












# Líquido da casca da castanha de caju como aditivo na dinâmica da fermentação ruminal e na utilização de nitrogênio em novilhos suplementados em pasto

Cashew nutshell liquid as an additive on rumen fermentation dynamics and nitrogen utilization in pasture-supplemented steers

Douglas Gabriel Anschau<sup>1</sup> , Rafael Henrique Tonissi Buschinelli de Goes<sup>\*1</sup> , Jefferson Rodrigues Gandra<sup>2</sup> , Nayara Gonçalves da Silva<sup>1</sup> , Sullyvan Silva Oliveira<sup>1</sup> , Luis Carlos Vinhas Ítavo<sup>3</sup> , Jaqueline Luiza Royer<sup>1</sup> , Luiz Miguel Anschau<sup>1</sup> , Carolina Marques Costa Araújo<sup>1</sup> 

1 Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil 

2 Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa), Xinguara, Pará, Brasil 

3 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil 

\*autor correspondente: rafaelgoes@ufgd.edu.br

Recebido: 09 de abril de 2025. Aceito: 26 de setembro de 2025. Publicado: 09 de outubro de 2025. Editor: Rondineli P. Barbero

**Resumo:** O objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação líquida da casca de castanha de caju (CNSLt) sobre a fermentação ruminal e a utilização de nitrogênio em novilhos em pastejo. Foram avaliados cinco novilhos mestiços canulados no rúmen. A pastagem utilizada foi a *Urochloa brizantha*, cv. Marandu. Os tratamentos foram: suplementação sem infusão de CNSLt (controle), suplementação + 0,300 mg/kg MS, suplementação + 0,600 mg/kg MS, suplementação + 0,900 mg/kg MS e suplementação + 1.200 mg/kg MS de CNSLt. A inclusão de CNSLt na dieta dos novilhos não alterou ( $P > 0,05$ ) o consumo e a digestibilidade aparente. Entre os parâmetros de fermentação, apenas o ácido graxo valérico diferiu entre os tratamentos ( $P=0,040$ ). A inclusão de 600 mg/kg MS de CNSLt apresentou os maiores valores de ácido valérico (1,06). Quanto maior a inclusão de CNSLt, menor a excreção fecal de N ( $P=0,029$ ). As outras variáveis de utilização de N, os derivados de purina e o metabolismo da ureia e da creatinina não foram afetados pelo tratamento ( $P > 0,05$ ). Pode-se concluir que a adição de CNSLt à dieta de novilhos em pastejo não altera a ingestão e a digestibilidade do pasto. A adição de 600 mg/kg MS de CNSLt à dieta promoveu um aumento na produção de ácido valérico, o que melhorou a fermentação ruminal. A diminuição linear da excreção fecal de N sugere uma melhor utilização do N com o aumento do CNSLt na dieta.

**Palavras-chave:** aditivo; *Anacardium occidentale*; gado em pasto; utilização de nitrogênio; fermentação ruminal.

**Abstract:** The objective was to evaluate the effects of supplementing technical cashew nutshell liquid (CNSLt) on rumen fermentation and nitrogen utilization in grazing steers. Five crossbred rumen-cannulated steers were evaluated. The pasture used was *Urochloa brizantha*, cv. Marandu. The treatments were: supplementation without CNSLt infusion (control), supplementation + 300 mg/kg DM, supplementation + 600 mg/kg DM, supplementation + 900 mg/kg DM, and supplementation + 1,200 mg/kg DM of CNSLt. The inclusion of CNSLt in the steers' diet did not alter ( $P > 0.05$ ) intake or apparent digestibility. Among the fermentation parameters, only valeric fatty acid differed between treatments ( $P=0.040$ ). The inclusion of 600 mg/kg DM CNSLt resulted in the highest valeric acid values (1.06). Higher inclusion of CNSLt led to lower



fecal N excretion ( $P=0.029$ ). The other N utilization variables, purine derivatives, and urea and creatinine metabolism were not affected by the treatment ( $P>0.05$ ). In conclusion, the addition of CNSLt to the diet of grazing steers does not alter pasture intake or digestibility. The addition of 600 mg/kg DM CNSLt to the diet increased valeric acid production, improving rumen fermentation. The linear decrease in fecal N excretion suggests better N utilization with increasing CNSLt in the diet.

**Keywords:** additive; *Anacardium occidentale*; grazing cattle; nitrogen utilization; rumen fermentation.

## 1. Introdução

O uso de recursos alimentares alternativos na produção animal tem ganhado atenção significativa nos últimos anos, particularmente no contexto da pecuária sustentável. Entre essas alternativas, o líquido técnico da casca da castanha de caju (LCCt), um subproduto da indústria de processamento do caju (*Anacardium occidentale*), surgiu como um candidato promissor devido à sua rica composição em compostos bioativos, incluindo ácido anacárdico e cardanol, que demonstraram potenciais benefícios para a saúde e produtividade animal <sup>(1,2)</sup>.

Nesse sentido, o ácido anacárdico, um composto secundário presente no LCC, demonstrou atuar como surfactante nas membranas de Archea e bactérias gram-positivas <sup>(3,4)</sup>, influenciando a fermentação ruminal <sup>(2, 5-6)</sup> e a eficiência da absorção de nutrientes em ruminantes <sup>(2)</sup>. Estudos anteriores indicaram que a inclusão de LCC em dietas para ruminantes pode levar ao aumento da eficiência da fermentação ruminal, resultando em maior produção de ácidos graxos voláteis e melhor retenção de nitrogênio <sup>(2,7)</sup>.

Além disso, os efeitos do LCCt no metabolismo ruminal são particularmente relevantes no contexto da mitigação das emissões de metano, em condições in vivo e in vitro <sup>(8-9)</sup>, uma preocupação significativa em sistemas de produção de carne bovina <sup>(7)</sup>. Portanto, a manipulação da fermentação ruminal por meio da inclusão de LCCt em dietas para bovinos em pastejo pode melhorar a utilização de nutrientes, promover o uso sustentável de pastagens e reduzir as emissões de gases de efeito estufa da produção pecuária <sup>(10,7)</sup>.

O objetivo desta pesquisa é avaliar os efeitos da suplementação líquida de LCCt na ingestão e digestibilidade de nutrientes, na fermentação ruminal e na utilização de nitrogênio para novilhos em pastejo. Este estudo visa fornecer *insights* sobre o potencial do LCCt como um aditivo alimentar funcional que pode aumentar a eficiência e a sustentabilidade dos sistemas de produção de carne bovina.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Desenho experimental e animais

Este estudo seguiu os princípios éticos estabelecidos pelo Comitê de Ética em Uso Animal/CEUA/UFMG (Protocolo 023/2015); e foi conduzido nas dependências do setor de Nutrição e Produção de Ruminantes (NERU/UFMG); do Laboratório de Pesquisa em Agroenergia e Conservação Ambiental (LAPAC/FINEP) e do Laboratório de Nutrição Animal (LANA/UFMG), localizados no município de Dourados-MS, situado a 22°11'43,49" de latitude sul e 54°55'77" de longitude oeste. O experimento foi conduzido durante o período de transição seca-água, de setembro a novembro de 2018.

Foram utilizados cinco bovinos - novilhos mestiços com cânula ruminal - com peso inicial médio de 300 kg e 22 meses de idade. Os animais foram distribuídos em delineamento quadrado latino 5x5. Cada período experimental teve duração de 16 dias, sendo sete dias para adaptação e nove dias para coleta de dados. Os animais permaneceram em piquetes individuais de 0,2 hectares/animal de *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Syn *Brachiaria*).

## 2.2. Dietas e suplementação

O líquido técnico da casca da castanha de caju (LCCT; Usibras, Aquiraz, Ceará, Brasil) foi administrado diretamente no rúmen nas concentrações de 0, 300, 600, 900 e 1200 mg/kg de MS. A composição do LCCT foi: 10,03 mg/g de ácido anacárdico, 540,77 mg/g de cardanol, 102,34 mg/g de cardol e 19,17 mg/g de 2-metilcardol.

A análise química do LCCT foi realizada por Cromatógrafo Líquido de alta eficiência (modelo Varian 210), Detector de Arranjo de Diodos (DAD) e software Star WS (estação de trabalho 2.0). A coluna utilizada foi a de fase reversa C18 (25 cm × 4,6 mm × 5 µm) (Phenomenex). A eluição foi realizada utilizando um sistema de gradiente acetonitrila/água/ácido acético (66/33/2v:v) (A) e tetraidrofurano (B), que iniciou a eluição com 10% de B e em 40 minutos atingiu 100% de B. A vazão da bomba foi de 1 mL/min e o volume injetado foi de 20 µL. A análise foi conduzida a 22 °C, tanto na preparação da curva analítica quanto na análise do produto, e as injeções foram realizadas em triplicata. O produto foi solubilizado em acetonitrila/água (66/35v:v) fornecendo uma concentração final de 1000 µg/mL. As curvas padrão externas empregadas para quantificar ácido anacárdico, cardanol, 2-metilcardol e cardol no produto LCCT foram preparadas empregando compostos de 97% de pureza em concentrações de 10-100 µg/mL. Os resultados foram expressos em mg/g de amostra, obtidos a partir de uma curva de padronização externa, com coeficiente de correlação de 0,9992 para todos os compostos analisados.

O suplemento foi balanceado conforme o NRC <sup>(11)</sup>, contendo 19,66% de proteína bruta e uma composição de 35% de milho, 15% de farelo de soja, 30% de farelo de trigo, 5,5% de ureia protegida, 6% de NaCl e 8,5% de núcleo comercial. Os animais receberam 0,8% do peso corporal em suplemento por dia, no período da manhã (08:00). No primeiro dia de cada período experimental, os novilhos foram pesados para ajuste do fornecimento de suplemento.

## 2.3. Coleta de amostras, análises laboratoriais e cálculos

### 2.3.1 Foragem

No primeiro dia de cada período experimental, amostras de forragem foram coletadas para determinar a massa de forragem e a composição morfológica. A massa de forragem foi determinada por meio da coleta de dez quadros (0,5 x 0,5 m) ao nível do solo por piquete. As amostras coletadas foram subamostradas: uma subamostra foi seca em estufa de ventilação forçada a 60 °C e processada em moinho de facas (1 mm) para posterior análise e determinação da composição química; outra subamostra foi separada em folha, colmo + bainha e material morto para quantificação da composição morfológica (Tabela 1).

**Tabela 1.** Massa de forragem, características morfológicas e químicas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu durante o período experimental.

	LCCT <sup>1</sup> dose (mg/kg MS)					Média
	0	300	600	900	1200	
Matéria seca verde (ton/ha)	1,62	1,27	1,48	1,28	1,63	1,46
Caule (%)	37,94	29,49	29,99	33,52	33,71	32,93
Folha (%)	33,55	35,60	29,68	27,74	35,39	32,39
Material senescente (%)	28,52	34,91	40,34	38,75	30,90	34,68
Composição química (%)						
Matéria seca	37,65	41,65	39,30	42,53	39,29	40,08
Cinzas	8,84	8,21	8,51	7,15	9,27	8,40
Matéria orgânica	82,88	82,70	82,40	83,00	90,74	84,34
Proteína bruta	4,91	4,98	5,14	5,72	6,05	5,36
Fibra em detergente neutro	72,60	72,20	70,69	73,59	69,57	71,73
Fibra em detergente ácido	57,96	57,56	57,41	57,86	55,96	57,35
Nutrientes digestíveis totais	53,51	53,68	54,31	53,10	54,77	53,87
NDT:PB <sup>2</sup>	10,90	10,78	10,57	9,28	9,05	10,05

<sup>1</sup>LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju; <sup>2</sup>Relação nutriente digestível total: proteína bruta.

### 2.3.2 Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente total

As amostras de fezes, suplemento e forragem obtidas por esvaziamento ruminal e corte rente ao solo foram avaliadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB) obtida pela determinação do N total pela técnica de micro Kjeldahl (Nx6,25), matéria mineral ou cinzas <sup>(12)</sup> e matéria orgânica (MO = 100-Cinzas). O teor de fibra em detergente ácido (FDA) foi determinado conforme descrito por Van Soest e Robertson <sup>(13)</sup>; o teor de lignina foi obtido por oxidação com permanganato de potássio <sup>(14)</sup>. As análises de fibra em detergente neutro (FDN) foram realizadas de acordo com Mertens <sup>(15)</sup>. O teor de nutrientes digestivos totais (NDT) da forragem foi calculado com base no teor de FDA, de acordo com a equação: %NDT = 83,79 - 0,4171\*FDN.

A ingestão de MS foi estimada com base na excreção fecal total de MS e no teor de FDN indigestível (FDNi) nas fezes, suplemento e forragem. Para determinar a excreção fecal diária de MS, o indicador dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) foi fornecido ao rúmen por meio de cânula durante dez dias consecutivos (5 dias de adaptação e 5 dias de coleta) <sup>(16)</sup>. O indicador TiO<sub>2</sub> foi acondicionado em cartuchos de papel e fornecido a partir do segundo dia de cada período experimental, com 10 g/dia fornecidos às 8:00.

As concentrações de TiO<sub>2</sub> foram analisadas por espectrofotometria UV/V, de acordo com a metodologia descrita por Myers *et al.* <sup>(17)</sup>. A seguinte fórmula foi utilizada para estimar a produção fecal de MS: MSp = TiO<sub>2</sub> ingerido (g) / concentração de TiO<sub>2</sub> nas fezes (g/g MS). As fezes foram coletadas da ampola retal dos bovinos a partir do 7º dia. As amostras foram então acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e levadas ao laboratório para avaliação da composição química.

Para determinar o FDNi, 0,5 g das amostras foram colocadas em sacos de TNT (material feito de polipropileno), cortados e selados no tamanho de 5 × 5 cm com tamanho de poro de 100 µm, previamente secos, pesados e incubados no rúmen (*in situ*) por 288 h <sup>(18)</sup>. O consumo de MS da pastagem foi estimado de acordo com Dias *et al.* <sup>(19)</sup> usando a equação: CMS (kg/dia) = {[FE\*CIFZ] - IS} / CIFO + CMSS; onde: CMS = consumo de matéria seca (kg/dia); FE = excreção fecal (kg/dia); CIFZ = concentração do indicador presente nas fezes (kg); IS = indicador presente no suplemento (kg/dia); CIFO = concentração do indicador presente na forragem (kg), CMSS = consumo de matéria seca do suplemento (kg/dia).

Os coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes (MS, PB e FDN) foram calculados de acordo com a seguinte equação: Digestibilidade aparente = (MS ingerida - MS excretada) / MS ingerida; onde: MS ingerida = quantidade de matéria seca consumida (kg/dia), MS excretada = quantidade de matéria seca excretada nas fezes (kg/dia); PB = proteína bruta e FDN = fibra em detergente neutro.

### 2.3.3 Fluido ruminal

No 12º dia de cada período, os animais foram devidamente contidos e amostras de fluido ruminal foram coletadas por meio de cânula ruminal 0, 2, 4, 6 e 8 horas após a administração do suplemento. Essas amostras de fluido ruminal foram coletadas de diferentes partes do rúmen (sacos dorsal e ventral) e filtradas através de quatro camadas de gaze.

O pH foi determinado imediatamente usando um medidor de pH digital portátil. Alíquotas (10-20 mL) dessas amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos e 1800 µL de sobrenadante foram coletados e misturados com 100 µL de uma solução de ácido ortofosfórico a 20%. Todas as amostras foram congeladas para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta. Para a determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), uma alíquota de 40 mL fixada em 1 mL de HCl 1:1 foi separada e congelada a -18°C para posterior análise. O teor de N-NH<sub>3</sub> foi determinado de acordo com o método INCT-CA N-007/1, descrito por Detmann *et al.* <sup>(18)</sup>.

A concentração de amônia no fluido ruminal foi estimada pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida e utilizando hidróxido de potássio (2N) como base de destilação, após centrifugação da amostra a 1.000 x g por 15 minutos.

As concentrações de ácidos graxos solúveis em água (WSFA-2) foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Del Valle *et al.* <sup>(20)</sup> por meio de cromatografia gasosa utilizando um cromatógrafo Shimadzu® GC-2010 Plus (Shimadzu, Barueri, Brasil) equipado com um injetor automático AOC-20i, uma coluna capilar Stabilwax-DATM (30m, 0,25mm ID, 0,25µm df, Restek®) e um detector de ionização de chama (FID), após acidificação das amostras com ácido o-fosfórico 1 M p.a. (Ref. 100573, Merck®) e fortificação com uma mistura de ácidos voláteis livres (Ref. 46975, Supelco®). Uma alíquota de 1 µL de cada amostra foi injetada a uma taxa de divisão de 40:1, utilizando hélio como gás de arraste a uma velocidade linear de 42 cm/s, obtendo-se a separação dos analitos em uma corrida cromatográfica de 11,5 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 300 °C, respectivamente, e a temperatura inicial da coluna foi de 40 °C. A rampa de temperatura da coluna começou com um gradiente de 40 a 120 °C a uma taxa de 40 °C/min, seguido por um gradiente de 120 a 180 °C a uma taxa de 10 °C/min e de 180 a 240 °C a uma taxa de 120 °C/min, com a temperatura permanecendo em 240 °C por mais 3 minutos ao final. Para quantificar os analitos, o método foi calibrado utilizando diluições do padrão WSFA-2 (Ref. 47056, Supelco®) e ácido acético glacial (Ref. 33209, Sigma-Aldrich®) analisados nas condições descritas acima. Os picos foram determinados e integrados utilizando o software GCsolution v. 2.42.00 (Shimadzu®).

A determinação da concentração de WSFA-2 permitiu estimar a produção de metano entérico dos bovinos utilizados, seguindo a metodologia de Moss *et al.* <sup>(21)</sup>, que calcula a geração de metano (CH<sub>4</sub>) com base nas proporções de ácido acético (C2), ácido propiônico (C3) e ácido butírico (C4), utilizando a seguinte equação: CH<sub>4</sub> = 0,45 (C2) - 0,275 (C3) + 0,4 (C4).

### 2.3.4 Urina

No 13º dia, amostras pontuais de urina foram coletadas de cada período, quatro horas após a administração do suplemento, durante a micção espontânea <sup>(22)</sup>. Para determinar a concentração de creatinina, ureia, ácido úrico e alantoína, uma alíquota de 10 mL de urina diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N) foi separada para evitar a degradação dos derivados de purina e a precipitação do ácido úrico; a segunda alíquota de 100 mL foi armazenada em 1 mL de ácido sulfúrico (36 N) e analisada para determinar a concentração de N urinário total. Todas as amostras foram identificadas e imediatamente congeladas a -18 °C para posterior análise.

A alantoína foi determinada pelo método colorimétrico, de acordo com a técnica de Fujihara *et al.* <sup>(23)</sup>, descrita por Chen e Gomes <sup>(24)</sup>. Kits comerciais foram utilizados para determinar a concentração de creatinina e ácido úrico (Labtest, Lagoa Santa, Brasil; Gold Analisa Diagnóstica Ltda., Belo Horizonte, Brasil).

A soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressa em mmol/dia, foi utilizada para calcular a excreção total de derivados de purina (DP). As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de DP na urina (mmol/dia), utilizando a equação:  $DP = 0,85 \cdot Pabs + 0,385 \cdot PC_{0,75}$ , onde 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina urinários e  $0,385 \cdot PC_{0,75}$  é a contribuição endógena para a excreção de purina <sup>(25)</sup>.

O volume urinário total foi determinado pela razão entre a concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal (PC), adotando-se o valor padrão de 27,36 mg/kg PC <sup>(26)</sup>. A excreção diária de N-ureia e N-creatinina foi obtida multiplicando-se as concentrações de ureia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715, correspondendo ao teor de N na ureia e na creatinina, respectivamente. Com base na excreção média diária de creatinina, obtida no experimento em mg/kg de PB/dia, e na concentração de creatinina (mg/L) na amostra de urina, estimou-se o volume urinário diário (Vur):  $Vur (l/dia) = (27,36 \times PB) / [creatinina]$ , onde 27,36 representa o valor médio diário de excreção de creatinina, em ppm de PB, obtido por Rennó *et al.* <sup>(26)</sup> em novilhos mestiços e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina dos animais.

A quantificação da biomassa microbiana em amostras do rúmen foi realizada utilizando bases purinas como indicadores. A unidade g MS microbiana/kg carboidratos degradados no rúmen (CHODR) foi utilizada como referência básica para mensurar a eficiência da síntese proteica microbiana.

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido a partir da diferença entre o N total ingerido e o N total excretado na urina e nas fezes. As concentrações de N nas fezes e amostras de urina foram determinadas de acordo com o sistema micro Kjeldahl. Com base nesses valores, o nitrogênio retido (NRet) foi quantificado deduzindo-se do BN o valor estimado da necessidade basal de N endógeno (BEN), que considera as perdas teciduais de N endógeno e N dérmico como 0,35 e 0,018 do peso metabólico, respectivamente.



### 2.3.5 Sangue

No 14º dia, o sangue foi coletado quatro horas após a administração do suplemento, por punção da veia caudal, utilizando heparina como anticoagulante. Após a coleta, os tubos foram centrifugados (5.000 rpm por 15 min) e o soro armazenado em tubos cônicos de polipropileno de 2 mL. Todas as amostras foram refrigeradas (-18 °C). A ureia e a creatinina plasmáticas foram determinadas utilizando um kit comercial (Gold Analisa® Diagnostica Ltda).

### 2.3.6 Extrusa

No 15º dia, a forragem consumida pelos animais (extrusa) foi coletada por meio do esvaziamento ruminal manual. Após o esvaziamento ruminal, os animais foram levados para seus respectivos piquetes, onde permaneceram em pastejo por aproximadamente 40 minutos até o próximo esvaziamento ruminal. Após a coleta da extrusa, o conteúdo ruminal foi trocado entre os animais <sup>(28-29)</sup>. Esse procedimento foi realizado para reduzir o período de adaptação às dietas. Todas as amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados, congeladas a -18°C e transportadas ao Laboratório de Nutrição Animal/UFGD para posterior análise.

## 2.4 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o SAS ® 9.2 <sup>(30)</sup>. O seguinte modelo foi adotado para a avaliação dos efeitos da dieta:

$$Y_{ijl} = \mu + A_i + P_j + D_l + e_{ijl};$$

Onde:  $Y_{ijl}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito animal ( $i = 1$  a 5),  $P_j$  = efeito do período ( $j = 1$  a 5),  $D_l$  = efeito da dieta e  $e_{ijl}$  = erro experimental.

Os dados de fermentação ruminal foram analisados utilizando o comando PROC MIXED REPEATED para avaliar medidas repetidas ao longo do tempo, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_y + T_y (D_k) e_{ijk};$$

Onde:  $Y_{ijk}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito animal ( $i = 1$  a 5),  $P_j$  = efeito do período ( $j = 1$  a 5),  $D_k$  = efeito do tratamento ( $k = 1$  a 5),  $T_y$  = efeito do tempo ( $k = 1$  a 5),  $T_y (D_k)$  = interação entre dieta e tempo e  $e_{ijk}$  = erro experimental.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por PROC MIXED, utilizando LSMEANS, regressão polinomial simples; e submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância.

## 3. Resultados

A massa de forragem, as frações morfológicas e a composição química da pastagem estão descritas na Tabela 1. Em média, os tratamentos apresentaram 1,46 t/ha de matéria verde, sendo 32,9 % folhas, 32,4 % colmos e 34,7 % material senescente. Os valores médios de matéria seca, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais foram de 40,08, 5,36 e 53,87, respectivamente (Tabela 1).

A composição química do extrusado está descrita na Tabela 2. Os teores médios de matéria seca, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais foram de 17,21, 7,42 e 60,11, respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição química de extrusados de novilhos suplementados com diferentes doses de LCCT.

	LCCT <sup>1</sup> dose (mg/kg MS)					
	0	300	600	900	1200	Média
Matéria seca	18,08	18,49	16,71	16,45	16,35	17,21
Matéria orgânica	88,10	89,41	89,53	88,73	88,93	88,94
Proteína bruta	7,47	7,29	6,56	7,64	8,16	7,42
Fibra em detergente neutro	55,44	56,46	57,87	58,15	55,90	56,76
Fibra em detergente ácido	37,69	40,54	41,33	40,28	39,69	39,90
Cinzas	11,90	10,59	10,47	11,27	11,07	11,06
Nutrientes digestíveis totais	60,67	60,24	59,65	59,54	60,47	60,11
NDT:PB <sup>2</sup>	8,12	8,26	9,09	7,79	7,41	8,13

<sup>1</sup>LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju; <sup>2</sup>Relação nutriente digestível total: proteína bruta.

A inclusão de LCCT na dieta dos novilhos não alterou ( $P>0,05$ ) o consumo de pasto e suplemento (Tabela 3). Da mesma forma, o consumo dos demais nutrientes e a digestibilidade aparente foram semelhantes ( $P>0,05$ ) entre as dietas (Tabela 3).

**Tabela 3.** Ingestão de nutrientes (base MS) e digestibilidade aparente de novilhos suplementados com diferentes doses de LCCT.

	LCCT dose (mg/kg MS)					EPM <sup>1</sup>	P- valor <sup>2</sup>		
	0	300	600	900	1200		Trat	L	Q
<i>Ingestão de nutrientes</i>	<i>(kg/dia)</i>								
Pastagem	6,62	6,21	5,53	5,35	6,51	0,37	0,684	0,696	0,265
Suplemento	2,22	2,22	2,41	2,07	2,19	0,13	0,823	0,812	0,802
Matéria seca total	8,85	8,44	7,94	7,42	8,71	0,46	0,702	0,704	0,411
Matéria orgânica	7,01	7,26	6,83	6,22	7,43	0,37	0,938	0,935	0,599
Proteína bruta	0,90	0,85	0,79	0,74	0,85	0,04	0,512	0,542	0,412
Fibra em detergente neutro	5,15	5,09	4,70	4,47	5,22	0,27	0,812	0,810	0,456
<i>Digestibilidade aparente</i>	<i>(MJ/kg MS)</i>								
Matéria seca	0,40	0,48	0,42	0,47	0,48	0,01	0,269	0,207	0,922
Matéria orgânica	0,44	0,53	0,47	0,52	0,52	0,01	0,305	0,265	0,706
Proteína bruta	0,45	0,51	0,48	0,47	0,58	0,03	0,251	0,290	0,673
Fibra em detergente neutro	0,44	0,54	0,42	0,53	0,48	0,01	0,627	0,556	0,706

<sup>1</sup>EPM = erro padrão da média. <sup>2</sup>Probabilidade de efeito linear (L) ou quadrático (Q) da suplementação (Trat). LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju.

Dentre os parâmetros de fermentação, apenas o ácido graxo valérico diferiu entre os tratamentos ( $P=0,040$ ). A inclusão de 600 mg/kg de MS de LCCT apresentou os maiores valores de ácido valérico (1,06; Tabela 4).



**Tabela 4.** Parâmetros de fermentação ruminal de novilhos suplementados com diferentes doses de LCCT.

	LCCT <sup>1</sup> dose (mg/kg MS)					EPM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>		
	0	300	600	900	1200		Trat	L	Q
pH	6,64	6,76	6,73	6,67	6,69	0,02	0,540	0,991	0,281
N-NH <sub>3</sub>	21,86	23,45	21,86	19,76	26,02	1,14	0,164	0,102	0,308
<i>Ácidos graxos</i>									
Acético <sup>A</sup> (%)	69,44	70,38	70,88	70,64	70,00	0,34	0,742	0,592	0,188
Propionico <sup>B</sup> (%)	17,38	17,31	17,60	18,07	17,81	0,19	0,741	0,239	0,902
Isobutirico <sup>C</sup> (%)	0,87	0,78	0,88	0,75	0,76	0,03	0,606	0,276	0,881
Butirico <sup>D</sup> (%)	10,51	9,74	8,31	8,64	9,44	0,41	0,499	0,282	0,161
Isovalérico (%)	0,94	0,97	1,25	0,93	1,03	0,05	0,444	0,723	0,381
Valérico (%)	0,84ab	0,79b	1,06a	0,95ab	0,94ab	0,03	0,040	0,094	0,237
TotalE(mmol/L)	70,70	70,80	46,20	67,00	78,70	5,58	0,454	0,762	0,154
C2:C3	4,01	4,07	4,04	3,91	3,93	0,05	0,833	0,357	0,706
Metano <sup>F</sup>	21,67	21,89	14,11	20,24	24,02	1,73	0,463	0,809	0,158

<sup>1</sup>LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. <sup>3</sup>Probabilidade de efeito linear (L) ou quadrático (Q) da suplementação (Trat) <sup>4</sup>Metano = 0,45(C2) – 0,275(C3) + 0,4(C4) segundo Moss *et al.*<sup>(21)</sup> (A)Y= 38,457+14,691X-0,0794X<sup>2</sup>; r<sup>2</sup>= 0,34; (B)Y= 17,65 + 24,657X – 0,01657X<sup>2</sup>;r<sup>2</sup>= 0,35; (C)Y=0,724+0,0485X; r<sup>2</sup>= 0,54; (D)Y= 4,095+ 4,258X- 0,00801X<sup>2</sup>; r<sup>2</sup>= 0,32; (E)Y= 49,316+28,338X-0,05155X<sup>2</sup> ; r<sup>2</sup>= 0,44; (F)Y= 22,28 + 24,367X – 0,02650X<sup>2</sup>. Letras diferentes indicam significância de 5% pelo teste de Tukey.

A inclusão de LCCT teve influência linear na excreção fecal de N (P=0,029); quanto maior a inclusão do aditivo, menor a excreção fecal de N. As demais variáveis de utilização de N e derivados de purina não foram influenciadas pelo tratamento (Tabela 5).

**Tabela 5.** Síntese de proteína microbiana e utilização de nitrogênio em novilhos suplementados com diferentes doses de LCCT.

	LCCT <sup>1</sup> dose (mg/kg MS)					EPM <sup>2</sup>	P-valor		
	0	300	600	900	1200		Trat	L	Q
<i>Derivados de purina (mmol/L)</i>									
Alantoína	65,97	73,99	31,67	46,26	48,93	3,42	0,492	0,289	0,497
Ácido Úrico	33,92	66,85	18,72	22,85	28,77	4,78	0,499	0,413	0,981
Purinas Totais	99,89	140,85	50,39	69,11	77,71	5,72	0,513	0,345	0,755
Purinas Absorvidas	102,76	151,75	43,65	66,32	76,47	6,73	0,505	0,341	0,754
N Microbiano (g/dia)	74,71	110,33	31,73	48,22	55,59	3,45	0,505	0,341	0,754
Proteína Microbiana	466,94	689,56	198,36	301,38	347,49	5,67	0,505	0,341	0,754
<i>Utilização de Nitrogênio (g/dia)</i>									
Ingestão de N	144,97	136,66	126,63	118,29	136,89	7,78	0,838	0,546	0,415
N Fecal (a)	75,58	62,95	64,49	59,65	57,84	2,46	0,167	0,022	0,426
N Urinário	2,96	2,15	1,62	2,33	1,67	0,20	0,266	0,144	0,426
N Absorvido	66,41	71,54	60,50	56,34	77,37	8,90	0,916	0,950	0,649
N Retido	66,38	71,51	60,48	56,32	77,35	2,91	0,916	0,674	0,238

<sup>1</sup>LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. <sup>3</sup>Probabilidade de efeito linear (L) ou quadrático (Q) da suplementação (Trat); (a) Y = 71,865 - 0,01295X; r<sup>2</sup> = 0,21.

A inclusão de LCCT não afetou (P>0,05) o metabolismo da ureia e creatinina em novilhos (Tabela 6).

**Tabela 6.** Metabolismo de ureia e creatinina de novilhos suplementados com diferentes doses de LCCT.

	LCCT <sup>1</sup> dose (mg/kg MS)					EPM <sup>2</sup>	P-valor <sup>3</sup>		
	0	300	600	900	1200		Trat	L	Q
<i>Urina (mg/dL)</i>									
Ureia	821,22	803,34	634,42	800,35	623,49	32,56	0,122	0,102	0,950
Creatinina	1,50	2,27	2,70	1,72	2,43	0,12	0,089	0,419	0,135
N- Ureia	382,69	374,35	295,64	372,97	290,55	8,98	0,172	0,102	0,950
N- Creatinina	0,559	0,846	1,065	0,641	0,901	0,00	0,432	0,321	0,555
<i>Sangue (mg/dL)</i>									
Ureia	22,75	30,79	25,59	27,22	26,08	2,45	0,297	0,664	0,226
Creatinina	3,76	3,57	4,00	3,31	3,92	0,87	0,552	0,944	0,684
N-Ureia	10,60	14,35	11,92	12,88	12,15	1,67	0,297	0,664	0,226
N-Creatinina	1,39	1,32	1,48	1,23	1,46	0,45	0,552	0,944	0,684
<i>Excreção (mg/kg PC)</i>									
Ureia	987,58	920,64	553,50	1118,52	669,22	18,89	0,561	0,166	0,678
Creatinina	28,47	28,54	28,41	28,53	28,51	4,56	0,794	0,893	0,848
<i>Período de depuração de 24 horas</i>									
Ureia	48,45	32,85	22,00	38,96	26,00	3,67	0,712	0,821	0,832
Creatinina	6,95	7,07	6,46	7,58	6,44	1,67	0,731	0,836	0,824
<i>Excreção fracionada (%)</i>									
Ureia	79,95	87,78	56,23	78,23	87,18	5,67	0,821	0,804	0,731

<sup>1</sup>LCCT = líquido técnico da casca da castanha de caju. <sup>2</sup>EPM = erro padrão da média. <sup>3</sup>Probabilidade de efeito linear (L) ou quadrático (Q) da suplementação (Trat).

## 4. Discussão

Segundo Minson <sup>(31)</sup>, o limite mínimo de forragem em pastagens de gramíneas tropicais deve ser de 2000 kg/ha de matéria seca total para não restringir o consumo animal. Entretanto, segundo Euclides <sup>(32)</sup>, quando há grande acúmulo sazonal de material morto, como nos períodos de transição seca-água, o consumo de forragem pelo animal não está correlacionado à forragem total disponível, mas sim às massas de matéria seca verde e matéria seca de lâmina foliar. Segundo este autor, a matéria seca de lâmina foliar deve estar sempre acima de 1100 kg/ha, valor que corrobora os resultados encontrados neste artigo (Tabela 1). Portanto, a disponibilidade de forragem não foi um fator limitante para o consumo animal.

O teor médio de MS da forragem (40,08 %) estava dentro da faixa desejável para garantir o consumo de nutrientes <sup>(33)</sup>. O teor de PB de 5,36 % sugere que a pastagem pode ser deficiente em proteína, visto que a ingestão recomendada de proteína bruta para ruminantes é geralmente superior a 12 % <sup>(34)</sup>, o que confirma a importância do uso de suplementação neste experimento, visto que baixas concentrações de proteína podem limitar o desempenho animal <sup>(35)</sup>. NDT acima de 55 % é geralmente considerado adequado para a manutenção e produção de ruminantes <sup>(36)</sup> (Tabela 1).

No caso do extrusado, o menor teor de MS (17,21 %) reflete o efeito do processo de extrusão, que altera as propriedades físicas do material para melhorar a gelatinização do amido e a desnaturação da proteína <sup>(37)</sup>. O teor de PB foi de 7,42 %, o que ainda pode ser considerado abaixo do nível ideal para ruminantes. A suplementação proteica insuficiente compromete a eficiência de utilização de nutrientes e pode causar um desequilíbrio entre energia e proteína no rúmen, o que afeta a fermentação ruminal e, consequentemente, o consumo de ração <sup>(38)</sup>. Quando a relação NDT:PB excede 7 (Tabela 2), há deficiência de proteína em relação à energia da forragem <sup>(39)</sup>, o que pode reduzir a ingestão; entretanto,

a suplementação de até 0,8 % do peso vivo não teve impacto significativo na ingestão de forragem, MS e digestibilidade em novilhos a pasto (Tabela 3), demonstrando que o uso de LCCT não prejudica o aproveitamento dos nutrientes, corroborando sua viabilidade como aditivo dietético.

Resultados consistentes foram relatados em outras espécies de ruminantes e sistemas de produção, como bovinos tailandeses e búfalos-do-brejo <sup>(40)</sup>, touros jovens <sup>(41)</sup>, touros terminados em confinamento <sup>(42)</sup>, vacas leiteiras em lactação <sup>(43)</sup>, vacas secas <sup>(3)</sup> e ovelhas <sup>(44)</sup> alimentadas com dietas suplementadas com LCCT. A ingestão e a digestibilidade são parâmetros importantes na aplicação de novos aditivos candidatos ao considerar o crescimento animal e o desempenho produtivo em relação à modulação da fermentação ruminal. Portanto, a ausência de efeitos negativos na ingestão e na digestibilidade pode ser uma questão fundamental na aceitação do LCCT na alimentação de ruminantes <sup>(40)</sup>.

Os parâmetros de fermentação ruminal também corroboram a ausência de efeitos prejudiciais. Os valores de pH ruminal permaneceram acima de 6,2, o que é essencial para a atividade microbiana celulolítica e a degradação da fibra <sup>(45)</sup>. As concentrações de amônia (26,02 mg/dL) estavam dentro da faixa considerada ideal para a síntese de proteína microbiana <sup>(46)</sup>, corroborando a disponibilidade adequada de nitrogênio para os microrganismos ruminais (Tabela 4). O aumento nas concentrações de ácido valérico é particularmente notável, pois reflete o aumento da fermentação microbiana de aminoácidos <sup>(33, 34, 47)</sup>. Isso sugere que o LCCT pode estimular populações microbianas proteolíticas, melhorando a renovação do nitrogênio e potencialmente aumentando a disponibilidade de proteína para o animal hospedeiro.

Assim como os outros ácidos graxos voláteis, o ácido valérico é fundamental no metabolismo energético dos ruminantes, contribuindo com cerca de 70 % das necessidades energéticas totais <sup>(47)</sup>. Os níveis de ácido valérico estão relacionados à degradação de proteínas e aminoácidos no rúmen. A fermentação microbiana de proteínas resulta na formação de ácidos graxos de cadeia curta, incluindo o ácido valérico, como produtos finais <sup>(33)</sup>. O aumento da concentração de ácido valérico sugere maior atividade microbiana envolvida na fermentação de proteínas, especialmente em dietas ricas em aminoácidos <sup>(34)</sup>. Isso implica que a inclusão de LCCT pode favorecer a microbiota ruminal responsável pela degradação de proteínas, possivelmente melhorando a eficiência da fermentação e a disponibilidade de nutrientes (Tabela 4).

A inclusão de LCCT na dieta não apenas modifica a fermentação ruminal, mas também a fermentação intestinal e fecal <sup>(8)</sup>. Uma parte significativa do nitrogênio ingerido pelos ruminantes é excretada, seja pelas fezes ou pela urina, em vez de ser convertida em proteína animal. Portanto, a redução da excreção fecal de N pelo aumento de LCCT na mistura indica melhor aproveitamento da proteína da dieta (Tabela 5).

Além disso, a excreção de N nas fezes está diretamente relacionada à supressão da geração de metano, portanto, a inclusão de LCCT na dieta pode contribuir para mitigar a carga ambiental associada à manutenção de bovinos ruminantes em pastagens <sup>(8, 48)</sup>.

Por fim, a ausência de alterações no metabolismo da ureia e da creatinina entre os tratamentos (Tabela 6) indica que a suplementação com LCCT não alterou o metabolismo sistêmico do nitrogênio. Conforme relatado por Harmeyer e Martens <sup>(49)</sup>, esses metabólitos refletem a ingestão de proteína e o equilíbrio energético:proteico da dieta, reforçando que o aditivo não comprometeu a homeostase metabólica.

## 5. Conclusão

A adição de suplementação líquida de casca de castanha de caju técnica (LCCT) à dieta de novilhos em pastejo não alterou o consumo e a digestibilidade do pasto. A adição de 600 mg/kg de MS de LCCT à dieta promove aumento na produção de ácido valérico, melhorando a fermentação ruminal. A redução linear na excreção fecal de nitrogênio sugere melhor utilização do nitrogênio com o aumento da LCCT na dieta.

### Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### Declaração de disponibilidade de dados

O conjunto completo de dados que embasa os resultados deste estudo foi publicado no próprio artigo.

### Contribuições do autor

Conceitualização: Buschinelli de Goes, RHT e Anschau, DG; Curadoria de dados: Anschau, D. G., Gandra, J. R., e Ítavo, L. C. V.; Análise formal: Silva, N. G. e Oliveira, S. S.; Aquisição de financiamento: Buschinelli de Goes, RHT; Investigação: Anschau, DG; Metodologia: Anschau, DG, Royer, JL e Anschau, LM; Administração do projeto: Buschinelli de Goes, RHT; Recursos: Buschinelli de Goes, RHT; Software: Gandra, JR; Orientação: Ítavo, L. C. V.; Validação: Buschinelli de Goes, R. H. T. e Araújo, C. M. C.; Visualização: Araújo, C. M. C.; Redação do rascunho original: Anschau, D. G.; e Redação, revisão e edição: Araújo, C. M. C.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Claudia Andrea Lima Cardoso, da Universidade do Estado de Mato Grosso do Sul (UEMS), pelo apoio na análise cromatográfica do líquido da casca da castanha de caju. Além disso, os autores agradecem ao Antonio Ferriani Branco, por fornecer o líquido técnico da casca da castanha de caju utilizado. O projeto foi apoiado financeiramente pelo Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Processo: (310837/2020-0 / 309888/2023-9), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brasil, Fundação de Apoio e Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT; Processo: 71/032.380/2022; 83/035.027/2024) para apoio financeiro.

### Referências

1. Morais S, Silva K, Araujo H, Vieira Í, Alves D, Fontenelle R, Silva A. Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. *Pharmaceuticals*. 2017; 10:31. <https://doi.org/10.3390/ph10010031>
2. Díaz TG, Branco AF, Ítavo LCV, dos Santos GT, Carvalho ST, Teodoro AL, Oliveira RL. In vitro gas production kinetics and digestibility in ruminant diets with different levels of cashew nut shell liquid. *Revista Semina: Ciências Agrárias*. 2018; 39:1669-1682. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1669>
3. Shinkai T, Enishi O, Mitsumori M, Higuchi K, Kobayashi Y, Takenaka A, Mochizuki M. Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95:5308-5316. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5554>
4. Oh S, Shintani R, Koike S, Kobayashi Y. Ginkgo fruit extract as an additive to 831 modify rumen microbiota and fermentation and to mitigate methane production. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100:1923-1934. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11928>
5. Mitsumori M, Enishi O, Shinkai T, Higuchi K, Kobayashi Y, Takenaka A, Nagashima K, Mochizuki M, Kobayashi Y. Effect of cashew nut shell liquid on metabolic hydrogen flow on bovine rumen fermentation. *Animal Science Journal*. 2014; 85:227-232. <https://doi.org/10.1111/asj.12133>
6. Vieira ERDQ, Goes RHTBG, Diaz TG, Osmari MP, Seno LO, Ítavo LCV, Jacaúna AG. Chitosan combined with technical cashew nut shell liquid improves in vitro ruminal parameters and gas production kinetics. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2022; 51:e20200186. <https://doi.org/10.37496/rbz5120200186>
7. Adetunji A, Aderinboye R, Adebayo K, Ojo V, Idowu P, Mtileni B. Effect of cashew nut shell liquid at varying inclusion levels on rumen fermentation and methane production in vitro. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 2020; 8:82-87. <https://doi.org/10.31893/jabb.20011>
8. Tamori K, Matsunaga B, Boonsaen P, Khongpradit A, Sawanon S, Nagashima K, Kobayashi Y. Feeding cashew nut shell liquid decreases methane production from feces by altering fecal bacterial and archaeal communities in Thai local ruminants. *Animal Science Journal*. 2021; 92:e13569. <https://doi.org/10.1111/asj.13569>
9. Cuervo W, Gomez C, Tarnonsky F, Fernandez-Marenchino I, Podversich F, Maderal A, DiLorenzo N. Effects of cashew nutshell extract inclusion into a high-grain finishing diet on methane emissions, nutrient digestibility, and ruminal fermentation in beef steers. *Journal of Animal Science*. 2025; 103:skae359. <https://doi.org/10.1093/jas/skae359>

10. Pereira D, Goes R, Martinez A, Gandra J, Presendo E, Santos M, Alvez J. In vitro evaluation of the association of chitosan and cashew nut shell liquid as additives for ruminants. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2019; 20: e05102019. <https://doi.org/10.1590/s1519-994005102019>
11. National Research Council (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. 8th rev. ed. Washington (DC): National Academies Press; 2016.
12. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Arlington (VA): AOAC International; 1990.
13. Van Soest PJ, Robertson JB. Analysis of forages and fibrous foods: a laboratory manual for animal science. Ithaca (NY): Cornell University; 1985.
14. Van Soest PJ, Wine RH. Determination of Lignin and Cellulose in Acid-Detergent Fiber with Permanganate. *Journal AOAC International*. 1968; 51:780-785. <https://doi.org/10.1093/jaoac/51.4.780>
15. Mertens DR. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal AOAC International*. 2002; 85(5):1212-40.
16. Ferreira MA, Valadares Filho SC, Marcondes MI, Paixão MI, Paulino MF, Valadares RFD. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2009; 38:1568-1573. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000800022>
17. Myers WD, Ludden PA, Nayigihugu V, Hess BW. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*. 2004; 82:179-183. <http://dx.doi.org/10.2527/2004.821179x>
18. Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM, Azevedo JAG. Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco: Suprema; 2012. 214 p.
19. Dias AOC, Goes RHTB, Gandra JR, Takiya CS, Branco AF, Jacaúna AG, Oliveira RT, Vaz MSM. Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology*. 2017; 225:73-80. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2017.01.015>
20. Del Valle TA, Zenatti TF, Antonio G, Campana M, Gandra JR, Zilio EMC, Mattos LFA, Morais JGP. Effect of chitosan on the preservation quality of sugarcane silage. *Grass and Forage Science*. 2018; 73:630-638. <https://doi.org/10.1111/gfs.12356>
21. Moss AR, Jouany JP, Newbold J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*. 2000; 49:231-253. <https://doi.org/10.1051/animres:2000119>
22. Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Chizzotti FHM, Campos JMS, Marcondes MI, Fonseca MA. Intake, digestibility and urinary excretion of urea and purine derivatives in heifers with different body weights. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2006; 35:1813–1821. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000600032>
23. Fujihara T, Orskov ER, Reeds PJ, Kyle DJ. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *The Journal of Agricultural Science*. 1987; 109:7-12. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080916>
24. Chen XB, Gomes MJ. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives. Aberdeen: Rowett Research Institute; 1992. 22p.
25. Verbic J, Chen XB, Macleod NA, Ørskov ER. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *The Journal of Agricultural Science*. 1990; 114:243-248. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>
26. Rennó LN, Valadares RF, Valadares Filho SC, Leão MI, Silva JFC, Cecon PR, Gonçalves LC, Dias HLC, Linhares RS. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2000; 29:1235-1243. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000400038>
27. Cappelle ER, Valadares Filho SDC, Silva JFCD, Cecon PR. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2001; 30:1837-1856. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000700022>
28. Kim DH, Mcleod KR, Klotz JL, Koontz AF, Foote AP, Harmon DL. Evaluation of a rapid determination of fasting heat production and respiratory quotient in Holstein steers using the washed rumen technique. *Journal of Animal Science*. 2013; 91:4267-4276. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5595>
29. Kim DH, Mcleod KR, Koontz AF, Foote AP, Klotz JL, Harmon DL. Effect of intake on fasting heat production, respiratory quotient and plasma metabolites measured using the washed rumen technique. *Animal*. 2015; 9:58-66. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002183>
30. SAS Institute Inc. SAS/STAT® 9.2 user's guide. Cary (NC): SAS Institute Inc.; 2009. 1042 p.
31. Minson DJ. Forage in ruminant nutrition. San Diego: Academic Press; 1990.
32. Euclides VPB. Alternativas para intensificação da produção de carne bovina em pastagem. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte; 2000.
33. Rajtar P, Górka P, Śliwiński B, Wiczorek J, Boros D, Micek P. Effect of rye grain derived from different cultivars or maize grain use in the diet on ruminal fermentation parameters and nutrient digestibility in sheep. *Annals of Animal Science*. 2021; 21:959-976. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0118>



34. Liu J, Bai Y, Liu F, Kohn RA, Tadesse DA, Sarria S, Song J. Rumen microbial predictors for short-chain fatty acid levels and the grass-fed regimen in Angus cattle. *Animals*. 2022; 12:2995. <https://doi.org/10.3390/ani12212995>
35. Mikulová K, Petříč D, Komáromyová M, Battányi D, Kozłowska M, Cieslak A, Váradyová Z. Growth performance and ruminal fermentation in lambs with endoparasites and in vitro effect of medicinal plants. *Agriculture*. 2023; 3:1826. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091826>
36. Resende JCJ, Pratti Daniel JL, Barreto-Vianna ARDC, Vogas Peixoto J, Correia Guimarães G, Fátima Costa SD, Cruz Meirelles FD. Determination of volatile fatty acids clearance in intact ruminal digesta. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2019; 14: 8-17.
37. Vargas JE, Andrés S, López-Ferreras L, Snelling TJ, Yáñez-Ruiz DR, García-Estrada C, López S. Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Scientific Reports*. 2020; 10:1613. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58401-z>
38. Marques LT, Fischer V, Zanela MB, Ribeiro MER, Stumpf W, Manzke NE. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39:2724-2730. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982010001200024>
39. Moore JE, Brant MH, Kunkle WE, Hopkins DI. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *Journal of Animal Science*. 1999; 77:122–135. [https://doi.org/10.2527/1999.77suppl\\_2122x](https://doi.org/10.2527/1999.77suppl_2122x)
40. Konda S, Onodera R, Kanchanasatit E, Boonsaen P, Sawanon S, Nagashima K, Suzuki Y, Koike S, Kobayashi Y. Effect of cashew nut shell liquid feeding on fermentation and microbiota in the rumen of Thai native cattle and swamp buffaloes. *Livestock Science*. 2019; 226:99-106. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.06.011>
41. Valero MV, Farias MS, Zawadzki F, Prado RM, Fugita CA, Rivaroli DC, Prado IN. Feeding propolis or essential oils (cashew and castor) to bulls: performance, digestibility, and blood cell counts. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2016; 29:33-42. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v29n1a04>
42. Carvalho VM, Ávila VAD, Bonin E, Matos AM, do Prado RM, Castilho RA, do Prado IN. Effect of extracts from baccharis, tamarind, cashew nut shell liquid and clove on animal performance, feed efficiency, digestibility, rumen fermentation and feeding behavior of bulls finished in feedlot. *Livestock Science*. 2021; 244:104361. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104361>
43. Coutinho DA, Branco AF, Santos GTD, Osmari MP, Teodoro AL, Diaz TG. Intake, digestibility of nutrients, milk production and composition in dairy cows fed on diets containing cashew nut shell liquid. *Acta Scientiarum Animal Sciences*. 2014; 36:311-316. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v36i3.23512>
44. Kang S, Suzuki R, Suzuki Y, Koike S, Nagashima K, Kobayashi Y. Rumen responses to dietary supplementation with cashew nut shell liquid and its cessation in sheep. *Animal Science Journal*. 2018; 89:1549-1555. <https://doi.org/10.1111/asj.13100>
45. Russel JB, Wilson DB. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *Journal of Dairy Science*. 1996; 79:1503-1509. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76510-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4)
46. Owens FN, Bergen WG. Nitrogen metabolism of ruminant animal: historical perspective; current understanding and future implications. *Journal of Animal Science*. 1983; 57:498-518. [https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement\\_2498x](https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement_2498x)
47. Li Q, Tu Y, Ma T, Cui K, Zhang J, Diao Q, Bi Y. Effects of two feeding patterns on growth performance, rumen fermentation parameters, and bacterial community composition in Yak calves. *Microorganisms*. 2023; 11: 576. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030576>
48. Narabe C, Kamiyama S, Saito M, Boonsaen P, Khongpradit A, Sawanon S, Kobayashi Y. Cashew nut shell liquid potentially mitigates methane emission from the feces of Thai native ruminant livestock by modifying fecal microbiota. *Animal Science Journal*. 2021; 92:e13614. <https://doi.org/10.1111/asj.13614>
49. Harmeyer J, Martens H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. *Journal of Dairy Science*. 1980; 63:1707-1728. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83132-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83132-8)