cobalto; 1500 mg Cobre; 90 mg Iodo; 1500 mg manganês; 20 mg Selênio; 5250 mg Zinco; 1500 mg Ferro; 1000 mg Flúor.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 2 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos de corte, com base na MS.

Variável	Teores Aluminossilicatos (%) ¹				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Composição percentual				
MS	64.93	65.09	65.26	65.42	65.59
MM	3.98	4.29	4.76	5.23	5.70
PB	13.90	13.82	13.74	13.70	13.62
EE	3.98	3.96	3.94	3.92	3.90
FDNcp	27.50	27.36	27.21	27.08	26.94
FDA	13.32	13.26	13.19	13.12	13.05
CNF	48.83	48.59	48.36	48.07	47.83
NDT ²	81.41	81.00	80.59	80.16	79.75

MS =matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA= fibra em detergente ácido; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT= nutrientes digestíveis totais; *Calculado considerando a MS da dieta; ¹NDT tabelado (Br-corte).

Fonte: Valadares Filho *et al.* (2016).

Os dez primeiros dias de cada período foram de adaptação às dietas e os dias posteriores compreenderam a avaliação do consumo e da digestibilidade pelo método de referência (coleta total) e pelos indicadores (TiO₂ e NANOLIPE®).

A dieta foi oferecida às 8h e às 15h. A pesagem do alimento fornecido e das sobras foi feita diariamente para a estimativa do consumo.

Do 11.º ao 15.º dia, os alimentos fornecidos e as sobras foram amostrados por tratamento e por animal. Foi realizada coleta total de fezes por 5 dias, as quais foram coletadas do piso de cada baia e pesadas após a defecção.

Após a pesagem e homogeneização, foram retiradas subamostras de 10% do total de cada coleta, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e mantidas congeladas a -20 °C. Ao final do ensaio, essas subamostras, referentes a cada animal, foram reunidas em uma amostra composta para as análises laboratoriais.

A coleta total foi realizada, para servir como método de referência às comparações com as estimativas geradas pelos indicadores.

O indicador TiO₂ foi fornecido homogeneizado à mistura mineral, por 12 dias, tendo início a partir do terceiro dia de adaptação até o penúltimo dia do período de coleta. Esse indicador foi fornecido na quantidade de 2 g por animal, via fístula ruminal.

O indicador NANOLIPE® foi fornecido via fístula ruminal, em cápsulas, na dose de 0,5 g por novilho diariamente, por dois dias, do nono ao décimo dia, sendo um dia para adaptação e o outro para coleta.

Todas as amostras coletadas (fezes, alimentos oferecidos e sobras) foram secas em estufa a 55 °C por 72 horas, processadas em moinho tipo Willey com peneira de crivos de 1 mm para as análises laboratoriais.

2.4 Determinação das variáveis

2.4.1 Produção fecal

A produção fecal (PF) real, denominada referência, foi obtida pela média da coleta total de fezes em cinco dias consecutivos (do 11º ao 15º). A PF estimada pelos indicadores foi obtida pela seguinte fórmula:

$$PF = \text{Indicador fornecido (g)} / (\text{Indicador nas fezes} \times \text{MS fecal } 105^{\circ}\text{C})$$

A recuperação fecal (RF) ideal foi considerada 100% e RF de cada indicador foi calculada a partir da fórmula:

$$RF = (PF \text{ estimada indicador} / PF \text{ real}) * 100$$

2.4.2 Digestibilidade aparente e estimada por indicadores

A digestibilidade da MS foi determinada, a partir da PF, do controle dos alimentos oferecidos e das sobras dos animais no período de coleta. A digestibilidade estimada pelos indicadores foi calculada pela seguinte fórmula:

$$Digestibilidade \text{ MS } (\%) = (CMS - PF \text{ real ou estimada} / CMS) * 100$$

2.4.3 Consumo real e estimado por indicadores

As dietas fornecidas e as sobras de cada animal foram registradas diariamente antes da alimentação matinal. O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado, multiplicando-se o consumo diário de matéria natural (CDMN) de cada alimento, entre os 11º e 15º dias de cada período, por seu respectivo teor de MS, seguido da subtração da sobra corrigida pela proporção de MS, conforme a fórmula:

$$CMS = (CDMN \times \% \text{ MS}) - MS \text{ (sobras)}$$

O consumo de matéria seca total estimado pelos indicadores foi predito pela fórmula:

$$\underline{\text{Consumo}} = (PF / (1 - \text{digestibilidade})) / 100$$

2.5 Análises Químicas

As amostras dos alimentos oferecidos, sobras e fezes foram avaliadas, quanto à porcentagem de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), segundo Silva e Queiroz (2002). As frações e FDN e FDA foram analisadas, seguindo a metodologia desenvolvida por Van Soest e Robertson (1985), com o uso do extrator ANKON 200 (Ankom Technology Corp. Fairport, NY, USA). O resíduo de FDN foi analisado, o teor de proteína e cinzas, para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp).

A análise do indicador NANOLIPE[®] foi realizada por espectroscopia no infravermelho, em equipamento Varian-800[®] com transformada de Fourier (FT-IV) (SALIBA *et al.*, 2015). Para a determinação do TiO₂, foram realizados os procedimentos descritos por Myers *et al.* (2006) por Espectroscopia no Ultravioleta (UV).

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos a análises de variância, no software R, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Produção e recuperação fecal

A comparação entre produção fecal real (obtida com a coleta total) e a produção estimada por indicadores (NANOLIPE® e TiO₂) encontra-se na Tabela 3.

Não houve diferença estatística ($p>0.05$) entre os indicadores e a produção fecal real.

Tabela 3 - Estimativas das médias de produção fecal, em kg.dia⁻¹, referência e estimada pelos indicadores NANOLIPE® e TiO₂, em função das diferentes inclusões de aluminossilicatos.

Indicadores	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Produção Fecal (kg.dia ⁻¹)				
Real	2.87	2.91	2.35	2.78	2.73
NANOLIPE®	3.15	2.71	2.31	2.80	2.72
TiO ₂	2.44	2.66	2.35	2.95	2.65

Erro padrão da média (EPM): 0.446;

CV: 31.18%;

*Calculado considerando a dieta.

Fonte: Elaborado pelos autores.

A recuperação fecal real e a recuperação estimada por NANOLIPE® e TiO₂ estão na Tabela 4. Não houve efeito da interação indicadores e teores de aluminossilicatos ($p>0.05$), assim como não houve efeito isolado de aluminossilicatos. Houve efeito significativo de indicadores ($p<0.05$), mas a RF estimada pelos indicadores não diferiu da RF real em nenhuma dieta. Entretanto houve diferença significativa entre a recuperação estimada pelo TiO₂ em comparação com o NANOLIPE® no tratamento sem o aditivo. A Figura 1 mostra a RF em real em função do NANOLIPE® e a Figura 2 mostra a RF em real em função do TiO₂. O R² da equação do NANOLIPE® foi de 0.895 e o R² da equação do TiO₂ foi de 0.770. Esses valores indicam que o indicador NANOLIPE® tem maior relação com a produção fecal real.

Tabela 4 - Estimativa das médias de recuperação fecal, em %, real e obtida pelos indicadores NANOLIPE® e TiO₂, em função das diferentes inclusões de aluminossilicatos.

Indicadores	Teores de aluminossilicatos* (%)					Média
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	
Real	100.00ab	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a
NANOLIPE®	110.00ab	94.10a	97.70a	101.00a	99.2a	100.40a
TiO ₂	87.30b	90.1a	97.7a	106.6a	97.1a	95.76a

EPM: 5.44;

CV: 10.57%

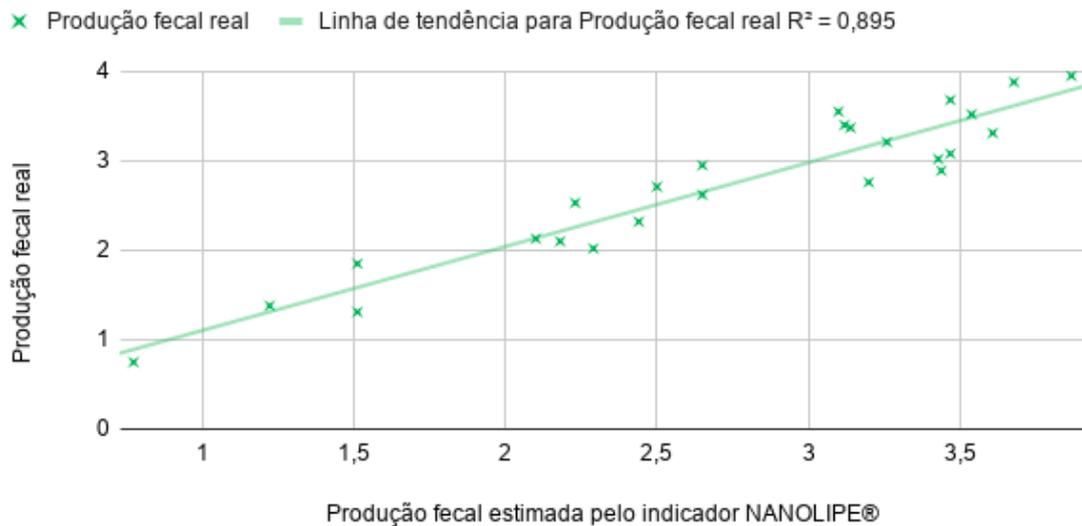
Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05);

*Calculado considerando a dieta.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 1 - Relação entre a produção fecal real e estimada pelo NANOLIPE®.

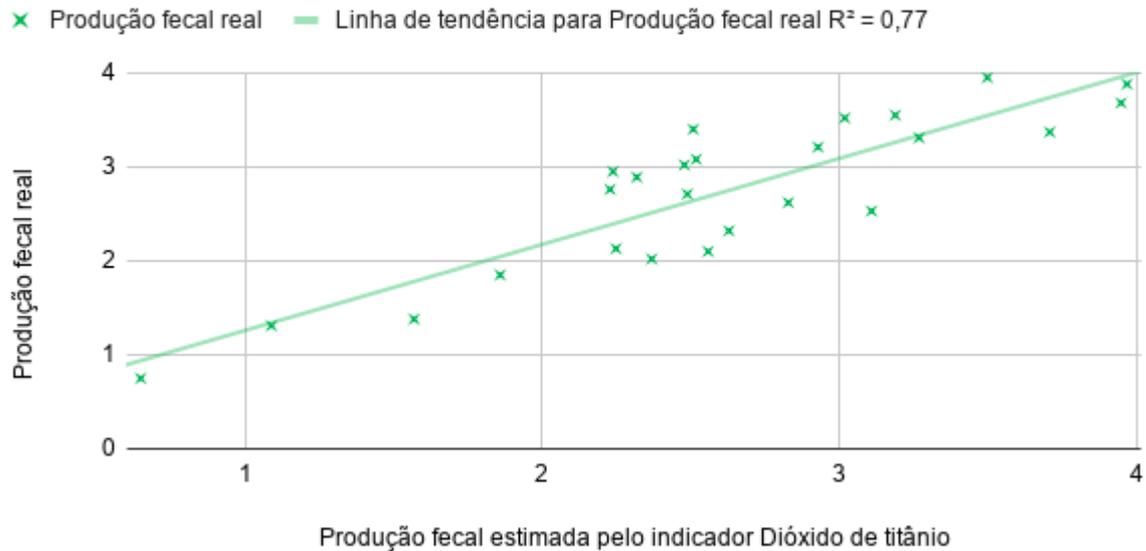
Produção fecal real versus Produção fecal estimada pelo indicador NANOLIPE®



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 2 - Relação entre a produção fecal real e estimada pelo TiO₂.

Produção fecal real versus Produção fecal estimada pelo indicador Dióxido de titânio



Fonte: Elaborado pelos autores.

3.2 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca

A média do consumo de matéria seca (CMS) determinada diariamente, durante o período experimental e o CMS estimado por indicadores, encontra-se na Tabela 5. Não houve diferença estatística ($p > 0.05$) entre o CMS real e o CMS calculado pela técnica dos indicadores.

Tabela 5 - Estimativa das médias de consumo da matéria seca (CMS kg.dia⁻¹) real e estimada pelos indicadores NANOLIPE[®] e TiO₂ em função dos diferentes tratamentos.

Indicadores	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Real	9.06	8.38	7.63	7.39	8.12
NANOLIPE [®]	9.96	7.81	7.39	8.04	8.75
TiO ₂	7.88	7.64	7.66	8.19	8.64

EPM: 0.91

CV: 23.73%

*Calculado considerando a MS da dieta.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Na Tabela 6 estão representados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS, %), obtidos pela coleta total e estimados pelos diferentes indicadores, NANOLIPE® e TiO₂. Não houve diferença estatística ($p>0.05$) entre os dados obtidos pela coleta total em relação à estimativa dos indicadores.

Tabela 6 - Estimativa das médias de digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS, %) da dieta e estimada pelos indicadores NANOLIPE® e TiO₂, em função dos diferentes tratamentos.

Indicadores	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Digestibilidade Aparente da Matéria seca (%)				
Real	67.9	67.1	68.6	62.4	68.8
NANOLIPE®	64.7	69.3	68.8	62.9	61.93
TiO ₂	73.0	70.3	68.7	60.1	67.4

EPM: 5.96

CV: 16.14%

*Calculado considerando a MS da dieta.

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

4.1 Produção e recuperação fecal

A produção fecal é todo conteúdo excretado nas fezes, constituída por elementos não absorvidos da dieta, água e as perdas endógenas. A coleta total de fezes é o procedimento mais acurado, para a determinação da produção fecal, por esse motivo, ela é o padrão de comparação dos indicadores.

A correta obtenção da produção fecal é importante, pois a partir dela se estimam outras variáveis, como consumo e digestibilidade dos nutrientes.

Resultados como o deste trabalho foram encontrados por Titgemeyer *et al.* (2001), que trabalharam com novilhos alimentados com feno de pradaria e Marcondes *et al.* (2006), que utilizaram novilhas mestiças alimentadas à base de cana-de-açúcar e concentrado. Ambos os autores encontraram que TiO_2 pode estimar de forma acurada a produção fecal.

Gonçalves (2012) e Silva (2017) utilizaram o NANOLIPE[®] na determinação da produção fecal de novilhas mestiças e bezerros alimentados com silagem de milho e concluíram que esse indicador pode estimar satisfatoriamente a produção fecal quando comparado à coleta total de fezes.

Em pesquisas com indicadores, espera-se que a estimativa da recuperação fecal seja próxima de 100%, uma vez que essa situação indica a capacidade do indicador em se distribuir no trato gastrointestinal sem ser absorvido e/ou metabolizado (SALIBA, 1998).

Segundo Saliba (2015), as nanopartículas do indicador NANOLIPE[®] são capazes de se homogeneizar mais uniformemente na digesta em menor tempo. Essa capacidade foi possivelmente encontrada, neste estudo, ao considerar que a recuperação fecal média de todas as dietas para o NANOLIPE[®] foi de 100.40% e para o TiO_2 foi de 95.76%.

Figueiredo *et al.* (2010) trabalharam com os indicadores NANOLIPE[®] e TiO_2 para ovinos e encontraram recuperações fecais de 99.1 e 154.33%, respectivamente. Silva (2017) avaliou os mesmos indicadores e encontrou recuperações fecais de 99.06% para NANOLIPE[®] e 109.33% para TiO_2 .

Os resultados de recuperação fecal variam na literatura. Segundo Rodriguez, Saliba e Guimarães Júnior (2006), diversos fatores podem estar associados à capacidade do indicador em expressar sua recuperação fecal, entre elas, a taxa de passagem da dieta, permitindo excreções desuniformes ao longo das coletas.

4.2 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca

Para que um indicador possa ser utilizado na determinação do consumo, é importante que esse valor se assemelhe à medição da ingestão diária, como observado neste estudo.

Pina (2008) também encontrou semelhança entre o consumo de concentrado, utilizando o TiO_2 quando comparado à ingestão real de novilhas Nelore, alimentadas com cana-de-açúcar hidrolisada e diferentes teores de cal.

Gonçalves (2012) determinou o consumo de vacas de leite por meio do NANOLIPE[®] e não encontrou diferenças entre o CMS real e estimado.

Os resultados deste trabalho estão de acordo com os obtidos por Silva (2017), que não encontrou diferenças estatísticas entre o CMS real e o obtido pelos indicadores NANOLIPE[®] e TiO_2 em bezerros alimentados com silagem de milho.

Esses resultados demonstram que os indicadores são estratégias eficazes na determinação do CMS em bovinos, fato que os tornam importantes, em experimentos em condições difíceis, como animais em pastejo ou em que não seja possível colocá-los em baias separadas.

Como consumo e produção fecal são utilizados, para o cálculo da digestibilidade, os bons resultados obtidos anteriormente se refletem na DAMS. Dois fatores podem ter influenciado a correta estimativa dos parâmetros: 1) os indicadores foram fornecidos em cápsulas, o que evita perda do conteúdo durante a ingestão; 2) os indicadores foram ofertados duas vezes ao dia, o que minimiza as variações diurnas. O NANOLIPE[®] apresenta ainda uma vantagem adicional que é a maior precisão e rapidez da técnica analítica.

Titgemeyer *et al.* (2001) encontraram estimativas de DAMS para TiO_2 semelhantes às obtidas pela coleta total de fezes em novilhos alimentados com feno de pradaria.

Ferreira *et al.* (2009) avaliaram o uso do TiO_2 na avaliação da digestibilidade e verificaram que, independente da dieta usada (cana-de-açúcar ou silagem de milho), esse indicador produziu estimativas semelhantes às DAMS quando comparadas àquelas estimadas pela coleta total de fezes.

Couto Filho (2012) utilizou o NANOLIPE[®] para a estimativa da digestibilidade dos nutrientes em vacas leiteiras consumindo dieta total composta por silagem de milho, feno de tifton, milho moído, polpa cítrica, farelo de soja, soja grão crua, soja grão tostada e premix mineral e encontraram que o indicador foi preciso na estimativa de todas as variáveis avaliadas.

Silva (2017) analisou diversos indicadores (NANOLIPE[®], LIPE[®], TiO₂ e FDNi), para a estimativa da DAMS em dois períodos e concluíram que apenas o NANOLIPE[®] foi capaz de estimar adequadamente a DAMS em todos os períodos.

5 CONCLUSÃO

Os indicadores NANOLIPE[®] e TiO₂ podem estimar a produção e a recuperação fecal, o consumo e a digestibilidade da matéria seca de forma eficiente. Entretanto as estimativas obtidas com o NANOLIPE[®] foram mais próximas aos valores reais.

REFERÊNCIAS

- COUTO FILHO, C. C. de C. **Indicadores de digestão total, parcial e síntese de proteína microbiana em bovinos**. 2012. 109 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- FERREIRA, M. de A. *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, ago. 2009.
- FIGUEIREDO, M. R. P. de *et al.* Utilização da LIPE na avaliação da produção fecal e digestibilidade em ovinos comparada com a coleta total em dietas contendo diferentes fontes de fibra. *In*: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 6., 2010, Mossoró. **Anais [...]**. Mossoró: [s.n.], 2010.
- GONÇALVES, N. C. **Validação do nanolipe como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros**. 2012. 109 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **Normas climatológicas do Brasil**. Brasília: INMET, 2019. Disponível em: www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisclimatologics. Acesso em: 5 jan. 2019.
- MARCONDES, M. I. *et al.* Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 1-5.
- MYERS, W. D. *et al.* Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and feces of ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, n. 1-2, p. 135-141, May 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of beef cattle**. 8. ed. Washington, DC: National Academy Press, 2016.
- PINA, D. dos S. **Avaliação nutricional da cana-de-açúcar acrescida de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento para bovinos**. 2008. 104 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 323-352.
- SALIBA, E. de O. S. **Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais**. 1998. 251 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

- SALIBA, E. de O. S. *et al.* Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker Lipe. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 4, p. 1-10, Aug. 2015.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2002.
- SILVA, F. A. **Avaliação do consumo e determinação da mobilidade mineral em bovinos suplementados com fontes quelatadas e inorgânicas de microminerais**. 2017. 126 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.
- TITGEMEYER, E. C. *et al.* Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 4, p. 1059–1063, Apr. 2001.
- VALADARES FILHO, S. C. *et al.* **BR-CORTE 3.0: cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados**. Pompéu, 2016. Disponível em: www.brcorte.com.br. Acesso em: 1 mar. 2017.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985.

CAPÍTULO 4 - INDICADORES NA ESTIMATIVA DE CONSUMO DIFERENCIADO DE SUPLEMENTO MINERAL

RESUMO

O presente trabalho conta com três experimentos. No primeiro experimento, o objetivo foi avaliar o consumo involuntário de suplemento mineral (fornecido diretamente no rúmen), obtido pelo método do duplo indicador, em dietas contendo diferentes níveis de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0% na MS da dieta). O segundo e o terceiro experimentos tiveram como objetivo avaliar o consumo voluntário de suplemento mineral (o animal consumiu o suplemento no cocho *ad libitum*) pelo método do duplo indicador. No primeiro experimento, foram utilizados cinco bovinos Nelore, em um Quadrado Latino 5×5 , em um esquema de parcelas subdivididas. As parcelas eram os teores de aluminossilicatos e as subparcelas eram os indicadores. No segundo ensaio, foram usados oito bovinos Nelore. O primeiro e o segundo experimentos foram realizados no Brasil, no campus da UFV-Florestal. No terceiro experimento, realizado na Estação Experimental da Universidade da Flórida, nos Estados Unidos, foram utilizados oito bovinos Aberdeen Angus. O delineamento estatístico utilizado, no segundo e terceiro experimentos, foi inteiramente casualizado (DIC). O consumo de mistura mineral real foi semelhante ao estimado pelos indicadores nos experimentos 1 e 2. Entretanto a técnica superestimou em 145% o consumo da mistura mineral no ensaio 3. Conclui-se que os indicadores estimaram os parâmetros estabelecidos com êxito.

Palavras-chave: Aluminossilicatos; Dióxido de titânio; NANOLIPE®; Nutrição.

CHAPTER 4 - MARKERS IN THE ESTIMATION OF DIFFERENTIATED INTAKE OF MINERAL SUPPLEMENT

ABSTRACT

This study consisted of three experiments. The first experiment aimed to evaluate the involuntary intake of mineral supplement (provided directly in the rumen) using the double marker method in diets containing different levels of aluminosilicates (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0% in the diet DM). The second and third experiments aimed to evaluate the voluntary intake of mineral supplement (the animal consumed the supplement from the trough *ad libitum*) using the double indicator method. The first experiment consisted of five Nelore bovines used in a 5×5 Latin Square in a split-plot scheme. The plots were the aluminosilicate contents and the sub plots were the markers. The second experiment employed eight Nelore bovines. The first and second experiments were conducted in Brazil, at the UFV-Florestal campus. The third experiment, conducted at the Experimental Station of the University of Florida in the United States, employed eight Aberdeen Angus bovines. The statistical design used in the second and third experiments was entirely randomized. The real mineral mixture intake was similar to that estimated by the markers in experiments 1 and 2. However, the technique overestimated the intake of the mineral mixture in experiment 3 by 145%. In conclusion, the markers have successfully estimated the established parameters.

Keywords: Aluminosilicates; Titanium dioxide; NANOLIPE®; Nutrition.

1 INTRODUÇÃO

Os minerais participam de componentes estruturais no organismo animal, atuam em rotas metabólicas, integram biomoléculas e cofatores enzimáticos, ajudam no controle da pressão osmótica, no equilíbrio ácido-base e na regulação da replicação e diferenciação celular (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Esses elementos compõem 5% do peso total do corpo. A deficiência ou excesso impactam negativamente no desempenho produtivo pela alteração do crescimento, da imunidade, da reprodução e de outras funções fisiológicas importantes à vida (LAMB *et al.*, 2008).

A avaliação do consumo da mistura mineral (MM) por animal é complexa. O sal comum (NaCl), incorporado de 30 a 50% da mistura total, é um veículo e, ao mesmo tempo, um limitante da ingestão de outros minerais, uma vez que os bovinos ingerem o suplemento até atingir a necessidade de NaCl (PRADO *et al.*, 2002). Outro problema é o consumo variável entre os animais, em um mesmo lote, seja por impedimento do acesso por hierarquia ou por falta de espaço no cocho (PEIXOTO *et al.*, 2003).

Atualmente, a pesquisa em nutrição visa determinar as exigências minerais, para tornar o oferecimento da MM mais racional, com o intuito de estabelecer o nível ótimo de consumo que diminua os custos de produção e reduza a excreção de elementos inorgânicos no meio ambiente, mantendo o desempenho animal.

Os indicadores são compostos indigestíveis presentes na dieta ou adicionados a ela, que podem estimar a excreção fecal, a partir da qual obtêm-se outros parâmetros, como a digestibilidade e o consumo.

O indicador óxido crômico foi usado, durante muito tempo, porém, por ser cancerígeno, sua substituição tem sido incentivada. O dióxido de titânio (TiO₂) tem sido empregado em sua substituição, por ser uma substância que pode ser adicionada às dietas sem riscos.

O NANOLIPE[®], forma alterada do hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, LIPE[®], é um indicador externo de digestibilidade, desenvolvido especificamente para pesquisas. Esse indicador apresenta as vantagens de um curto período de adaptação e ser de análise rápida e precisa.

O uso de indicadores, para estimar o consumo individual diferenciado de suplemento mineral, assim como o de volumoso ou concentrado, pode ser uma alternativa interessante. Marcondes *et al.* (2006) propuseram a metodologia do duplo indicador, em que um indicador é usado para estimar o consumo e o outro é utilizado para avaliar a produção fecal.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia dos indicadores externos NANOLIPE® e TiO₂ na estimativa do consumo diferenciado de mistura mineral involuntário e voluntário em diferentes raças em condições climáticas diversas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

Os procedimentos descritos adiante foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA/UFMG), sob o protocolo 15/2017. O primeiro e o segundo experimentos foram realizados, no período de maio a agosto de 2017, no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O clima nessa região é classificado como tropical de altitude. A média de temperatura anual é 20.1°C, com mínima anual de 13.9°C e a máxima de 28°C. O índice médio pluviométrico anual é de 1465 mm. A umidade relativa do ar é de 72% (dados climáticos: INMET).

O terceiro experimento foi executado de junho a julho de 2017, na Estação Experimental da Universidade da Flórida, Range Cattle Research and Education Center que fica a 30 Km da cidade Ona-FL (27°31'N e 81°51' W), nos Estados Unidos. O clima da região é classificado como subtropical úmido (Cfa) segundo a classificação climática de Koppen-Geige. A temperatura média é de 23.5° C, com mínima de 11.0° C e máxima de 34.5° C. A precipitação pluviométrica é de 1200 mm ao ano e umidade relativa do ar de 80% (UNIVERSITY OF FLORIDA, 2017).

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária (EV) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.2 Instalações, animais e delineamentos

Em todos os experimentos, os animais foram mantidos em baias de cimento de 18m², providas de parte coberta, solário, cocho e bebedouros.

No primeiro ensaio, usaram-se cinco bovinos Nelore, com peso médio inicial de 397±32.10 kg, fístula ruminal em um delineamento Quadrado Latino 5×5 com esquema em parcelas subdivididas. As parcelas foram os teores de aluminossilicatos (*Beefplus*) e as subparcelas foram as maneiras de obter o consumo real de mistura mineral (Consumo real e técnica do duplo indicador). O experimento contou com cinco períodos de 15 dias, totalizando 75 dias.

Os indicadores NANOLIPE® e dióxido de titânio (TiO₂) foram usados na estimativa consumo involuntário de suplemento mineral com a técnica do duplo indicador. Essa técnica

consiste em usar um dos indicadores para estimar o consumo e o outro para estimar a produção fecal. Considerou-se consumo involuntário, no primeiro ensaio, uma vez que o suplemento mineral foi fornecido diretamente no rúmen, via fístula ruminal.

No segundo ensaio, foram utilizados oito novilhos Nelore, inteiros, com peso vivo médio de 358.75 ± 12.50 kg e, no terceiro ensaio, utilizaram-se oito novilhas Aberdeen Angus, com peso vivo médio de 352.64 ± 9.94 kg. Em ambos os ensaios, o delineamento usado foi inteiramente casualizado (DIC). O período experimental foi de 15 dias, para cada experimento.

Nos dois últimos experimentos, os indicadores NANOLIPE[®] e dióxido de titânio (TiO₂) foram usados na avaliação da ingestão voluntária do suplemento mineral. Nesses casos, o suplemento mineral ficava disponível no cocho para o consumo *ad libitum* pelos animais.

2.3 Dietas e fornecimento da alimentação e dos indicadores

As dietas do primeiro ensaio foram elaboradas com 40% de silagem de milho e 60% de concentrado, calculadas segundo o BR-corte (VALADARES FILHO *et al.*, 2016) e acrescidas de diferentes teores de aluminossilicatos (0; 0.5; 1.0; 1.5 e 2.0%). O aluminossilicato usado foi a *Beefplus*, um aditivo nutricional comercial à base de glauconita. A *Beefplus* foi doada pela empresa VerdeAgritech.

A proporção dos ingredientes utilizados e a composição bromatológica das dietas experimentais estão nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (%) utilizados nas dietas experimentais para bovinos Nelore, no primeiro experimento.

Ingredientes	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
	Composição percentual				
Silagem de milho	39.2	39.0	38.8	38.6	38.4
Fubá de milho	44.1	43.9	43.7	43.4	43.2
Farelo de soja	14.7	14.6	14.5	14.5	14.4
Aluminossilicato	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Sal mineral ¹	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

*Calculado considerando a MS da dieta.

¹Composição na Tabela 3.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 2 - Composição bromatológica das dietas experimentais fornecidas para bovinos Nelore, com base na MS, no primeiro experimento.

Variável	Teores Aluminossilicatos (%)*				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
MS	64.93	65.09	65.26	65.42	65.59
MM	3.98	4.29	4.76	5.23	5.70
PB	13.90	13.82	13.74	13.70	13.62
EE	3.98	3.96	3.94	3.92	3.90
FDNcp	27.50	27.36	27.21	27.08	26.94
FDA	13.32	13.26	13.19	13.12	13.05
CNF	48.83	48.59	48.36	48.07	47.83
NDT ¹	81.41	81.00	80.59	80.16	79.75

MS =matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas; FDA= fibra em detergente ácido; CNF = carboidratos não fibrosos; NDT= nutrientes digestíveis totais; *Calculado considerando a MS da dieta; ¹NDT tabelado (Br-corte).

Fonte: Valadares Filho *et al.* (2016).

O suplemento mineral usado neste e no segundo experimento foi o S3-85 Cria, pronto para uso. A Tabela 3 mostra os ingredientes da mistura mineral fornecida aos bovinos Nelore.

Tabela 3 - Composição da mistura mineral fornecida aos bovinos Nelore no primeiro e segundo ensaios.

Variável	Proporção.kg ⁻¹	
	Mínimo	Máximo
Cálcio (g)	150.00	190.00
Fósforo (g)	85.00	-
Sódio (g)	129.50	-
Magnésio (g)	18.00	-
Enxofre (g)	18.00	-
Cobalto (mg)	60.00	-
Cobre (mg)	1500.00	-
Iodo (mg)	90.00	-
Manganês (mg)	1500.00	-
Selênio (mg)	20.00	-
Zinco (mg)	5250.00	-
Ferro (mg)	1500.00	-
Flúor (mg)	-	1000.00

Fonte: Elaborado pelos autores.

A dieta do segundo ensaio foi constituída por silagem de milho e mistura mineral (S3-85 Cria), fornecidas *ad libitum*. O concentrado foi fornecido, diariamente, na quantidade de 1% do peso vivo por animal. A Tabela 4 mostra a composição nutricional dos ingredientes.

Tabela 4 - Composição bromatológica da dieta experimental fornecida para bovinos Nelore, com base na MS, no segundo experimento,

Variável	Silagem de milho	Concentrado*
MS	30.10	87.90
MM	4.87	4.32
PB	7.70	23.92
EE	2.48	1.32
FDA	60.45	38.23
FDN	30.59	8.90

MS =matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido.

*Composição: fubá de milho (65%) e farelo de soja (35%)

Fonte: Elaborado pelos autores.

A dieta do terceiro ensaio foi constituída por feno de capim estrela e mistura mineral (Winter Mineral for Beef Cattle on Pasture), fornecidos *ad libitum* e 1% do peso vivo de concentrado por animal diariamente.

Na Tabela 5, encontra-se a composição bromatológica da dieta experimental e, na Tabela 6, encontra-se a composição da mistura mineral do terceiro experimento.

Tabela 5 - Composição bromatológica da dieta experimental fornecida às novilhas *Aberdeen Angus*, com base na MS, no terceiro experimento.

Variável	Feno de capim-estrela	Concentrado*
MS	90.00	90.10
MO	94.53	91.70
PB	9.58	24.41
EE	1.50	04.04
CT	83.45	63.25
FDN	75.85	47.78
FDA	40.39	21.88

MS =matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido.

*Composição: farelo de soja (22%), casca de soja (23%), grãos secos de destilaria de whisky (22%), caroço de algodão (15%), milho grão (15%), melaço (1%) e calcário (2%).

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 6 - Composição da mistura mineral fornecida às novilhas *Aberdeen Angus*, com base na MS, no terceiro experimento.

Variável	Proporção
Cálcio, mínimo, g	16.80
Fósforo, Mínimo, g	4.00
Sódio, mínimo, g	20.70
Magnésio, g	1.00
Cobalto, mg	60.00
Cobre, ppm	1.75
Iodo, mg	350.00
Selênio, mg	60.00
Zinco, mg	5.00
Vitamina A, UI/kg	200.00
Vitamina D, UI/kg	15.00
Vitamina E, UI/kg	200.00

Fonte: Elaborado pelos autores.

Em todos os ensaios, os animais foram adaptados às dietas por 10 dias e os 5 dias subsequentes (período de coleta) compreenderam a avaliação do consumo e da digestibilidade.

O alimento foi ofertado duas vezes ao dia, às 7h e às 15h. A pesagem do alimento fornecido e das sobras foi feita diariamente para a estimativa do consumo.

Do 11º ao 15º dia, foi realizada coleta total de fezes, as quais foram coletadas do piso de cada baia e pesadas imediatamente após a defecção.

Após a pesagem e homogeneização, foram retiradas subamostras de 10% do total de cada coleta, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e mantidas congeladas a -20º C. Ao final do ensaio, essas subamostras, referentes a cada animal, foram reunidas em uma amostra composta para as análises laboratoriais.

O indicador TiO₂ foi fornecido junto à mistura mineral por 12 dias, tendo início a partir do terceiro dia de adaptação até o penúltimo dia do período de coleta. Para o ensaio 1, esse indicador foi fornecido na quantidade de 2 g por animal, via fístula ruminal. Nos outros ensaios, foram ofertados 10 g.

O indicador NANOLIPE® foi fornecido em cápsulas, na dose de 0.5 g por novilho diariamente, via fístula ruminal no primeiro experimento e homogeneizado na mistura mineral nos demais experimentos, por dois dias, do nono ao décimo dia, sendo um dia para adaptação e o outro para coleta.

Todas as amostras coletadas (fezes, alimentos oferecidos e sobras) foram secas em estufa a 55 °C por 72 horas, processadas em moinho tipo Willey com peneira de crivos de 1 mm para as análises laboratoriais.

2.4 Determinação do consumo de mistura mineral

No ensaio 1, a ingestão de sal era conhecida previamente (2% da MS da dieta) e foi adicionada diretamente no rúmen. Nos demais ensaios, a ingestão diária de suplemento mineral foi obtida pelo teor total de minerais oferecidos, subtraída a sobra diária do suplemento para cada animal. A ingestão de sal estimada por indicadores foi obtida pela fórmula:

$$CS = (EF * If) / Ic$$

Em que:

CS = consumo de matéria seca do mineral (g);

EF = excreção fecal estimada por indicador NANOLIPE® (g);

If = concentração do indicador NANOLIPE® nas fezes (g/g);

Ic = concentração do indicador TiO₂ no suplemento mineral (g/g).

2.5 Análises Químicas

A análise do indicador NANOLIPE® foi realizada por espectroscopia no infravermelho, em equipamento Varian-800® com transformada de Fourier (FT-IV) (SALIBA *et al.*, 2015). Para a determinação do TiO₂, foram realizados os procedimentos descritos por Myers *et al.* (2006) pela Espectroscopia no Ultravioleta (UV).

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos a análises de variância, no R, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação do consumo diferenciado de sal por meio da técnica do duplo indicador

Nas Tabelas 7, 8 e 9 estão apresentados os dados, para o consumo diferenciado de suplemento mineral, utilizando a técnica do duplo indicador. Não houve diferença estatística ($p > 0.05$) entre o consumo de suplemento estimado pelo método do duplo indicador no primeiro experimento (ingestão forçada) e no segundo experimento (consumo *ad libitum*). Entretanto, no terceiro experimento, o método do duplo indicador superestimou em 145% o consumo da mistura mineral.

Tabela 7 - Estimativas de média de consumo involuntário de mistura mineral real e baseado na técnica do duplo indicador, no primeiro experimento.

Técnicas	Teores de aluminossilicatos* (%)				
	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Consumo involuntário de mistura mineral (g.dia ⁻¹)					
Real	120	120	120	120	120
Duplo	136	131	122	118	106
Consumo involuntário de mistura mineral (g.100.kg.PV ⁻¹)					
Real	26.60	26.54	26.61	25.61	25.53
Duplo	30.15	28.98	27.05	25.18	22.55
Consumo involuntário de mistura mineral (g.kg ^{0.75})					
Real	1.23	1.22	1.23	1.21	1.19
Duplo	1.39	1.34	1.25	1.19	1.10

EPM: 6.99

CV: 13.07%

*Com base na MS da dieta.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 8 - Consumo voluntário de mistura mineral real e estimado pela técnica do duplo indicador, no segundo experimento.

Indicadores	Segundo Experimento ¹
Consumo voluntário de mistura mineral (g.dia ⁻¹)	
Real	151.05
Duplo	191.18
Consumo voluntário de mistura mineral (g.100 KgPV ⁻¹)	
Real	41.67
Duplo	53.42
Consumo voluntário de mistura mineral (g.kg ^{0,75})	
Real	1.83
Duplo	2.32

¹Brasil, bovinos Nelore

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 9 - Consumo voluntário de mistura mineral real e estimado pela técnica do duplo indicador, no terceiro experimento.

Indicadores	Terceiro Experimento ²
Consumo voluntário de mistura mineral (g.dia ⁻¹)	
Real	84.25b
Duplo	207.93a
Consumo voluntário de mistura mineral (g.100 KgPV ⁻¹)	
Real	26.00b
Duplo	59.03a
Consumo voluntário de mistura mineral (g.kg ^{0,75})	
Real	1.08b
Duplo	2.67a

²EUA, novilhas *Aberdeen Angus*

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna são diferentes pelo teste de Tukey (P<0.05).

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

4.1 Avaliação do consumo diferenciado de sal por meio da técnica do duplo indicador

Segundo Marcondes *et al.* (2006), a técnica do duplo indicador pode estimar com precisão cada componente da dieta, entretanto deve-se avaliar qual é o indicador mais adequado à estimativa de determinada variável, já que um indicador usado, para avaliar a ingestão de volumoso, pode não ser o ideal para determinar a ingestão de concentrado (SALIBA; RODRIGUEZ; PILO-VELOSO, 2003).

Utilizar indicadores, na avaliação do consumo de suplemento mineral, é uma tarefa complexa, pois a mistura mineral (MM) é fornecida em menor quantidade que os outros componentes da dieta, fazendo com que qualquer erro possa influenciar significativamente a estimativa e o indicador deve ser bem incorporado à MM para que não ocorram perdas.

Outra desvantagem é que a técnica do duplo indicador pode acumular erros das diferentes análises usadas para as estimativas em comparação com o consumo real (MARCONDES *et al.*, 2006).

O primeiro experimento deste trabalho foi realizado para certificar de que era possível mensurar a ingestão de suplemento mineral pela técnica do duplo indicador. O fornecimento de MM diretamente no rúmen garantiu que não houvesse perdas no fornecimento do indicador e permitiu o controle mais preciso do suplemento ingerido.

O segundo e o terceiro ensaios foram realizados, para confirmar se o consumo de MM poderia ser estimado em condições práticas, em diferentes raças, dietas e condições climáticas.

Silva (2017) utilizou diversos indicadores, para a estimativa do consumo MM e encontrou que o NANOLIPE[®] permitiu estimar a ingestão de MM tanto no primeiro e segundo experimentos deste trabalho.

Pereira (2013) utilizou NANOLIPE[®] e TiO₂ em vacas leiteiras para a estimativa do consumo diferenciado de MM e, como no terceiro experimento deste estudo, os indicadores superestimaram a ingestão.

As diferenças entre o consumo real e estimado no terceiro ensaio podem ser explicadas pela época do ano, de umidade relativa muito elevada, na região dos Estados Unidos, onde o ensaio foi conduzido. Mesmo levando as sobras à estufa, o suplemento absorvia rapidamente a umidade do ar, que mascarava o consumo real.

5 CONCLUSÃO

A técnica do duplo indicador foi eficiente para estimar o consumo involuntário de suplemento mineral e o consumo voluntário de mistura mineral de bovinos Nelore no Brasil. Entretanto a técnica superestimou o consumo de mistura mineral de bovinos Aberdeen Angus.

REFERÊNCIAS

- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **Normas climatológicas do Brasil**. Brasília: INMET, 2019. Disponível em: www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisclimatologics. Acesso em: 5 jan. 2019.
- LAMB, G. C. *et al.* Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.106, n. 3-4, p. 221-231, July 2008.
- MARCONDES, M. I. **Desempenho de bovinos Nelores alimentados individualmente ou em grupos, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes**. 2007. 136 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.
- MARCONDES, M. I. *et al.* Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 43., 2006, João Pessoa. **Anais** [...]. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 1-5.
- MYERS, W. D. *et al.* Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and feces of ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, n. 1-2, p. 135-141, May 2006.
- PEIXOTO, P. V. *et al.* Eficiência reprodutiva de matrizes bovinas de corte submetidas a três diferentes tipos de suplementação mineral. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 125-130, set. 2003.
- PEREIRA, L. C. **Avaliação de indicadores para estimar consumo total, produção fecal, digestibilidade aparente e consumo diferenciado de volumoso, concentrado e suplemento mineral por bovinos leiteiros**. 2013. 67 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- PRADO, I. N. do *et al.* Desempenho de bovinos em crescimento e terminação mantidos em pastagem durante o verão e suplementados com sal proteinado. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 1059-1064, 2002.
- SALIBA, E. de O. S. *et al.* Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker Lipe. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 4, p. 1-10, Aug. 2015.
- SALIBA, E. de O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILO-VELOSO, D. Purified lignin extracted from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. *In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION*, 9., Porto Alegre, 2003. **Proceedings** [...]. Porto Alegre: WAAAP/ALPA/SBZ/UFRGS, 2003. p. 221-223.
- SILVA, F. A. **Avaliação do consumo e determinação da mobilidade mineral em bovinos suplementados com fontes quelatadas e inorgânicas de microminerais**. 2017. 126 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. (Ed.). **The mineral nutrition of livestock**. New York: CABI Publishing, 1999.

UNIVERSITY OF FLORIDA. **FAWN - The Florida Automated Weather Network**. Gainesville, 2017. Disponível em: <https://fawn.ifas.ufl.edu/data/reports/>. Acesso em: 10 dez. 2017.

VALADARES FILHO, S. C. *et al.* **BR-CORTE 3.0**: cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. Pompéu, 2016. Disponível em: www.brcorte.com.br. Acesso em: 1 mar. 2017.