

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE NITRATO ENCAPSULADO NA  
ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE DURANTE  
RECRIA E TERMINAÇÃO EM PASTEJO**

**Rodolfo Maciel Fernandes**

Zootecnista

**2018**

I

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE NITRATO ENCAPSULADO NA  
ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE DURANTE  
RECRIA E TERMINAÇÃO EM PASTEJO**

**Rodolfo Maciel Fernandes**

**Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

**2018**

Fernandes, Rodolfo Maciel  
F363e Efeito da adição de nitrato encapsulado na alimentação de bovinos de corte durante recria e terminação em pastejo/ Rodolfo Maciel Fernandes. – – Jaboticabal, 2018  
xiv, 58 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientador: Gustavo Rezende Siqueira

Banca examinadora: Matheus Henrique Moretti, Laura Franco Prados, Rafael Canonenco de Araújo, Marcia Helena Machado da Rocha Fernandes

Bibliografia

1. Nitrogênio não proteico. 2. Pasto. 3. Suplemento. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.084.22:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal




**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

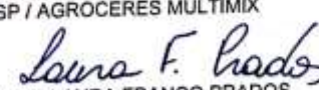
**TÍTULO DA TESE: EFEITO DA ADIÇÃO DE NITRATO ENCAPSULADO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE DURANTE RECRIA E TERMINAÇÃO EM PASTEJO**


**AUTOR: RODOLFO MACIEL FERNANDES**  
**ORIENTADOR: GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA**

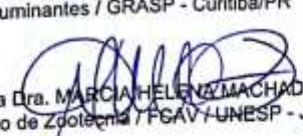
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:

  
 Pesquisador Dr. GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA  
 Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / APTA - Colina/SP

  
 Pesquisador Dr. MATHEUS HENRIQUE MORETTI  
 Rio Claro/SP / AGROCERES MULTIMIX

  
 Pós-doutoranda LAURA FRANCO PRADOS  
 Departamento de Zootecnia / APTA - Colina/SP

  
 Pesquisador Dr. RAFAEL CANONENCO DE ARAÚJO  
 Divisão de Ruminantes / GRASP - Curitiba/PR

  
 Pesquisadora Dra. MARCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES  
 Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 27 de outubro de 2017

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Nascido no dia 15 de maio de 1989 na cidade de Barretos, São Paulo, filho de Maria Cristina Maciel e Francisco Lemos da Silva. Ingressou no curso de Bacharel em Zootecnia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB) em Março de 2007, obtendo o título de Zootecnista em janeiro de 2012, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dra. Marcella de Toledo Piza Roth. Em março de 2012, ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, sob orientação do Professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira, obtendo título de mestre em Março de 2014. Na mesma data, iniciou o curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, novamente sob orientação do Professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira.

“Sábio é o ser humano que tem coragem de ir diante do espelho da sua alma para reconhecer seus erros e fracassos e utilizá-los para plantar as mais belas sementes no terreno de sua inteligência.”

(Augusto Cury)

Aos meus pais, Francisco e Cristina, pelo amor incondicional, ensinamentos, paciência, dedicação, exemplos, vocês são minha felicidade.

DEDICO

A minha mãe Maria Cristina Maciel, pelo exemplo de força, fé, caráter e humildade.  
Ao seu lado tudo é luz, e cada problema é apenas um incomodo passageiro! Amo  
você!

OFEREÇO

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus, por estar sempre comigo, levando-me ao caminho certo, sempre repleto de pessoas maravilhosas. Tenho certeza que é nelas que ele se revela.

Aos meus Pais Francisco Lemos da Silva e Maria Cristina Maciel, por todo o amor, afeto, preocupação, puxões de orelha. Vocês são meu orgulho! Amo vocês!

Ao professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira, por todos os conselhos, dedicação e por toda a paciência durante a conclusão desse trabalho. O senhor foi, e sempre será um exemplo de profissional, caráter e pessoal que sempre irei admirar. Obrigado por todas as oportunidades, por me deixar fazer parte dessa longa e bela história.

Ao professor Dr. Flávio Dutra de Resende pela confiança, conselhos, conversas. É um prazer poder trabalhar com o senhor.

Ao Dr. Alexandre Berndt, Dra. Rosa Rosa Toyoko Shiraishi Frighetto pela ajuda na condução do projeto, pelas sugestões e ensinamentos, vocês foram fundamentais.

A professora Dra. Izabelle Auxiliadora Molina De Almeida Teixeira, por participar da banca de defesa do projeto, ajudando a melhorar a condução da pesquisa.

A Dra. Márcia Helena da Rocha Fernandes, pela ajuda desde a primeira correção do projeto, até sua última correção em formato de tese. Obrigado pelos ensinamentos, sugestões, todos seus ensinamentos foram muito importantes.

Ao Dr. Rafael Canonenco de Araujo, pelas discussões, ajuda no desenvolvimento e condução da pesquisa e toda a confiança. Foram 432 dias de boas discussões, prozas e ensinamentos! Muito obrigado.

Ao meu amigo Matheus Henrique Moretti, pela grande amizade, companheirismos, brigas e festas. Muito obrigado meu amigo, você sabe o quanto faz parte de tudo isso.

A Dr. Laura Franco Prados, pela amizade, parceria e pronta disposição. Suas correções e ajuda foram indispensáveis. Mesmo com pouca convivência, tenho certeza que estará sempre entre meus bons amigos.

A Dr. Ivanna Moraes de Oliveira, pelas sugestões, correções, paciência. Obrigado por toda convivência, amizade, e parceria na APTA, forma anos excelentes.

A Professora Marcella de Toledo Piza Rorth, muito obrigado pela orientação, amizade, você foi o alicerce base do meu conhecimento.



Aos funcionários da APTA-Colina, pelo aprendizado, amizade e também ajuda na condução da pesquisa. Nada é feito sozinho!

Aos amigos Berty, Veronica, Diego, Chafic, Naiara, Fernandinha, Michele, Paloma, Japa, Dini, Lizi (Embrapa) pela ajuda e aprendizado, muito obrigado, sem você essa pesquisa não seria possível.

A todos os APTOS... Pelas conversas, churrascos, discussões, ajuda, muito obrigado! (não vou listar todos, pois corro risco de deixar alguém de fora)

A Todos os integrantes do GEPROR, por todas as discussões e aprendizado. Tenho certeza que esse grupo é um dos lugares que mais aprendi durante toda a graduação e pós-graduação.

Ao Toga e Regina, que tanto me auxiliaram e ajudaram no laboratório. Obrigado pela paciência!

Aos professores de pós-graduação da UNESP-Jaboticabal, por todos os ensinamentos.

A GRASP®, pela parceria, confiança e financiamento da pesquisa.

Ao CNPQ pela bolsa.

A Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios pela oportunidade de desenvolver de desenvolvimento do projeto.

E por fim a minha família, pelo apoiou e ajuda. Tenho muita sorte em ter nascido em uma família tão especial!

## SUMÁRIO


RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XIII
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	1
1 Introdução.....	1
1.2 O desafio da elevação da produtividade na bovinocultura de corte em sistema de pastejo entrelaçado a redução dos impactos ambientais.....	2
Referências.....	5
Capítulo 2 - Inclusão de nitrato encapsulado em suplementos para bovinos zebuínos nas condições tropicais da recria ao abate altera os parâmetros fermentativos, o consumo de forragem, tende reduzir a emissão de metano e proporciona peso superior ao abate.....	9
RESUMO.....	10
INTRODUÇÃO.....	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	21
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS.....	34
Capítulo 3 - Inclusão de nitrato encapsulado em suplementos para bovinos zebuínos nas condições tropicais da recria ao abate não altera a qualidade da carne.....	38
RESUMO.....	38
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAL E MÉTODOS.....	39
RESULTADOS.....	49
DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	55

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 11242/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Efeito da adição de nitrato na alimentação de bovinos durante recria e terminação em pastejo"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de julho de 2014.

Jaboticabal, 07 de julho de 2014.

  
**Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes**  
Coordenadora – CEUA

## **Efeito da adição de nitrato encapsulado na alimentação de bovinos de corte durante recria e terminação em pastejo**

**Resumo** – Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar se o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate altera os parâmetros ruminais, consumo, mitiga metano, altera o desempenho, a qualidade da carne e ocasiona resíduo na carne. Foram utilizados 96 animais da raça Nelore com idade entre 7 e 8 meses e  $197 \pm 15,3$  kg de peso corporal (PC) inicial, distribuídos aleatoriamente em blocos completos ao acaso aos tratamentos para a avaliação de desempenho, sendo que desses, 24 animais foram utilizados para a avaliação da emissão de metano. Também foram utilizados 12 animais contemporâneos dos animais de desempenho com fistulados no rúmen e PC inicial de  $202 \pm 6,22$  kg para a quantificação dos parâmetros fermentativos, distribuídos aleatoriamente em blocos completos, totalizando 108 animais. Foram avaliados dois tratamentos, o primeiro denominado controle (suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia) e o segundo, suplemento com nitrato (47g  $\text{NO}_3^-$ /100 kg PC). O experimento foi dividido em três fases: seca (07/2014 a 11/2014), águas (11/2014 a 05/2015) e terminação (05/2015 a 09/2015). Na fase de seca, a suplementação com nitrato reduziu a concentração de NAR ( $P \leq 0,04$ ) em média 39%, 6, 12 e 18 horas após a suplementação. Na fase de águas e terminação, o nitrato ocasionou menor concentração de NAR 6 horas após a suplementação na proporção de 29,62% e 60,73%, respectivamente ( $P=0,06$ ). O uso de nitrato aumentou o consumo de forragem dos animais apenas na fase de águas ( $P=0,04$ ) em 1,30kg/dia. Nas fases de seca e águas, a suplementação com nitrato tendeu ( $P \leq 0,11$ ) a reduzir a emissão de metano em aproximadamente 16,57% e 14,59%, respectivamente. Apenas na fase de terminação houve efeito do tratamento ( $P=0,03$ ) sobre o ganho de peso, com médias de 0,901kg/dia para animais recebendo controle e 0,998kg/dia para animais suplementados com nitrato, proporcionando

animais com peso superior ao abate (492kg para animais controle e 521kg para animais nitrato) ( $P=0,05$ ). Não houve efeito dos tratamentos no peso de carcaça final ( $P=0,44$ ), com médias de 297kg e 303kg para animais controle e nitrato, respectivamente. A carcaça dos animais controle tiveram maior espessura de gordura subcutânea (3mm) em relação a nitrato (2,1mm) ( $P=0,08$ ). Houve tendência em reduzir a intensidade de emissão (g/kg de carcaça) em 18% nos animais nitrato( $P=0,11$ ). Não houve diferença entre os tratamentos para qualidade e cor da carne ( $P\geq 0,32$ ) e também no perfil de ácidos graxos ( $P\geq 0,50$ ). O uso de nitrato não proporciona resíduo de nitrato na carne ( $P=0,77$ ). Conclui-se que o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate pode alterar os parâmetros ruminais, o consumo de forragem e tende a reduzir a emissão de metano de acordo com a qualidade da forragem. O consumo de nitrato encapsulado também proporciona peso superior ao abate, sem alterar o peso de carcaça final, além de não alterar a qualidade ou deixar resíduo na carne.

### **Effect of the addition of encapsulated nitrate in the feed of beef cattle during recreating and finishing in grazing**

**Abstract** - The objective of this research was to evaluate if the intake of nitrate encapsulated by zebu cattle in the tropical conditions under pasture grazing changes the ruminal parameters, consumption, methane emission, changes in performance, meat quality and causes residue in meat. A total of 96 Nellore animals aged 7 to 8 months and  $197 \pm 15.3$  kg of body weight (BW) were randomly assigned in randomized complete blocks to treatments for performance evaluation, of which 24 animals were used for the evaluation of methane emission. We also used 12 contemporary animals from performance animals with rumen fistulae and initial CP of  $202 \pm 6.22$  kg for the quantification of fermentative parameters, randomly distributed in complete blocks, totaling 108 animals. Two treatments were evaluated, the first one called control (supplement without nitrate, with protein equivalent substituted by urea) and the second supplement with nitrate ( $47\text{g NO}_3^- / 100\text{kg PC}$ ). The experiment was divided into three phases: dry (07/2014 to 11/2014), water (11/2014 to 05/2015) and termination (05/2015 to 09/2015). In the dry phase, nitrate supplementation reduced the RAN concentration ( $P \leq 0.04$ ) on average by 39%, 6, 12 and 18 hours after supplementation. In the water and termination phase, nitrate caused a lower concentration of RAN 6 hours after supplementation in the proportion of 29.62% and 60.73%, respectively ( $P = 0.06$ ). The use of nitrate increased the forage intake of the animals only in the water phase ( $P = 0.04$ ) in 1.30 kg / day. In the drought and water phases, nitrate supplementation tended to reduce methane emissions by approximately 16.57% and 14.59%, respectively ( $P \leq 0.11$ ). Only in the termination phase was treatment effect ( $P = 0.03$ ) on weight gain, with averages of 0.901 kg / day for animals receiving control and 0.988 kg / day for animals supplemented with nitrate, providing animals with higher

slaughter weight (492 kg for control animals and 521 kg for nitrate animals) ( $P=0.05$ ). There was no effect of treatments on final carcass weight ( $P=0.44$ ), with averages of 297kg and 303kg for control and nitrate animals, respectively. The carcass of the control animals had a higher thickness of subcutaneous fat (3mm) in relation to nitrate (2.1mm) ( $P=0.08$ ). There was a tendency to reduce the emission intensity (g / kg of carcass) by 18% in nitrate animals ( $P=0.11$ ). There was no difference between the treatments for meat quality and color ( $P\geq 0.32$ ) and also in the fatty acid profile ( $P\geq 0.50$ ). The use of nitrate does not provide nitrate residue in meat ( $P=0.77$ ). It can be concluded that the consumption of nitrate encapsulated by zebu cattle under tropical conditions under pasture grazing at slaughter can alter ruminal parameters, forage consumption and tends to reduce methane emissions according to forage quality. The consumption of encapsulated nitrate also provides superior slaughter weight, without altering the final carcass weight, and does not alter the quality or leave residue in the meat.

## **Capítulo 1- Considerações Gerais**

### **1. Introdução**

Atualmente a população mundial é de 7 bilhões de pessoas e, segundo dados da FAO, até 2050 esse número chegará a aproximadamente 9,5 bilhões. Isso significa que haverá a necessidade de elevar a produção de alimentos para atender aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas. A agropecuária brasileira com sua elevada produção, clima favorável e extensão territorial poderá atender grande parte dessa demanda por alimentos, com destaque especial para a bovinocultura de corte. Esta atividade possui rebanho com cerca de 212 milhões de cabeças (IBGE, 2013), sendo a maior parte criada em sistema de pastejo, o que constitui vantagem, pois, quando conduzida de forma correta, apresenta baixo custo de produção.

No entanto, as forrageiras apresentam oscilação qualitativa e quantitativa em função das variações climáticas ao longo do ano, que podem prejudicar a resposta animal em alguns casos, por não atender às exigências nutricionais dos mesmos. Desta maneira, estratégias que busquem elevar os índices de produção são almejadas, visando o suprimento da demanda mundial por alimentos.

Nesta mesma direção, também há grande aumento na pressão por parte dos consumidores para redução dos impactos ambientais, principalmente na bovinocultura. Bovinos naturalmente produzem gás metano ( $\text{CH}_4$ ) durante a fermentação ruminal, um importante contribuinte para o efeito estufa, pois seu potencial de aquecimento é 25 vezes maior em comparação ao gás carbônico (IPCC, 2006), sendo que a pecuária contribui com cerca 70% de toda a emissão de  $\text{CH}_4$  das atividades agrícolas (Berndt, 2010). Desta maneira, fica clara a necessidade de aliar tecnologias na produção de bovinos que tenham como finalidade o aumento da produtividade, porém, focados no menor impacto ambiental.

A suplementação de bovinos em pastejo pode ser uma boa ferramenta tecnológica na interface produção e benefícios ambientais, pois eleva o desempenho dos animais (Moretti et al., 2013; Roth et al., 2013; Detmann et al., 2010), reduzindo a idade de abate, ainda, proporcionando a veiculação de



manipuladores da fermentação ruminal, que podem reduzir a emissão de CH<sub>4</sub> e incrementarem o desempenho (Siqueira et al., 2012).

No contexto de manipuladores da fermentação, a utilização de nitrato surge de maneira promissora para mitigação de metano entérica em ruminantes. Fonte de nitrogênio para os microrganismos ruminais, durante seu processo de redução de nitrato a amônio, esta molécula atua como acceptor de H<sup>+</sup> (Van Zijderveld et al., 2010), dessa forma, mostra-se eficiente em diminuir a emissão de metano (Iwamoto et al.2002; Huslshof et al., 2012). Mesmo demonstrando-se eficiente em reduzir metano de forma persistente, não há trabalhos que avaliem a união dessas duas tecnologias (suplementação + nitrato) para bovinos em pastejo durante seu ciclo completo de vida, sendo necessária sua realização.

## **1.2. O desafio da elevação da produtividade na bovinocultura de corte em sistema de pastejo entrelaçado a redução dos impactos ambientais**

O sistema pastoril é complexo e dinâmico no tempo e espaço (Carvalho et al., 2008) e, para a obtenção de bons resultados com a suplementação, essa complexidade deve ser levada em consideração. Em um bom planejamento nutricional para animais em pastejo, podendo-se dividir as prioridades nutricionais de acordo com a deficiência da forragem em cada estação climática (Detmann et al., 2010).

No período de secas, as forrageiras normalmente são deficientes em proteína bruta (PB) (Oliveira et al., 2010; Moretti et al., 2013a), dessa maneira, a suplementação tem por prioridade a correção desse nutriente. Como demonstrado por Oliveira et al. (2010), a suplementação proteica em forrageiras de baixa qualidade melhora os processos fermentativos, eleva a degradação da matéria seca, PB e fibra, resultando no aumento na taxa de passagem, assim, o desempenho animal poderia ser elevado.

No período de águas, segundo Reis et al. (2005), o principal objetivo é priorizar a exploração da planta forrageira disponível ao pastejo. As forrageiras neste período apresentam elevação no teor de PB. Porém, conforme Detmann et al. (2010), há elevação da digestibilidade da matéria orgânica do

pasto, ainda, grande parte da proteína da planta é indigestível ou de baixa degradação, dessa forma, demandando PB suplementar para os microrganismos do rúmen, de maneira menos acentuada em relação há aquela necessária no período de secas. Paulino et al. (2008) relataram ganhos adicionais de 200 a 300g/dia com o uso da suplementação com forrageiras de qualidade.

Pensando na terminação dos animais em pastejo, segundo Siqueira et al. (2013), há um paradigma, pois neste ponto, os animais apresentam alta demanda por nutrientes, que não é suprida pela forrageira, e no período de secas, baixa disponibilidade de forragem. Desta forma, os autores sugerem a utilização de suplementos com altos níveis de consumo para a terminação dos animais em pastejo. Pode-se citar como vantagens desta técnica em relação ao confinamento: pasto como fonte de fibra, aumento do ganho em carcaça e baixo custo de investimento (Moretti et al., 2013b). Assim, o planejamento nutricional durante todo o ciclo de vida do animal, visando à otimização do desempenho e redução da idade de abate parece completa, porém, ganhos ambientais ainda podem ser obtidos visa suplementação.

O nitrato assim como a uréia é fonte de nitrogênio não proteico (NNP) para os microrganismos ruminais. Com elevado equivalente proteico, do mesmo modo que a uréia, também pode substituir parte da proteína de origem vegetal (farelo de soja, algodão, etc.), com vantagens ambientais, pois apresenta potencial em reduzir a emissão de metano. Segundo Kozloski (2011), o nitrato inicialmente é convertido a nitrito e posteriormente, amônia. Durante essa conversão, são consumidos 8 elétrons a cada mol de nitrato (Leng & Preston, 2010), o que confere ao nitrato status de competidor de substrato às bactéria metanogênicas. Ressalta-se que, além dos problemas ambientais causados pelo metano, este gás representa perdas de 2 a 12% da energia bruta ingerida por ruminantes (Berchielli et al., 2010).

Segundo Russel et al. (1992), parte dos microrganismos ruminais utilizam como fonte de nitrogênio a amônia, dessa forma, o nitrato também poderia contribuir para a formação de proteína microbiana. Detmann et al. (2010) e Detmann et al. (2011) sugerem que a utilização de NNP em suplementos tanto no período de águas quanto período de secas, potencializariam positivamente parâmetros

fermentativos. No entanto, no caso do nitrato, a dosagem é ponto importante, pois, quando a conversão de nitrato a nitrito excede a conversão de nitrito a amônia, o nitrito absorvido oxidaria a hemoglobina, formando MetHb, impedindo o transporte de O<sub>2</sub>, o que de acordo com McAllister et al. (1996), poderia levar o animal à morte.

Quando há inclusão de nitrato na dieta de ruminantes, observa-se aumento de microrganismos ruminais redutores deste, sendo que também ocorre elevação da atividade desses microrganismos (Iwamoto et al., 2002). Segundo Leng & Preston (2010), uma hora após a administração do nitrato aos animais, sua concentração reduz no fluido ruminal drasticamente, com elevação na concentração de nitrito, isso indica que há proporcionalidade na concentração de nitrato e sua redução a nitrito. A porcentagem de MetHb em relação ao total de hemoglobina no fluido sanguíneo é linearmente proporcional a concentração de nitrato no fluido ruminal (Kemp et al. 1977). Assim, tecnologias que reduzam a velocidade de disponibilização do nitrato no rúmen são necessárias, visando à redução dos riscos com intoxicação. Uma dessas possibilidades é o encapsulamento do nitrato, como esse mecanismo controla a liberação do nitrogênio, a intoxicação por MetHb é extremamente reduzida (el-Zaiat et al., 2014), e segundo esses autores eficiente em mitigar metano.

Desta maneira, pode-se citar como vantagem da utilização do nitrato na alimentação de ruminante a redução na produção de metano, diminuição de perdas energéticas mantendo-se o equilíbrio de nitrogênio, baixas alterações nas concentrações molares de ácidos graxos voláteis e elevação na concentração nitrogênio amoniacal ruminal (Li et al., 2012; Hulshof et al., 2012).

A dose de nitrato fornecido ao animal merece atenção especial, devido aos riscos de intoxicação e redução no consumo de matéria seca, além de estarem diretamente ligados ao percentual de mitigação de metano (McAllister et al., 1996; Hulshof et al., 2012; Leng & Preston, 2010). Leng e Preston (2010) utilizando dados de Iv Sophea et al. (2010) demonstram que a inclusão de nitrato de potássio na alimentação reduziu quadraticamente a liberação de metano e Van Zijderveld et al. (2010), aponta que cada mol de nitrato reduz a produção de 1 mol de metano.

Diante do exposto, pode-se evidenciar o potencial de elevação da produção e redução de impactos ambientais por meio da união entre suplemento e nitrato, porém, todos os estudos são casos pontuais, sendo que em nenhum dos experimentos foram avaliados os efeitos do uso do nitrato durante o ciclo completo de produção, fazendo-se necessário o mesmo. Objetiva-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de nitrato encapsulado na alimentação de bovinos de corte, durante todo o ciclo de produção em pastejo, sobre o desempenho, parâmetros fermentativos, consumo de alimento, emissão de metano e qualidade da carne.

### **Referências**

BERNDT, A. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases do efeito estufa. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7., 2010, Viçosa, **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2010.p.121-148.

BERCHIELLI, T.T.; CANESIN, R.C.; PEDREIRA, M.S. Emissão de Metano em Sistemas de Produção de Bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, V, 2010, Viçosa, **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2010.p.251-272.

CARVALHO, P.C.F; GONDA, H.L; WADE, M.H. Características estruturais do pasto e o consumo de forragem: O quê pastar, quando pastar e como se mover para encontrar o pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 4, 2008, Viçosa, **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2008. 102.p.

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 technical details. **International Feed Research Unit**. Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992. 21p.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F; CAMPOS FILHO, S.V. Otimização do uso de recursos forrageiros basais: otimização do uso recursos basais de baixa qualidade. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7., 2010, Viçosa, **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2010.p.191-240.

DETMANN, E; QUEIROZ, A. C; ZORZI, K. et al. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.6, p.1272-1279, 2011.

EL –ZAIAT, H.M.; ARAUJO, R.C.; SOLTAN, Y.A. et al. Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents, methane emission, and growth performance of lambs. **Journal of Animal Science.**, v.92, p. 2214-2224, 2014

FUJIHARA, T., ORSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science.**, v. 109, p.7-12, 1987.

HULSHOF, R.B.A.; GERRITS, W.J.J.; VAN ZIJDERVELD, S.M. et al. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. **Journal of Animal Science.**, v.90, p. 2317-2323, 2012.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. **IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. Chapter 10: Emissions from livestock and Manure Management. 2006. p. 10.1-10.84.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA (IBGE). (2013). Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-do-boi/ibge-rebanho-bovino-cresceu-16-em-2011-atingindo-213-milhoes-de-animais/>. Acesso em: 12.06.2017.

IV SOPHEA; BORIN. K; R A LENG, R.A et al. Effect of different ratios of supplementary sodium nitrate replacing urea on growth rates and methane production in goats fed sugar palm-soaked rice straw and mimosa foliage. Proceedings of International Conference on Live stock production, climate change and resource depletion, Pakse, LAO PDR 9-11 November 2010 (Editors: T R Preston and B Ogle).

IWAMOTO, M.; ASANUMA, N.; HINO, T. Ability of *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, and *Wolinella succinogenes* to Reduce Nitrate and Nitrite with Special Reference to the

Suppression of Ruminant Methanogenesis. **Anaerobe Physiology & Microbial Chemistry.**, v.8, p. 209-215, 2002.

Johnson, K.; M. Huyler; H. Westberg et al. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. **Environ. Sci. Technol.** v.28, p:359–362, 1994.

KEMPA, GEURINK J H, HAALSTRA R T et al. Nitrate poisoning in cattle. 2. Changes in nitrate in rumen fluid and methaemoglobin formation in blood after high nitrate intake. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v. 25, p.51-62, 1977.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2011.

LENG, R.A.; PRESTON, T.R. Further considerations of the potential of nitrate as a high affinity electron acceptor to lower enteric methane production in ruminants. **Livestock Research for Rural Development.**, v.22, n.12, p.221, 2010.

LI, L.; DAVIS, J.; HEGARTY, R. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source. **Animal Production Science.**, v.52, n.7, p.653-658, 2012.

MCALLISTER, T.A.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane Production in ruminants. **Canadian journal of Animal Science.**, v.76, p. 231-243, 1996.

MORETTI, M.H.; RESENDE, F.D.; SIQUEIRA, G.R. et al. Performance of Nelore young bulls on Marandu grass pasture with protein supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.42, n.6, p.438-446, 2013.a.

MORETTI, M.H.; ALVEZ NETO, J.A.; RESENDE, F.D. et al. Confinamento no piquete: Como e quando usar ?. In: ENCONTRO CONFINAMENTO, 8., 2013, Ribeirão Preto, **Anais...Ribeirão Preto**, SP: Multipress, 2013.p.79-99.b.

LIMA, M.A. Agropecuária brasileira e as mudanças climáticas globais: caracterização do problema, oportunidades e desafios. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v.19, p. 451-472, 2002.

OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.S.; GONÇALVEZ, L.C. et al. Digestibilidade in situ e cinética ruminal de bovinos de corte a pasto sob suplementação com proteinados. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, n.6, p.1328-1335, 2010.

REIS, R. A.; MELO, G. M. P.; BERTIPAGLIA, L. M. A., et al. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS; R. A.; SIQUEIRA, G. R.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; et al. (Ed.). **Volúmosos na Produção de Ruminantes**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2005. p. 159-186.

ROTH, M.T.P.; RESENDE, F.D.; SIQUEIRA, G.R. et al. Supplementation of Nellore young bulls on Marandu grass pastures in the dry period of the year. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.42, n.6, p.447-455, 2013.

RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J., FOX, D.G., nitratOIFFEN, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science.** v.70, p. 3551-3561. 1992.

Sato, K. Methemoglobin. In: *Drugs and Poisons in Humans – A Handbook of Practical Analysis* (Eds. Osamu Suzuki and Kanako Watanabe). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 655–657, 2005.

SIQUEIRA, G.R.;BENATTI,J.M.B.; SILVA,R.C. et al. Aditivos para bovinos em pastejo. 7 th symposium on beef cattle. International congress beef cattle, São Pedro-SP. 2012.

nitratOIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J., FOX, D.G., RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science.** v.70, p.3562-3577. 1992.

VAN ZIJDERVELD, S.M.; GERRITS, W.J.J.; APAJALAHTI, J.A. et al. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. **Journal of Dairy Science.**, v. 93, n.12, p.5856–5866, 2010.





Capítulo 2 - Inclusão de nitrato encapsulado em suplementos para bovinos zebuínos nas condições tropicais da recria ao abate altera os parâmetros fermentativos, o consumo de forragem, tende reduzir a emissão de metano e proporciona peso superior ao abate

### **Resumo**

Dentre os impactos ambientais causados pela bovinocultura, destaca-se a emissão de metano entérico, pois esse gás apresenta potencial de aquecimento superior ao CO<sub>2</sub>, além de representar perda de energia consumida pelo animal. O nitrato é apontado como uma molécula capaz de reduzir a emissão de metano entérico, e trazer benefícios zootécnicos. Assim, objetivou-se com a presente pesquisa avaliar se o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate altera os parâmetros ruminais, consumo, mitiga metano e altera o desempenho. Foram avaliados dois tratamentos, o primeiro denominado controle (suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia) e o segundo, suplemento com nitrato (47g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/100 kg PC). O experimento foi dividido em três fases: seca (07/2014 a 11/2014), águas (11/2014 a 05/2015) e terminação (05/2015 a 09/2015). No experimento 1, foram utilizados 12 animais fistulados no rúmen e PC inicial de 202 ± 6,22 kg para a quantificação dos parâmetros fermentativos, distribuídos aleatoriamente em blocos completos. No experimento 2, 96 animais da raça Nelore com idade entre 7 e 8 meses e 197 ± 15 kg de peso corporal (PC) inicial, foram distribuídos aleatoriamente em blocos completos aos tratamentos, para avaliação de ganho de peso e características de carcaça. Desses, 24 animais foram utilizados para a avaliação da emissão de metano. Na fase de seca, a suplementação com nitrato reduziu a concentração de NAR ( $P \leq 0,04$ ) em média 39%, 6, 12 e 18 horas após a suplementação. Na fase de águas e terminação, o nitrato ocasionou menor concentração de NAR 6 horas após a suplementação na proporção de 29,62% e 60,73%, respectivamente ( $P = 0,06$ ). O uso de nitrato aumentou o consumo de forragem dos animais apenas na fase de águas ( $P = 0,04$ ) em 1,30kg/dia.

Nas fases de seca e águas, a suplementação com nitrato tendeu ( $P \leq 0,11$ ) a reduzir a emissão de metano em aproximadamente 16,57% e 14,59%, respectivamente. Apenas na fase de terminação houve efeito do tratamento ( $P=0,03$ ) sobre o ganho de peso, com médias de 0,901kg/dia para animais recebendo controle e 0,998kg/dia para animais suplementados com nitrato, proporcionando animais com peso superior ao abate (492kg para animais controle e 521kg para animais nitrato) ( $P=0,05$ ). Não houve efeito dos tratamentos no peso de carcaça final ( $P=0,44$ ), com médias de 297kg e 303kg para animais controle e nitrato, respectivamente. Conclui-se que o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate pode alterar os parâmetros ruminais, o consumo de forragem e tende a reduzir a emissão de metano de acordo com a qualidade da forragem. O consumo de nitrato encapsulado também proporciona peso superior ao abate, sem alterar o peso de carcaça final.

Palavras-chave: pasto, suplemento, efeito estufa, nitrogênio não proteico, desempenho

## **Introdução**

Aumentar a produtividade é de suma importância para atender a demanda de alimentos, mas também deve-se ter especial atenção aos impactos ambientais, principalmente a produção de metano entérico, que representa aproximadamente 18,6% de toda a emissão de gases de efeito estufa no Brasil (Sirene, 2016). O nitrato é reportado como uma molécula com potencial em fornecer nitrogênio aos microrganismos ruminais e mitigar a emissão de metano entérico, pois a cada 1 mol de nitrato consumido, 1 mol de metano seria mitigado (Leng, 2008; Lee e Beauchemin, 2014).

Um possível risco com a utilização do nitrato seria a intoxicação dos animais, pois durante sua conversão a nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) ocorre a produção de nitrito, que ao ser absorvido pela parede do rúmen e entrar na corrente sanguínea proporcionaria a oxidação da hemoglobina a meta hemoglobina, impedindo o transporte de oxigênio (Lee et al., 2014). Trabalhos conduzidos com

animais em curto período de tempo demonstram que o uso de nitrato encapsulado em doses adequadas não apresenta riscos aos animais (Van Zijderveld et al., 2010; Lee et al., 2017).

Dentre os efeitos esperados com o uso de nitrato estão a diminuição da produção de propionato, elevando a concentração de acetato, pois o nitrato é um aceptor de  $H_2$  mais eficiente do que o propionato (Ungerfeld e Kohn, 2006), aumento do pH ruminal (Lee et al., 2015), e a redução no consumo de matéria seca da dieta (Hulshof et al., 2012). No entanto, na grande maioria, as avaliações do uso de nitrato na nutrição de ruminantes estão focadas na fase final de produção (terminação em confinamento, principalmente com animais taurinos), ou em um curto período de tempo. Nessa ótica, existe uma lacuna sobre os reais efeitos causados pelo consumo do nitrato por ruminantes em condições de pastejo, por períodos prolongados, e sua interação com a qualidade da forragem disponível ao pastejo. Nossa hipótese é que no rúmen, o nitrato encapsulado irá competir com as *Archaea* metanogênicas por elétrons resultantes dos processos fermentativos dos alimentos. Dessa maneira, o nitrato reduziria a metanogênese ruminal, alterando os padrões fermentativos, tornando a fermentação energeticamente mais eficiente, o que melhoraria a produção animal pelo aumento do aporte energético e ainda, atuando como importante agente mitigador de gases do efeito estufa, sendo esse efeito interativo com a qualidade da forragem. Assim, objetivou-se com a presente pesquisa avaliar se o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate altera os parâmetros ruminais, consumo, mitiga metano e altera o desempenho.

### **Material e Métodos**

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e todos os procedimentos foram aprovados pelo COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL (CEUA) da UNESP, campus Jaboticabal (Protocolo nº 11242/14).

## **Período experimental**

O experimento foi realizado de 07/2014 a 09/2015, (totalizando 432 dias de avaliação), dividido em três fases: seca (07/2014 a 11/2014), águas (11/2014 a 05/2015) e terminação (05/2015 a 09/2015), respectivamente com 135, 168 e 129 dias de avaliação cada fase. Em todas as fases foi realizada uma adaptação dos animais ao suplemento (21 dias na seca, 28 dias nas águas e 21 dias na terminação).

## **Local, área experimental e método de pastejo**

O experimento foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional da Alta Mogiana, localizada na cidade de Colina-SP. Na fase de seca, a área experimental consistia em 12 piquetes de 3 hectares cada, formados de *Panicum Maximum* cv. Tanzânia. Durante a fase de águas e terminação, os animais foram alocados em 12 piquetes variando de 2,2 a 2,4 hectares, formados por *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os lotes experimentais formados no início do experimento foram mantidos até o abate, preservando as unidades experimentais. O método de pastejo adotado foi o de lotação contínua com taxa de lotação variável, por meio da técnica de “put and take” (Mott e Lucas, 1952).

## **Tratamentos e dietas experimentais**

Foram avaliados dois tratamentos, controle (suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia) e o segundo tratamento, nitrato (70 g de nitrato encapsulado/100 kg PC, correspondendo a 47g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/ 100 kgPC). A fonte de nitrato foi o duplo sal de nitrato de cálcio e amônio decahidratado. As doses foram mantidas até o abate dos animais, sendo estipuladas com base na capacidade de mitigação de metano, que seria de aproximadamente 12,42g de CH<sub>4</sub>/100 kg PC (Van Zijderveld et al., 2010). O nitrato encapsulado foi fabricado pela GRASP Ind. & Com. LTDA (Curitiba, Paraná, Brasil) e EW Nutrition GmbH (Visbek, Alemanha), contendo 66,86% de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 100% de equivalente proteico e 19,5% de cálcio.

Na fase de seca, o nitrato encapsulado foi fornecido aos animais por meio de sua adição a um suplemento proteico-energético ofertado na quantidade de 0,7% do PC dos animais. Na fase de águas, o nitrato encapsulado foi veiculado aos animais por meio de suplemento proteico-energético oferecido na quantidade de 0,5% do PC dos animais. Já na terminação, o nitrato encapsulado foi adicionado a um suplemento energético fornecido aos animais na quantidade de 1,5% do PC. Na Tabela 1, pode ser observada a composição dos suplementos em cada fase:

Tabela 1: Composição dos suplementos (na MS), de acordo com o tratamento e fase de avaliação

Item <sup>1</sup>	Fase de seca		Fase de águas		Fase de terminação	
	Controle	Nitrato	Controle	Nitrato	Controle	Nitrato
Farelo de soja	198,9	198,2	-	-	69,8	69,3
Milho	654,9	652,4	814	809,3	876,4	870
Aditivo contendo NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	99,2	-	139	-	48,4
Ureia	34,2	-	47,9	-	14,8	-
Calcário <sup>3</sup>	61,7	-	86,1	-	26,6	-
Minerais	50,3	50,2	52	51,7	12,4	12,3
Composição						
PB (g/kg)	260,0	260,0	210,0	210,0	160,0	160,0
NDT (g/kg)	710,0	710,0	690,0	690,0	790,0	790,0
EE (g/kg)	30,3	30,2	35,0	34,8	38,5	38,2
FDN (g/kg)	107,2	106,8	109,1	108,4	124,3	123,4
Sódio (g/kg)	4,6	4,6	4,8	4,8	1,1	1,1
Cálcio (g/kg)	22,1	22,0	31,0	30,8	10,8	10,7
Fósforo (g/kg)	4,6	5,1	4,8	5,3	1,1	1,3
Magnésio (g/kg)	0,5	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0
Manganês (mg/kg)	102,2	106,7	104,8	109,9	25,0	26,1
Zinco (mg/kg)	329,9	343,2	338,3	353,5	80,7	84,1
Ferro (mg/kg)	97,6	106,7	100,1	109,9	23,9	26,1
Cobre (mg/kg)	97,6	106,7	100,1	109,9	23,9	26,1
Cobalto (mg/kg)	13,9	13,9	14,3	14,3	3,4	3,4
Iodo (mg/kg)	9,3	9,3	9,5	9,6	2,3	2,3

<sup>1</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>2</sup>Produto contendo nitrato encapsulado com 66,86% de NO<sub>3</sub>, 100% de equivalente proteico e 19,5% de cálcio pertencente à GRASP®. <sup>3</sup>A adição de cálcio foi feita para que os suplementos fossem isocalcíticos.

### **Determinação das características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro**

As estimativas da massa de forragem foram realizadas pelo método da dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995). As amostras colhidas foram picadas e na sequência, secas em estufa com circulação de ar a 55°C por 72 horas e novamente pesadas para o cálculo da MS. Também foi realizada a separação do dossel em quatro frações: colmo verde, folha verde, colmo morto/senescente e folha morta/senescente e posterior cálculo de sua participação com base na MS. Para estimativa do valor nutritivo da dieta dos animais, foi utilizado o método de pastejo simulado (De Vries, 1995). Após secagem parcial, todas as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey (TE-650; Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, São Paulo, Brasil) utilizando-se peneira com malha de 1,0 mm e armazenadas para posteriores análises bromatológicas. Essas avaliações foram realizadas a cada 28 dias e foram agrupadas por fase de avaliação.

Os teores de MS (método 934.01), matéria mineral (MM) (método 942.05), proteína bruta (PB) (método 978.04) e extrato etéreo (EE) (método 920.39), foram determinados conforme recomendações da AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) foram determinados conforme o método sequencial, descrito por Van Soest e Robertson (1985). A digestibilidade verdadeira “in vitro” da matéria seca (DIVMS) foi determinada segundo Goering e Van Soest (1970). O fracionamento da proteína da forragem foi realizado conforme o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), proposto por Sniffen et al. (1992) e descrito por Licitra et al. (1996). Não houve diferença nas características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro (Tabela 2).

Tabela 2: Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro ao longo do experimento de acordo com o tratamento e fase experimental

Variável <sup>1</sup>	Fase de seca <sup>2</sup>				Fase de águas <sup>3</sup>				Fase de terminação <sup>3</sup>			
	Tratamentos		P-valor	EPM	Tratamentos		P-valor	EPM	Tratamentos		P-valor	EPM
	Controle	Nitrato			Controle	Nitrato			Controle	Nitrato		
Características quantitativas (n=12)												
Altura	40,9	38,4	0,20	1,57	23,5	24,3	0,60	1,37	21,6	21,0	0,74	3,01
kgMS/ha	4.114	3.992	0,60	175	3683	4077	0,27	737	4784	4880	0,85	651
Oferta (kgMS/kgPC)	6,97	6,76	0,60	0,79	3,22	3,16	0,91	0,95	3,33	2,99	0,55	0,73
Oferta (kgMSFV/kgPC)	0,52	0,46	0,56	0,10	1,7	1,61	0,52	0,76	0,84	0,64	0,17	0,2
Taxa de lotação (UA/ha)	1,38	1,36	0,61	0,09	2,68	2,83	0,38	0,41	3,44	3,59	0,64	0,51
Características qualitativas (g/kg de MS) (n=12)												
PB	47,3	43,8	0,20	7,4	96,9	97,5	0,82	1,9	112,7	109,8	0,39	2,6
EE	12,3	12,8	0,68	0,7	17,7	18,6	0,30	1,3	13,6	14,4	0,35	1,0
FDN	718,3	727,3	0,36	21,7	685,5	681,5	0,67	8,2	659,4	657,7	0,76	6,3
FDA	435,3	436,6	0,93	5,9	348,7	349,2	0,93	12,7	352,5	349,7	0,4	2,3
LIG	86,4	86,8	0,94	3,8	76,8	74,3	0,63	3,5	76,5	65,3	0,04	3,8
DIVMS	607,8	592,9	0,15	6,7	717,4	732,8	0,39	19,1	770,4	764,3	0,47	5,8
NNP	167,6	162,2	0,87	31,3	174,7	177,0	0,92	15,5	232,9	212,6	0,31	15,0
NIDN	577,8	535,0	0,51	44,5	565,7	604,2	0,22	20,8	498,8	497,2	0,96	25,5

<sup>1</sup>Altura (cm): Altura do dossel forrageiro em centímetros; kgMS/ha: Massa de forragem em kg de MS a cada ha; Oferta (kgMS/kgPC): Oferta de MS em kg de MS a cada kg de PC; Oferta (kgMSFV/kgPC): oferta de folhas verde em kg de MS a cada kg de PC; PB: Proteína Bruta; EE: Extrato etéreo; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: lignina; DIVMS: Digestibilidade *in-vitro* da MS; NNP: nitrogênio não proteico; NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro em g/kg do nitrogênio total; <sup>2</sup>Seca: *Panicum Maximum* cv. Tanzania; <sup>3</sup>Brachiaria *brizantha* cv. Marandu.

## **Experimento 1**

Foram utilizados 12 animais fistulados com peso médio de  $202 \pm 6,22$  kg, contemporâneos aos animais de desempenho, sendo um a cada piquete, distribuídos nos respectivos tratamentos em blocos completos ao acaso (DBC), sendo as áreas experimentais os critérios de blocagem (2 blocos), e os piquetes as unidades experimentais (12 piquetes e 6 repetições por tratamento).

### **Parâmetros ruminais**

As avaliações dos parâmetros ruminais foram realizadas em dois períodos em cada fase (seca, águas e terminação) (42° e 104° dia de avaliação de cada fase), totalizando seis coletas ao longo do experimento. As alíquotas de líquido ruminal amostradas foram utilizadas para análise de pH, nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) e ácidos graxos voláteis (AGV), colhidas no tempo zero (anterior à suplementação), 6, 12 e 18 horas após o fornecimento do suplemento, correspondendo às 1300h, 1900h, 0100h e 0700h nas fases de seca e águas, e na fase de terminação, às 08h00, 14h00, 20h00 e 02h00. O pH foi determinado imediatamente após a coleta utilizando pHmetro digital (DM-1069 22, Digimed, São Paulo, Brasil). Foram retiradas duas alíquotas de 50 mL: a primeira foi acidificada com 1 ml de ácido sulfúrico (1:1), para posterior análise de NAR por método colorimétrico (Weatherburn, 1967) e a segunda alíquota foi imediatamente congelada para análise dos níveis de AGVs (acetato, propionato, valerato, isobutirato, isovalerato) por cromatografia gasosa (Erwin et al., 1961).

### **Consumo de suplemento e forragem**

O consumo individual de suplemento, excreção fecal e consumo de forragem foram avaliados em dois períodos a cada fase (do 33° ao 41° dias, e 95° ao 103° dia de cada fase). Para estimar a excreção fecal foi utilizado o indicador externo óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), colocado diretamente no rúmen dos animais na quantidade de 10 g por animal dia, durante os cinco dias anteriores ao início da colheita, e nos quatro dias de colheita de amostras fecais. As amostras foram colhidas uma vez ao cada dia, em



horários alternados: 0700h, 1000h, 1300h e 1600h. As amostras de fezes foram pesadas, secas em estufa com circulação de ar a 55°C por 72 horas e novamente pesadas para o cálculo da matéria seca parcial. Após a secagem parcial, as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey (uma sub amostra em peneira de 1 mm e outra sub amostra em peneira de 2 mm). Para a identificação da concentração dos indicadores nas fezes, foi feita uma amostra composta de cada animal nos quatro dias de cada coleta para posterior leitura em espectrofotômetro de absorção atômica. A excreção fecal foi obtida como descrito por Smith e Reid (1955). O consumo de matéria seca do suplemento foi estimado pelo uso do indicador externo dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), que foi fornecido misturado no suplemento na quantidade de 10g por animal/dia, durante o mesmo tempo de fornecimento e colheita daquele descrito para o óxido de cromo. O consumo de matéria seca da forragem foi estimado utilizando o marcador interno fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) (Casali et al., 2008), através da equação descrita por Berchielli (2000):

## **Experimento 2**

No início do período experimental, foram abatidos seis animais representativos do lote (animais referência), para avaliação do peso de carcaça inicial. Foram utilizados 96 animais da raça Nelore não castrados com idade entre 7 e 8 meses e  $197 \pm 15,3$  kg de peso corporal (PC) inicial, para as avaliações de ganho de peso e características de carcaça, sendo que desse total, 24 foram utilizados para a avaliação da emissão de metano. Esses animais apresentavam peso médio inicial identico a média dos demais. Salienta-se que foi realizada uma análise de desempenho dos animais utilizados para metano em relação aos demais, e não houve diferença no ganho de peso. Todos os animais foram distribuídos em blocos completos ao acaso (DBC), sendo as áreas experimentais o critério de blocagem (2 blocos), e os piquetes as unidades experimentais (12 piquetes e 6 repetições por tratamento)

### **Determinação da emissão de metano**

Para estimar a emissão de metano, os 24 animais foram distribuídos em 12 piquetes, sendo dois animais por piquete. Para quantificação da emissão de metano foi utilizado a técnica do gás traçador interno, hexafluoreto de enxofre ( $\text{SF}_6$ ) (Johnson et al., 1994). A amostragem do metano foi realizada duas vezes a cada fase (seca, águas e terminação) (83° ao 87° e 125° ao 129° dia na seca; 60° ao 64° e 147° ao 152° dia nas águas e 26° ao 30° e 88° ao 93° dia na terminação).

Duas semanas antes do início das avaliações, cápsulas contendo  $\text{SF}_6$ , com taxa de permeação conhecida foram colocadas no rúmen dos animais por meio de sonda esofágica, permanecendo ali durante todo o período experimental. Três semanas anteriores ao início das avaliações, os animais foram adaptados ao aparato de coleta. Esse procedimento foi realizado antes de todas as avaliações. O aparato utilizado foi tubo capilar de aço inoxidável acoplado ao cabresto do animal e conectado a uma canga coletora, feita de tubo de PVC. A coleta iniciou-se sempre as 0700h, com duração de 24 horas, por 5 dias consecutivos. Amostras referências (branco), para a quantificação de  $\text{SF}_6$  e  $\text{CH}_4$  do ambiente foram obtidas por meio de duas cangas que permaneceram nas áreas experimentais junto aos animais avaliados, durante todos os dias de coleta. Da mesma forma que as cangas colocadas nos animais, os brancos foram trocados a cada 24 horas. As concentrações de  $\text{CH}_4$  e de  $\text{SF}_6$  foram determinadas na Embrapa Meio Ambiente, localizada em Jaguariúna/SP (Brasil), através de cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização de chama (FID) e captura de elétrons, posteriormente calculando a taxa de emissão de metano.

### **Pesagens e avaliação de ganho de peso**

Para determinação do ganho de peso, foram realizadas pesagens dos animais no início e final de cada fase, com jejum de 16 horas de sólidos e líquidos. Pesagens intermediárias (a cada 28 dias, sem jejum) também foram realizadas com a finalidade de ajustar o fornecimento de suplemento e a dose de nitrato encapsulado.

### **Abate e características de carcaça**

Através da utilização da equação de regressão entre o peso corporal em jejum e o peso de carcaça dos animais referência, foram obtidos os pesos iniciais dos animais remanescentes no experimento. Antes dos abates, todos os animais permaneceram em jejum de sólidos e líquidos por 16 horas. Abaixo a equação:

$$\text{Peso de carcaça inicial} = -18,9 + (0,58744 \times \text{peso corporal em jejum inicial})$$

Ao final da fase de terminação, todos os 96 animais foram abatidos. O abate foi realizado em frigorífico comercial na cidade de Barretos/SP distante da APTA-Colina/SP em 20 km. Os procedimentos de abate seguiram o Regulamento de Inspeção Sanitária e Industrial para Produtos de Origem Animal (Brasil, 1997). Todas as carcaças foram identificadas e pesadas. Com isto obteve-se o peso de carcaça quente (PCQ) e o rendimento de carcaça (RC).

### **Análise estatística**

Os dados de ganho de peso, metano e carcaça foram analisados através da utilização de modelos mistos, por meio do procedimento MIXED do programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), sendo considerado efeito fixo o tratamento (1GL), e efeito aleatório o bloco (1Gl) e o erro experimental (9GL). O modelo matemático pode ser expresso pela seguinte equação:  $Y_{ije} = \mu + B_i + T_j + e_{ij}$ , onde  $Y_{ije}$  = observação do tratamento  $j$ , no bloco  $i$ ;  $\mu$  = média geral;  $B_i$  = efeito de bloco  $i$ ;  $T_j$  = efeito de tratamento  $j$ ;  $e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Para as avaliações de parâmetros ruminais, os dados foram analisados através da utilização de modelos mistos, por meio do procedimento MIXED do programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), como medidas repetidas no tempo (sendo o horário a medida repetida). A seleção da melhor matriz de

variância e covariância foi feita utilizando-se o critério de informação bayesiano (BIC). Depois de selecionadas, as estruturas foram utilizadas para compor a opção REPETEAD no procedimento MIXED e realizada a análise de variância. Foi considerado efeito fixo o tratamento (1 GL), horário (3 GL) e interação tratamento e horário (3 GL) e efeito aleatório o bloco (1 GL) e o erro experimental (38 GL). O modelo matemático pode ser expresso pela seguinte equação:  $Y_{ijke} = \mu + B_i + T_j + H_k + T \times H_{jk} + e_{ijk}$ , onde:  $Y_{ijke}$  = observação do tratamento  $j$ , no horário  $k$ , no bloco  $i$ ;  $\mu$  = média geral;  $B_i$  = efeito de bloco  $i$ ;  $T_j$  = efeito de tratamento  $j$ ;  $H_k$  = efeito de horário  $k$ ;  $T \times H_{jk}$  = interação entre tratamento e horário  $jk$ ;  $e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação. Todas as comparações entre tratamentos foram realizadas pelo teste  $t$  ao nível de 10% de probabilidade, sendo tendência discutida a 15% de probabilidade.

## **Resultados**

*Parâmetros ruminais são alterados pelo uso de nitrato de acordo com o período de avaliação*

No período de seca, não houve influência dos tratamentos no teor acetato ( $P < 0,22$ ; Tabela 3), com proporção média de 68,9%. O fornecimento de nitrato para os animais aumentou a concentração de propionato em 5,7%. Os tratamentos não alteraram a relação entre acetato e propionato ( $P = 0,24$ ).

Na fase de águas, a proporção de acetato não foi influenciado pelo nitrato ( $P = 0,40$ ). A suplementação com nitrato elevou a proporção média de propionato em 5,58% e diminuiu a relação acetato/propionato ( $P < 0,01$ ), tendendo também em reduzir a proporção de valerato ( $P = 0,14$ ). O pH dos animais tendeu a ser menor para nitrato. Não se observou alteração na concentração de isovalerato ( $P > 0,24$ ). Na terminação, apenas a concentração de isovalerato dos animais suplementados com nitrato foi reduzida em aproximadamente 16,57% ( $P = 0,07$ ) em comparação aos valores obtidos com o controle, os demais ácidos e o pH não tiveram a concentração alterada pela suplementação ( $P \geq 0,43$ ).

Tabela 3: Parâmetros fermentativos de bovinos durante a recria e terminação a pasto consumindo suplemento com ou sem nitrato encapsulado

Item	Tratamento <sup>1</sup>		P-valor <sup>2</sup>		EPM
	Controle	Nitrato	Trat.	Trat.×Hor	
Fase de seca (N=12)					
Acetato (%)	68,4	69,3	0,22	0,32	1,48
Propionato (%)	18,2	19,3	0,03	0,24	1,42
Valérico (%)	1,5	1,4	0,41	0,53	0,08
Isovalérico (%)	1,5	1,1	0,21	0,34	0,31
Total (mmol/dl)	119	122	0,60	0,70	4,89
AC_PR	3,8	3,7	0,24	0,40	0,38
pH	6,50	6,60	0,34	0,54	0,01
Fase de águas (N=12)					
Acetato (%)	71,0	70,6	0,40	0,30	0,89
Propionato (%)	16,9	17,9	<0,01	0,83	0,41
Valérico (%)	1,5	1,5	0,14	0,65	0,05
Isovalérico (%)	0,9	1,2	0,24	0,43	0,19
Total (mmol/dl)	119	129	<0,01	0,12	4,13
AC_PR	4,2	4,0	<0,01	0,70	0,16
pH	6,70	6,60	0,12	0,55	0,12
Fase de terminação (N=12)					
Acetato (%)	61,3	60,5	0,61	0,42	1,48
Propionato (%)	23,5	24,2	0,58	0,58	1,15
Valérico (%)	3,1	3,8	0,43	0,64	1,00
Isovalérico (%)	1,8	1,5	0,07	0,64	0,16
Total (mmol/dl)	143	136	0,27	0,40	7,42
AC_PR	2,8	2,6	0,33	0,50	0,18
pH	6,73	6,79	0,59	0,72	0,15

<sup>1</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. Médias seguidas de mesma letra maiúsculas entre tratamentos e minúsculas entre horários não diferem pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>2</sup>Trat.= Tratamentos; Hor.= Horário de colheita após a suplementação; Trat\*Hor= Interação entre tratamentos e horários. Animais recebendo suplemento na quantidade de 0,7%PC, 0,5% do PC e 1,5% do PC nas fases de seca, águas e terminação, respectivamente.

Na Figura 1 (a) pode-se observar que apenas no horário anterior à suplementação, o NAR foi igual entre a suplementação com nitrato e controle, sendo sempre inferior com nitrato nos demais horários de coleta. O maior diferencial foi observado 6 horas após a suplementação, quando o valor de NAR dos animais alimentados com controle foi 1,96 vezes superior à quantidade de NAR nos animais

suplementados com nitrato. Nos demais parâmetros, houve apenas influência do horário de coleta ( $P \leq 0,08$ ).

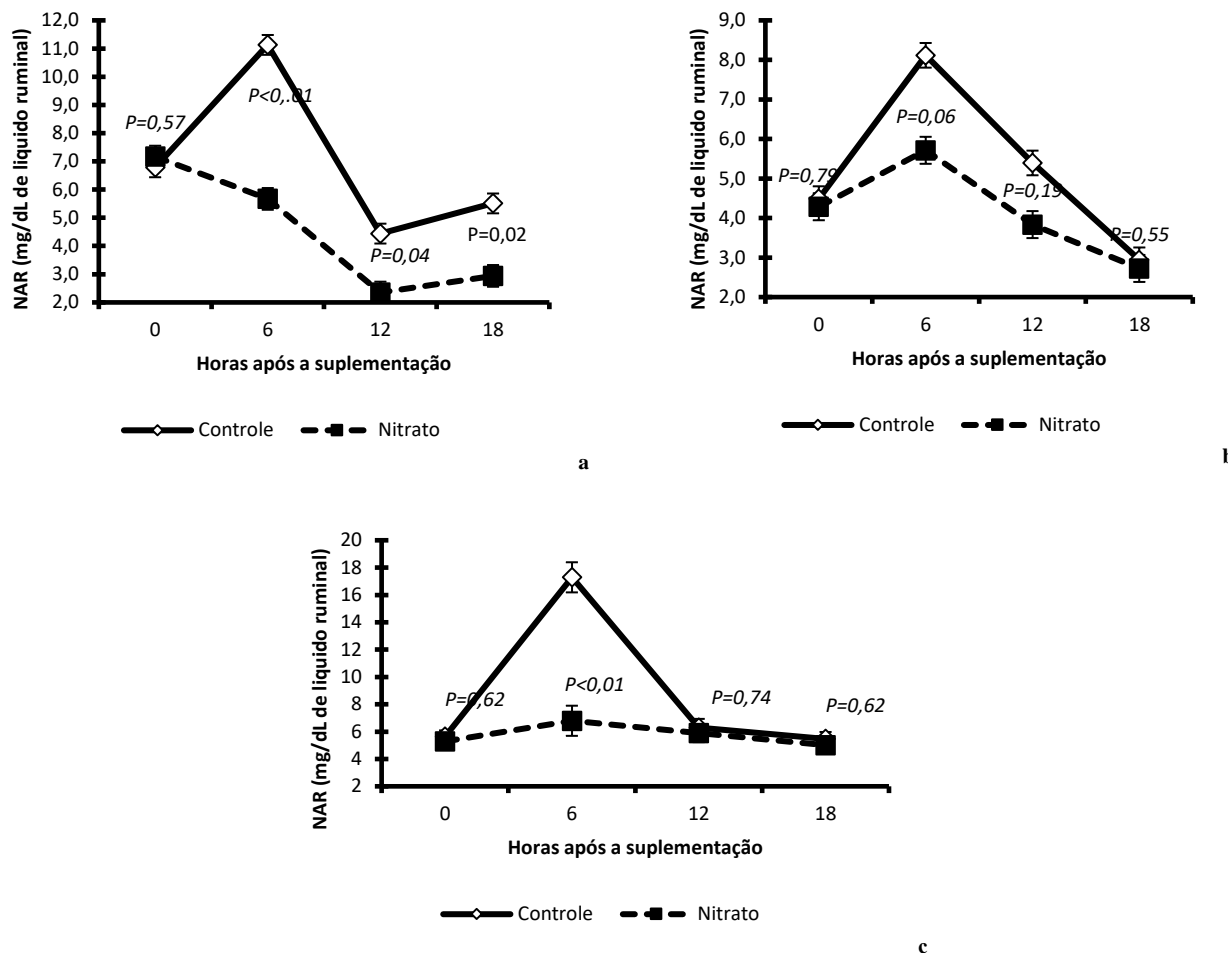


Figura 1- Nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) ao longo do dia de bovinos recebendo suplemento com nitrato (nitrato) ou sem nitrato encapsulado (controle) nas fases de seca (a), águas (b) e terminação (c), . Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. 0= 1300h; 6= 1900h; 12= 0100h; e 18= 0700h. Fase seca: Tratamentos ( $P < 0,01$ ); Horário de colheita após a suplementação ( $P < 0,01$ ); Interação entre tratamentos e horários ( $P < 0,01$ ); Fase águas: Tratamentos ( $P = 0,02$ ); Horário de colheita após a suplementação ( $P < 0,01$ ); Interação entre tratamentos e horários ( $P = 0,28$ ); Fase terminação: Horário de colheita após a suplementação ( $P < 0,01$ ); Interação entre tratamentos e horários ( $P < 0,01$ )

Na fase de águas, animais alimentados com nitrato apresentaram menor concentração de NAR (4,14 mg/dL) em comparação aos animais alimentados com controle (5,24 mg/dL) ( $P = 0,02$ ) (Figura 1 b). Também houve influência do horário de colheita sobre esse parâmetro ( $P < 0,01$ ), com maior concentração 6 horas após a suplementação, assim como na fase de seca. Na terminação, a

concentração de NAR após 6 horas de suplementação nos animais que receberam nitrato foi apenas 36% ( $P < 0,01$ ) da concentração de NAR dos animais suplementados com controle (Figura 1 c), sem diferença entre os tratamentos nos demais horários ( $P \geq 0,62$ ).

*A suplementação com nitrato pode alterar o consumo de forragem em função da fase de recria, sem alterar o consumo de suplemento, com tendência a reduzir a emissão de metano*

Na fase de seca, a suplementação com nitrato tendeu ( $P = 0,12$ ) a diminuir o consumo de forragem dos animais em 0,43 kgMS/dia, sem alterar o consumo de suplemento, e o consumo total de matéria seca ( $P \geq 0,22$ ) (Tabela 4). A alimentação dos animais com nitrato tendeu ( $P < 0,11$ ) a diminuir a emissão de metano (g/dia) em aproximadamente 16,57%. Nas demais variáveis de emissão de metano, não houve efeito do nitrato ( $P \geq 0,19$ ).

Durante a fase de águas, animais suplementados com nitrato tiveram o consumo de forragem superior em 1,30kg/dia ( $P = 0,04$ ), proporcionando consumo total de matéria seca (pasto + suplemento) 13,4% superior ( $P = 0,05$ ), sem alterar o consumo de suplemento ( $P \geq 0,69$ ). A emissão de metano (g/dia) tendeu a ser reduzido em 34g por dia com nitrato ( $P = 0,11$ ), diminuindo também a emissão a cada kg de peso corporal ganho, e a cada kg de matéria seca consumida ( $\leq 0,02$ ).

Na fase de terminação, não houve influência da suplementação sobre o consumo de forragem, suplemento e MS total ( $P \geq 0,29$ ), com médias de 5,20kg, 7,48kg e 12,60kg, respectivamente. A emissão de metano dos animais foi em média de 269,0g/dia, e não houve influência da suplementação ( $P = 0,25$ ). A emissão de metano a cada kg de peso ganho foi 27,9g menor nos animais recebendo nitrato ( $P = 0,09$ ). Houve tendência de redução de metano ( $P = 0,14$ ) a cada kg de MS consumida nos animais suplementados com nitrato.

Tabela 4: Consumo de forragem, suplemento e emissão de metano de bovinos durante a recria e terminação a pasto consumindo suplemento com ou sem nitrato encapsulado

Item <sup>1</sup>	Fase de seca				Fase de águas				Fase de terminação			
	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	Controle	Nitrato			Controle	Nitrato			Controle	Nitrato		
<i>Consumo (N =12)</i>												
Consumo de forragem (kg MS)	3,62	3,19	0,12	0,18	5,60	6,90	0,04	0,46	4,69	5,70	0,29	0,81
Consumo de suplemento (kg MS)	1,12	1,09	0,89	0,17	1,60	1,50	0,69	0,31	7,68	7,28	0,64	0,62
Consumo Total (kg MS)	4,73	4,29	0,16	0,26	7,22	8,34	0,05	0,36	12,40	12,80	0,72	1,23
<i>Emissão de metano (N=24)</i>												
Metano (g/dia)	180,0	154,0	0,11	0,16	233,0	199,0	0,11	24,20	291,0	246,0	0,25	26,49
Metano (g/kgGMD)	334,0	287,0	0,19	49,00	292,0	235,0	0,02	22,94	118,0	90,0	0,09	10,47
gMetano/kg de de MS	38,1	35,9	0,35	6,54	32,3	23,9	0,03	3,16	23,5	19,2	0,14	3,06

<sup>1</sup> Consumo estimado por indicadores; Produção de metano estimado pela técnica do SF6. <sup>2</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. Animais recebendo suplemento na quantidade de 0,7%PC, 0,5% do PC e 1,5% do PC nas fases de seca, águas e terminação, respectivamente. <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média. OBS: Consumo estimado através dos indicadores ; Emissão de metano dos animais estimado pelos 24 animais desse delineamento, GMD dos 96 animais de desempenho.



*A inclusão de nitrato encapsulado no suplemento melhora o ganho de peso dos animais durante a fase terminação, sem alteração nas demais fases*

Durante a fase de seca, nenhuma variável de desempenho avaliada foi alterada pela suplementação com nitrato ( $P \geq 0,28$ ) (Tabela 5). Os animais ganharam em média 61,2 kg de PC durante toda a fase de seca, apresentando GMD médio de 0,537kg, com eficiência alimentar média de 0,121.

Na fase de águas, nenhuma variável de desempenho avaliada foi alterada pela suplementação com nitrato ( $P \geq 0,18$ ). Os animais terminaram a fase de águas com PC médio de 397 kg, apresentando GMD de 0,795 kg e 0,851kg para a suplementação com controle e nitrato, respectivamente ( $P=0,18$ ). A eficiência alimentar média foi de 0,107kg de GMD a cada quilograma de MS ingerida ( $P=0,31$ ).

A suplementação dos animais com nitrato na fase de terminação elevou o GMD em 0,097kg/dia ( $P=0,03$ ), proporcionando peso ao abate dos animais 29 kg superior ( $P=0,05$ ) em relação a suplementação com controle. A eficiência alimentar não foi influenciada pela suplementação ( $P \geq 0,30$ ), com 0,076g de peso acumulados a cada kg de MS ingerida.

Tabela 5: Desempenho de bovinos recebendo suplemento com nitrato ou sem nitrato encapsulado (controle) durante a recria e terminação a pasto.

Item <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P- valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	Controle (n=48)	Nitrato (n=48)		
Fase de seca				
Peso inicial adaptação	197	197	-	-
Ganho médio diário adaptação (GMD) (kg)	0,025	-0,016	-	-
Peso inicial (kg)	198	197	-	-
Peso final (kg)	260	257	0,75	13,48
Ganho médio diário (GMD) (kg)	0,545	0,529	0,59	0,02
Eficiência (GMD/kg MS)	0,117	0,124	0,45	0,007
Fase de águas				
Peso inicial adaptação	260	257	-	-
Ganho médio diário adaptação (GMD) (kg)	0,764	0,918	-	-
Peso inicial (kg)	281	283	0,80	14,1
Peso final (kg)	393	402	0,40	16,7
Ganho médio diário (GMD) (kg)	0,795	0,851	0,18	0,03
Eficiência (GMD/kg MS)	0,111	0,103	0,31	0,01
Fase de terminação				
Peso inicial adaptação	393	402	-	-
Ganho médio diário adaptação (GMD) (kg)	0,095	0,524	-	-
Peso inicial (kg)	395	413	0,17	18,51
Peso final (kg)	492	521	0,05	25
Ganho médio diário (GMD) (kg)	0,901	0,998	0,03	0,06
Eficiência (GMD/kg MS)	0,075	0,078	0,76	0,001

<sup>1</sup>Eficiência (GMD/kg MS): Ganho médio diário/kg de MS de total consumida. <sup>2</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. Animais recebendo suplemento na quantidade de 0,7%PC, 0,5% do PC e 1,5% do PC nas fases de seca, águas e terminação, respectivamente <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média.<sup>4</sup>

*A inclusão de nitrato encasulado no suplemento não altera o peso de carcaça final e o ganho em carcaça dos animais durante a fase de recria e terminação*

O peso de carcaça quente final (PCQF) dos animais não foi influenciado pelo tratamento ( $P = 0,44$ ), com média de 300kg (Tabela 6). O GMD de carcaça (GMDcarc) também não foi alterado pela suplementação ( $P=0,35$ ), com média de 0,492kg/dia, porém, animais

suplementados com nitrato apresentam menor rendimento de carcaça (RC) e rendimento do ganho (RG) ( $P \leq 0,02$ ). Suplementar os animais com nitrato tendeu a reduzir 18,02% a emissão de metano por kg de carcaça acumulada.

Tabela 6: Características de carcaça e intensidade de emissão de metano de bovinos durante a recria e terminação consumindo suplemento com ou sem nitrato encapsulado

Item <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	Controle (n=48)	Nitrato (n=48)		
Carcaça quente Inicial (kg)	98	97	-	8,90
Carcaça quente final (kg)	297	303	0,44	9,50
GMD de carcaça (kg)	0,485	0,499	0,35	0,35
Rendimento de carcaça (%)	59,1	58,1	<0,01	0,30
Rendimento do ganho (%)	68,8	66,8	0,02	0,90
Metano (g/kg de carcaça)	483	396	0,11	46,0

<sup>1</sup> Rendimento do ganho (%): GMD de peso/GMD de carcaça. <sup>2</sup> controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. Animais recebendo suplemento na quantidade de 0,7%PC, 0,5% do PC e 1,5% do PC nas fases de seca, águas e terminação, respectivamente <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média.

## Discussão

Os resultados demonstraram que o uso de nitrato nas fases de seca e águas altera as concentrações dos AGVs no rúmen. Na literatura, ainda não há consenso sobre o efeito do nitrato em relação às modificações nas concentrações dos AGV. Pois em alguns experimentos não há alteração nas concentrações de AGVs (Raphélis-Soissan et al., 2014; Hulshof et al., 2012; Li et al., 2012) e em outros, observa-se modificações (Lee et al., 2015a; El-Zaiat et al., 2014, Guo et al, 2009).

Lee et al. (2015a) reportaram aumento quadrático na concentração de acetato ruminal e tendência de aumento linear na proporção de propionato ruminal com a inclusão de nitrato

encapsulado na dieta de novilhas de corte (1, 2 e 3% de nitrato encapsulado na MS). Os autores atribuíram o efeito ao consumo mais lento da dieta com a inclusão de nitrato e também devido ao comportamento de seleção. Na presente pesquisa, a interação entre horários e tratamentos para a proporção de acetato nas fases de seca e águas, e o aumento da concentração de propionato nas mesmas fases com o uso de nitrato, podem ser atribuídos à redução na velocidade de consumo do suplemento (data no show). Os animais consumindo nitrato tiveram input de nutrientes e nitrato via suplementação de forma gradativa ao longo do dia, modificando a produção dos AGV.

Na fase de seca, aproximadamente 66% de toda a PB consumida pelos animais no tratamento nitrato era de origem suplementar, e na fase de águas, apenas 29%. A conversão de nitrato em amônia é dependente de microrganismos específicos, principalmente da *W. Succinogenes*, que tem seu número elevado com o aumento da participação de nitrato na dieta total (Iwamoto et al., 2002). Assim, provavelmente na fase de seca, a conversão de nitrato em amônia no rúmen foi mais rápida em relação à fase de águas, desviando maior quantidade de elétrons para essa reação, diminuindo a produção de butirato nos animais suplementados com nitrato (Li et al., 2012).

O valor do pH ruminal dos animais na fase de seca (em média 6,24) ou na fase de águas (em média 6,63), sempre esteve acima de 6,0, que seria o valor limitante ao crescimento dos microrganismos fibrolíticos (Aschenbach et al., 2011). Isso demonstra que nessas fases, o ambiente ruminal sempre esteve favorável à degradação de fibra. Na fase de terminação, quando os animais consumiram maiores quantidades de alimentos concentrados, o menor pH ruminal foi de 6,10 (12 horas após a suplementação), ou seja, não houve acidose ruminal nos animais ou inflamações no epitélio ruminal (que ocorreria por volta de 5,8, segundo Aschenbach et al., 2011). Os valores adequados de pH ruminal em todas as fases podem ser

atribuídos ao consumo de forragem, pois esse alimento estimula a mastigação e a produção de saliva, que contem os tampões bicarbonato e fosfato, além de liberar menor quantidade de próton durante a fermentação, devido aos tampões orgânicos presentes no citosol (Aschenbach et al., 2011). Não houve efeito entre os tratamentos avaliados no pH ruminal, corroborando com as pesquisas de Li et al., 2012 e Lee et al. (2015a), que também não observaram efeito do nitrato encapsulado sobre essa variável. Os resultados da presente pesquisa estão relacionados ao consumo de concentrado, que não foi alterado pelo tratamento, mantendo o pH igual entre os tratamentos.

A interação entre horário e tratamentos em todas as fases avaliadas para NAR dos animais pode ser explicada pelo tipo de nitrogênio, quantidade de PB da forragem e comportamento de consumo de suplemento. Durante a fase de seca, o conteúdo de PB da forragem foi baixo (em média 45,6 g/kgMS), aumentando a demanda de PB oriunda do suplemento para suprir os níveis de NAR para atender as exigências dos microrganismos ruminais. Conforme descrito por Lee et al. (2015b), após incubar o nitrato encapsulado por 72 horas, foi observado que 45% do nitrato encapsulado foi rapidamente degradado, 51% lentamente degradado e a ureia, às zero horas de incubação (lavagem da amostra), desapareceu 100%. Ou seja, a liberação do nitrogênio nos animais nitrato via nitrato (que correspondia a 25% de toda a PB consumida) foi menor em relação à liberação nitrogênio via ureia no suplemento controle, e devido à baixa PB do pasto, o NAR foi semelhante entre os tratamentos apenas 24 horas após a suplementação, quando não há consumo de suplemento pelos animais. Vale ressaltar que o consumo do suplemento pelos animais ocorreu de forma gradativa ao longo do dia, no entanto, mais lentamente nos animais nitrato (data no show).

Durante a fase de águas, os animais consumiram aproximadamente 777g e 633g de PB da forragem e 316g e 340g de PB do suplemento no tratamento nitrato e controle,

respectivamente. Essa situação é inversa ao período de seca, ou seja, houve menor efeito do suplemento sobre o NAR. A maior quantidade de NAR nos animais consumindo controle 6 horas após a suplementação ocorreu provavelmente pelo pico de fermentação do suplemento nesse horário, com menor liberação do nitrogênio do tratamento nitrato. Isso é suportado pelo resultado da fase de terminação, com a ocorrência do mesmo comportamento. Na terminação, o consumo de PB do suplemento correspondeu a aproximadamente 82% de toda a PB ingerida pelos animais, demonstrando que o principal responsável pelo NAR foi a PB vinda do suplemento.

A quantidade de NAR apresentada pelos animais foi acima de 4mg/dL, que é recomendado por Sater e Slyter (1974) para otimizar a degradação de fibra. Porém, para forrageiras de clima tropical, Detmann et al. (2010) recomenda 8mg/dL de NAR nos animais, e isso ocorreu apenas nos animais suplementados com controle no período de terminação, mas ressalta-se que o desempenho dos animais não foi prejudicado pela concentração de NAR. Diversos trabalhos corroboram com os achados da presente pesquisa, também demonstrando diminuição da quantidade de NAR em animais suplementados com nitrato encapsulado (Lee et al., 2010; El-Zaiat et al., 2014).

A menor concentração de NAR nos animais alimentados com nitrato na fase de seca reflete uma tendência em diminuir o consumo da forragem, pois essa variável é positivamente correlacionada ao aumento da degradação da fibra e a ingestão da forragem pelos animais (Detmann et al., 2014). Na fase de águas, o aumento do consumo de forragem nos animais nitrato provavelmente ocorreu em função da diminuição da diferença de NAR entre os tratamentos, e também ao input de energia de origem suplementar de forma mais lenta ao longo do dia, proporcionando melhor sincronismo entre energia e proteína no rúmen (Fernandes et al., 2015). A taxa de passagem não foi avaliada nessa pesquisa, porém quando medimos o GMD

sem jejum, animais consumindo nitrato tiveram 100g a mais de GMD (data no show), essa diferença reduziu para 56g após 16 horas de jejum de sólidos e líquidos (esse efeito não foi observado na fase de seca), demonstrando provável aumento na taxa de passagem. Na fase de terminação, devido ao aporte suplementar, a participação da forragem na dieta total foi de 37,9 e 43,9% para animais suplementados com nitrato e controle, não havendo alteração dessa variável.

Os dados de produção de metano demonstraram que houve tendência de redução dessa variável durante as fases de seca e águas. Hristov et al. (2014) classifica o nitrato como um alimento aditivo que tem efetividade e alto potencial em mitigar metano. Isso ocorre, pois há consumo de 8 H<sup>+</sup> para reduzir nitrato a NAR, da mesma maneira que ocorreu utilização de H<sup>+</sup> na produção de metano, porém, reduzir nitrato a NAR conserva mais energia para os microrganismos ruminais em relação a produção de metano (Guo et al., 2009). Sem considerar a dinâmica fermentativa ruminal, a cada mol de nitrato ingerido, seria mitigado 1 mol de metano, ou seja, a cada 100 g de nitrato ingeridos, seria mitigado 25,8g de metano (Van Zijderveld et al., 2010). Na presente pesquisa, considerando o consumo de nitrato, o potencial de mitigação de metano no período de seca foi 139% do esperado, no período de águas 92% e no período de terminação 75% (26,3g, 33,1g e 45,8g respectivamente).

O rúmen é um ambiente dinâmico e vários processos ocorrem simultaneamente, assim, a variação da mitigação real obtida em relação à mitigação esperada em cada fase pode ter ocorrido em função da qualidade e composição da dieta. Na fase de seca, 76% da dieta era volumoso, apresentando a menor digestibilidade da forragem dentre as fases (600,4 g/kgMS). Na fase de águas, a forragem correspondia a 80% da dieta, porém, a digestibilidade foi elevada (767,4 g/kgMS). Por fim, no período de terminação a forragem correspondeu apenas à 24% da dieta, com (725,1 g/kgMS de digestibilidade). A fermentação de glicose oriunda de carboidratos

da forragem é convertida em maior proporção a acetato, e os carboidratos oriundos de concentrados em propionato (Albaladejo et al., 2017). Maiores quantidades de propionato diminuem o potencial de produção de metano (Janssen, 2010). Da mesma maneira, quanto menor a digestibilidade e a taxa de passagem do alimento, maior será o potencial de produção de metano, sendo o inverso recíproco (Janssen, 2010). Assim, durante as fases de águas e terminação, a mitigação real menor em relação à esperada é atribuída aos fatores acima citados.

Como a suplementação não alterou as variáveis produtivas e o consumo dos animais durante a fase de seca, as demais variáveis de metano analisadas também não foram alteradas. Na fase de águas, e terminação, a suplementação dos animais com nitrato mostrou-se uma boa ferramenta para produzir carne, com menor poluição ambiental. Diversos trabalhos reportam que o uso de nitrato encapsulado nas dietas reduz a emissão de metano a cada kg de MS ingerida ou por kg de produto animal (Van Zijderveld e Hulshof et al., 2012; El-Zaiat et al., 2014).

Apenas na fase de terminação o suplemento nitrato aumentou o GMD, proporcionando peso final superior. Nessa fase, os animais consumiriam maior quantidade de nitrato (235g/dia) em relação às demais fases (72g e 140g/dia nas fases de seca e águas, respectivamente). O consumo de nitrato é relacionado ao aumento da síntese de proteína microbiana (Guo et al., 2010; Guyader et al, 2017), assim quanto maior o consumo do aditivo, maior seria esse benefício (exceto em níveis acima de 2,5% da MS segundo descrito por Lee et al. (2015), o que não ocorreu na presente pesquisa). Além de estar relacionada à utilização de energia do alimento, a proteína microbiana possui alto valor biológico e representa até 80% da proteína absorvida no intestino (Bach et al., 2005), assim, quanto maior a síntese de proteína microbiana, melhor será o desempenho.

Os resultados de menor RC, RG, PCQF não acompanharem as diferenças obtidas no PC no tratamento nitrato pode estar relacionado as variações no consumo de forragem e efeito de



enchimento ruminal (maior consumo de forragem na fase de águas, e numericamente maior na fase de terminação), pois de acordo com Moretti (2015), quanto maior a participação da forragem na dieta total, maior é o peso do TGI (importante componente não carcaça), e menor é o resultado em carcaça.

Após 432 dias de avaliação, os dados demonstram que o nitrato encapsulado pode ser incluído em suplementos para bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo durante a recria até o abate, sem reduzir os benefícios potenciais, ou provocar intoxicação nos animais, como reportado em outras pesquisas, desde que o manejo correto seja empregado (El-Zaiat et al., 2014; Lee and Karen, 2014).

### **Conclusão**

Conclui-se que o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate pode alterar os parâmetros ruminais, o consumo de forragem e tende a reduzir a emissão de metano de acordo com a qualidade da forragem. O consumo de nitrato encapsulado também proporciona peso superior ao abate, sem alterar o peso de carcaça final.

### **Referencias**

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- Aschenbach, J. R., Penner, G. B., Stumpff, F and Gäbel, G.2011. RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. J. Anim. Sci. 89:1092–1107.
- Berchielli, T.T., Andrade, P., Furlan, C.L. 2000. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. Revista Brasileira de Zootecnia, 29:830-833.
- Casali, A. O., Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Pereira, J. C., Henriques, L. T., Freitas, S. G., Paulino, M. F. 2008. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os

teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimento *in situ*. Revista Brasileira de Zootecnia. 37:335-342.

De Vries, M. F. W. 1995. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. J. Range Man. 48:370–375.

Detmann, E., Valente, E.E.L., Batista, E.D., Huhtanen, P. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. Livestock Science. 162:141-153.

El-Zaiat, H. M., Araujo, R. C., Soltan, Y. A., Morsy, A. S., Louvandini, H., Pires, A. V., Patino, H. O., Correa, P. S and Abdalla A. L. 2014. Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents, methane emission, and growth performance of lambs. J. Anim. Sci. 92:1–11.

Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. Journal of Dairy Science. 44:1768-1771.

Fernandes, R. M., C. M. Almeida, B. C. Carvalho, J. A. Alves Neto, V. A. C. Mota, F. D. Resende, and G. R. Siqueira. 2015. Effect of supplementation of beef cattle with different protein levels and degradation rates during transition from the dry to rainy season. Tropical Anim. Heal. Prod. 48:95-101.

Goering, H. K, and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA.

Guo, W. S., Schaefer. D. M., Guo, X. X., Ren, L. P and Meng, Q. X. 2009. Use of Nitrate-nitrogen as a Sole Dietary Nitrogen Source to Inhibit Ruminal Methanogenesis and to Improve Microbial Nitrogen Synthesis In vitro. J. Anim. Sci. 22: 542-549.

Guyader, J., Ungerfeld, E.M and Beauchemin K.A. 2017. Redirection of Metabolic Hydrogen by Inhibiting Methanogenesis in the Rumen Simulation Technique (RUSITEC). Front. Microbiol. 8:393.

Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H. P. S., Adesogan, A. T., Yang, W., Lee, C., Gerber, P. J., Henderson, B, and Tricarico, J. M. 2013. SPECIAL TOPICS—Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. J. Anim. Sci. 91:5045–5069.

Hulshof, R. B. A., Berndt, A., Gerrits, W. J. J., Dijkstra, J., van Zijderveld, S. M., Newbold J.R. and Perdok, H. B. 2012. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. J. Anim. Sci. 90: 2317-2323.

Iwamoto, M., Asanuma, N and Hino, T. 2002. Ability of *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, and *Wolinella succinogenes* to Reduce Nitrate and Nitrite with Special Reference to the Suppression of Ruminal Methanogenesis. Anaerobe 8:209–215.

- Janssen, P. H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science Technology* 160:1-22.
- Johnson, K., Huyler, M., Westberg, H., Lamb, B., Zimmerman, P. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF<sub>6</sub> tracer technique. *Environmental Science e Technology*. 28:359–362.
- Lee, C and Beauchemin, K. A. 2014. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. *J. Anim. Sci.* 94: 557-570.
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M and Beauchemin, K. A. 2015. Effects of encapsulated nitrate on eating behavior, rumen fermentation, and blood profile of beef heifers fed restrictively or ad libitum. *J. Anim. Sci.* 93: 2405–2418.a
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M and Beauchemin, K. A. 2015. Effects of encapsulated nitrate on enteric methane production and nitrogen and energy utilization in beef heifer. *J. Anim. Sci.* 93: 2391–2404.b
- Li, L., Davis, J., Nolan, J and Hegarty, R. 2012. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source. *Animal Production Science* 52:653-658.
- Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractions of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57, 347–358.
- Mott, G. O, and H. L. Lucas. 1952. The desing, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: *International grassland congress*, 6, Pennsylvania. *Proceedings...* Pennsylvania: State College Press. 1380-1385.
- Palarea-Albaladejo, J., Rooke, J.A., Nevison, I. M and Dewhurst, R. J. 2017. Compositional mixed modeling of methane emissions and ruminal volatile fatty acids from individual cattle and multiple experiments. *J. Anim. Sci.* 95:2467–2480.
- Raphélis-Soissan, V., Li, L., Godwin, I. R., Barnett, M. C., Perdok, H. B and Hegarty, R. S. 2014. Use of nitrate and *Propionibacterium acidipropionici* to reduce methane emissions and increase wool growth of Merino sheep. *Production Science*, 54:1860–1866.
- Smith, A.M., Reid, J.T. 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science*. 38:515-524.
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russell, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70, 3562–3577.

Sollenberger, L. E., Cherney, D. J. R. 1995. Evaluating forage production and quality. In: Barnes, R. F., Miller, D.A, and Nelson, C.J. (Eds.) Forages: the science of grassland agriculture. Ames: University Press. 2:97-110.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University Press .202.

Van Zijderveld, S. M., Gerrits, W. J. J., Apajalahti, J. A., Newbold, J. R., Dijkstra, J., Leng, R. A and Perdok, H. B. 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. J. Dairy Sci. 93 :5856–5866.

Weatherburn, N. W.1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry. 39;971-974.

Capítulo 3 - Inclusão de nitrato encapsulado em suplementos para bovinos zebuínos nas condições tropicais da recria ao abate não altera a qualidade da carne

**Resumo**

O nitrato no rúmen é convertido em nitrito, e quando convertido em grandes quantidades, é absorvido pelas papilas ruminais e adentra a corrente sanguínea e o sistema metabólico do animal. O nitrito que tem a capacidade de reduzir mioglobina e oximioglobina a metahemoglobina, o que poderia causar mudanças na qualidade da carne. Assim, objetivou-se com a presente pesquisa avaliar se o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate altera a qualidade da carne e ocasiona resíduo na carne. Foram utilizados 96 animais da raça Nelore com idade entre 7 e 8 meses e  $197 \pm 15,3$  kg de peso corporal (PC) inicial distribuídos aleatoriamente em delineamento de blocos completos (DBC) aos dois tratamentos, sendo o primeiro tratamento denominado controle (suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia) e o segundo tratamento, suplemento com nitrato ( $47\text{g NO}_3^-/100$  kg PC). O experimento foi dividido em três fases: seca (07/2014 a 11/2014), águas (11/2014 a 05/2015) e terminação (05/2015 a 09/2015). A carcaça dos animais suplementados com controle tiveram maior espessura de gordura subcutânea (3mm) em relação ao nitrato (2,1mm) ( $P=0,08$ ). Não houve diferença entre os tratamentos para qualidade e cor da carne ( $P \geq 0,32$ ) e também no perfil de ácidos graxos ( $P=0,50$ ). O uso de nitrato não proporciona resíduo de nitrato ou nitrito na carne ( $P=0,77$ ). Conclui-se que o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate não altera a qualidade da carne ou causa resíduo na carne, sendo uma alternativa de fonte proteica para animais suplementados em pastejo.

Palavras-chave: efeito estufa, nitrogênio não proteico, maciez, ácidos graxos

### **Introdução**

O nitrato é reportado como uma fonte de N para os microrganismos ruminais, através de sua redução a amônia, com o benefício de ser um aceptor de elétrons e competir com *Archeas Metanogênicas* pelo H<sub>2</sub> disponível no rúmen, reduzindo a produção de metano (Lee e Beauchemin, 2014). Porém, o nitrito é um intermediário da conversão de nitrato a amônia, e em alguns casos, a formação de nitrito excede a capacidade dos microrganismos em reduzi-lo a amônia, sendo absorvido na corrente sanguínea, podendo causar a intoxicação dos animais por reduzir a hemoglobina à metahemoglobina (Lee et al., 2015).

O nitrito também tem a capacidade de reduzir mioglobina e oximioglobina a metahemoglobina, o que poderia causar mudanças na qualidade da carne, pois a mioglobina é a principal proteína responsável pela cor da carne (Mancini e Hunt, 2005). Dessa maneira, caso haja acúmulo de resíduo de nitrato na carne, a qualidade seria alterada. El Zaiat (2014) e Freire (2015) não observaram aumento de nitrito ou nitrato na carne através da suplementação dos animais com 64 e 71 dias de avaliação, respectivamente. Estudos que avaliem o efeito da suplementação com nitrato por períodos mais longos são necessários. Nossa hipótese é que o nitrato não alterará a qualidade o ocasionara resíduo na carne. Dessa maneira, objetivou-se avaliar se o consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate altera a qualidade da carne e ocasiona resíduo na carne.

### **Material e Métodos**

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e todos

os procedimentos foram aprovados pelo COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL (CEUA) da UNESP, campus Jaboticabal (Protocolo n°11242/14).

### **Período experimental**

O experimento foi realizado de 07/2014 a 09/2015, (totalizando 432 dias de avaliação), dividido em três fases: seca (07/2014 a 11/2014), águas (11/2014 a 05/2015) e terminação (05/2015 a 09/2015), respectivamente com 135, 168 e 129 dias de avaliação cada fase. Em todas as fases foi realizada uma adaptação dos animais ao suplemento utilizado (21 dias na seca, 28 dias nas águas e 21 dias na terminação).

### **Local e área experimental**

O experimento foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo regional da Alta Mogiana, localizada na cidade de Colina-SP. Na fase de seca, a área experimental consistia em 12 piquetes de 3 hectares cada, formados de *Panicum Maximum* cv. Tanzânia. Durante a fase de águas e terminação, os animais foram alocados em 12 piquetes variando de 2,2 a 2,4 hectares, formados por *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os lotes experimentais formados no início do experimento foram mantidos até o abate, apenas os piquetes foram alterados, mas as unidades experimentais foram preservadas.

### **Animais experimentais e método de pastejo**

Foram utilizados 96 animais da raça Nelore não castrados com idade entre 7 e 8 meses e  $197 \pm 15,3$  kg de peso corporal (PC) inicial. O método de pastejo adotado foi o de lotação contínua com taxa de lotação variável por meio da técnica de “put and take” (Mott e Lucas, 1952).

### **Tratamentos e dietas experimentais**

Foram avaliados dois tratamentos, controle (suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia) e o segundo tratamento, nitrato (70 g de nitrato encapsulado/100 kg PC, correspondendo a 47g  $\text{NO}_3^-$ / 100 kgPC). A fonte de nitrato foi o duplo sal de nitrato de cálcio e amônio decahidratado. As doses foram mantidas até o abate dos animais, sendo estipuladas com base na capacidade de mitigação de metano, que seria de aproximadamente 12,42g de  $\text{CH}_4$ /100 kg PC (Van Zijderveld et al., 2010). O nitrato encapsulado foi fabricado pela GRASP Ind. & Com. LTDA (Curitiba, Paraná, Brasil) e EW Nutrition GmbH (Visbek, Alemanha), contendo 66,86% de  $\text{NO}_3^-$ , 100% de equivalente proteico e 19,5% de cálcio.

Na fase de seca, o nitrato encapsulado foi fornecido aos animais por meio de sua adição a um suplemento proteico-energético ofertado na quantidade de 0,7% do PC dos animais. Na fase de águas, o nitrato encapsulado foi veiculado aos animais por meio de suplemento proteico-energético oferecido na quantidade de 0,5% do PC dos animais. Já na terminação, o nitrato encapsulado foi adicionado a um suplemento energético fornecido aos animais na quantidade de 1,5% do PC. Na Tabela 1, pode ser observada a composição dos suplementos em cada fase:



Tabela 1: Composição dos suplementos (na MS), de acordo com o tratamento e fase de avaliação

Item <sup>1</sup>	Fase de seca		Fase de águas		Fase de terminação	
	Controle	Nitrato	Controle	Nitrato	Controle	Nitrato
Farelo de soja	198,9	198,2	-	-	69,8	69,3
Milho	654,9	652,4	814	809,3	876,4	870
Aditivo contendo NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	99,2	-	139	-	48,4
Ureia	34,2	-	47,9	-	14,8	-
Calcário <sup>3</sup>	61,7	-	86,1	-	26,6	-
Minerais	50,3	50,2	52	51,7	12,4	12,3
Composição						
PB (g/kg)	260,0	260,0	210,0	210,0	160,0	160,0
NDT (g/kg)	710,0	710,0	690,0	690,0	790,0	790,0
EE (g/kg)	30,3	30,2	35,0	34,8	38,5	38,2
FDN (g/kg)	107,2	106,8	109,1	108,4	124,3	123,4
Sódio (g/kg)	4,6	4,6	4,8	4,8	1,1	1,1
Cálcio (g/kg)	22,1	22,0	31,0	30,8	10,8	10,7
Fósforo (g/kg)	4,6	5,1	4,8	5,3	1,1	1,3
Magnésio (g/kg)	0,5	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0
Manganês (mg/kg)	102,2	106,7	104,8	109,9	25,0	26,1
Zinco (mg/kg)	329,9	343,2	338,3	353,5	80,7	84,1
Ferro (mg/kg)	97,6	106,7	100,1	109,9	23,9	26,1
Cobre (mg/kg)	97,6	106,7	100,1	109,9	23,9	26,1
Cobalto (mg/kg)	13,9	13,9	14,3	14,3	3,4	3,4
Iodo (mg/kg)	9,3	9,3	9,5	9,6	2,3	2,3

<sup>1</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>2</sup>Produto contendo nitrato encapsulado com 66,86% de NO<sub>3</sub>, 100% de equivalente proteico e 19,5% de cálcio pertencente à GRASP®. <sup>3</sup>A adição de cálcio foi feita para que os suplementos fossem isocalcíficos.

### Determinação das características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro

As estimativas da massa de forragem foram realizadas pelo método da dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995). As amostras colhidas foram picadas e na sequência, secas em estufa com circulação de ar a 55°C por 72 horas e novamente pesadas para o cálculo da MS. Também foi realizada a separação do dossel em quatro frações: colmo verde, folha verde, colmo morto/senescente e folha morta/senescente e posterior cálculo de sua

participação com base na MS. Para estimativa do valor nutritivo da dieta dos animais, foi utilizado o método de pastejo simulado (De Vries, 1995). Após secagem parcial, todas as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey (TE-650; Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, São Paulo, Brasil) utilizando-se peneira com malha de 1,0 mm e armazenadas para posteriores análises bromatológicas. Essas avaliações foram realizadas a cada 28 dias e foram agrupadas por fase de avaliação.

Os teores de MS (método 934.01), matéria mineral (MM) (método 942.05), proteína bruta (PB) (método 978.04) e extrato etéreo (EE) (método 920.39), foram determinados conforme recomendações da AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) foram determinados conforme o método sequencial, descrito por Van Soest e Robertson (1985). A digestibilidade verdadeira “in vitro” da matéria seca (DIVMS) foi determinada segundo Goering e Van Soest (1970). O fracionamento da proteína da forragem foi realizado conforme o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), proposto por Sniffen et al. (1992) e descrito por Licitra et al. (1996). Não houve diferença nas características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro (Tabela 2).

Tabela 2: Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro ao longo do experimento de acordo com o tratamento e fase experimental

Variável <sup>1</sup>	Fase de seca <sup>2</sup>				Fase de águas <sup>3</sup>				Fase de terminação <sup>3</sup>			
	Tratamentos		P-valor	EPM	Tratamentos		P-valor	EPM	Tratamentos		P-valor	EPM
	Controle	Nitrato			Controle	Nitrato			Controle	Nitrato		
Características quantitativas (n=12)												
Altura	40,9	38,4	0,20	1,57	23,5	24,3	0,60	1,37	21,6	21,0	0,74	3,01
kgMS/ha	4.114	3.992	0,60	175	3683	4077	0,27	737	4784	4880	0,85	651
Oferta (kgMS/kgPC)	6,97	6,76	0,60	0,79	3,22	3,16	0,91	0,95	3,33	2,99	0,55	0,73
Oferta (kgMSFV/kgPC)	0,52	0,46	0,56	0,10	1,7	1,61	0,52	0,76	0,84	0,64	0,17	0,2
Taxa de lotação (UA/ha)	1,38	1,36	0,61	0,09	2,68	2,83	0,38	0,41	3,44	3,59	0,64	0,51
Características qualitativas (g/kg de MS) (n=12)												
PB	47,3	43,8	0,20	7,4	96,9	97,5	0,82	1,9	112,7	109,8	0,39	2,6
EE	12,3	12,8	0,68	0,7	17,7	18,6	0,30	1,3	13,6	14,4	0,35	1,0
FDN	718,3	727,3	0,36	21,7	685,5	681,5	0,67	8,2	659,4	657,7	0,76	6,3
FDA	435,3	436,6	0,93	5,9	348,7	349,2	0,93	12,7	352,5	349,7	0,4	2,3
LIG	86,4	86,8	0,94	3,8	76,8	74,3	0,63	3,5	76,5	65,3	0,04	3,8
DIVMS	607,8	592,9	0,15	6,7	717,4	732,8	0,39	19,1	770,4	764,3	0,47	5,8
NNP	167,6	162,2	0,87	31,3	174,7	177,0	0,92	15,5	232,9	212,6	0,31	15,0
NIDN	577,8	535,0	0,51	44,5	565,7	604,2	0,22	20,8	498,8	497,2	0,96	25,5

<sup>1</sup>Altura (cm): Altura do dossel forrageiro em centímetros; kgMS/ha: Massa de forragem em kg de MS a cada ha; Oferta (kgMS/kgPC): Oferta de MS em kg de MS a cada kg de PC; Oferta (kgMSFV/kgPC): oferta de folhas verde em kg de MS a cada kg de PC; PB: Proteína Bruta; EE: Extrato etéreo; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: lignina; DIVMS: Digestibilidade *in-vitro* da MS; NNP: nitrogênio não proteico; NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro em g/kg do nitrogênio total; <sup>2</sup>Seca: *Panicum Maximum* cv. Tanzania; <sup>3</sup>Brachiaria *brizantha* cv. Marandu.

### **Abate e características de carcaça**

No início do período experimental, foram abatidos seis animais representativos do lote (animais referência), para avaliação do peso de carcaça inicial. Através da utilização da equação de regressão entre o peso corporal em jejum e o peso de carcaça dos animais, foram obtidos os pesos iniciais dos animais remanescentes no experimento. Antes dos abates, todos os animais permaneceram em jejum de sólidos e líquidos por 16 horas. Abaixo a equação:

$$\text{Peso de carcaça inicial} = -18,9 + (0,58744 \times \text{peso corporal em jejum inicial})$$

Ao final da fase de terminação, todos os 96 animais foram abatidos. O abate foi realizado em frigorífico comercial na cidade de Barretos/SP distante da APTA-Colina/SP em 20 km. Os procedimentos de abate seguiram o Regulamento de Inspeção Sanitária e Industrial para Produtos de Origem Animal (Brasil, 1997). Todas as carcaças foram identificadas e pesadas. Com isto obteve-se o peso de carcaça quente (PCQ) e o rendimento de carcaça (RC). Em 24 animais, 12 animais de cada tratamento (2 animais por piquete), foi mensurado o peso dos rins, fígado e gordura pélvica-renal-inguinal. Após 24 horas na câmara fria, todas as carcaças foram novamente pesadas obtendo assim o peso de carcaça fria (PCF).

O pH foi aferido após 24 horas de resfriamento da carcaça entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas, no músculo *Longissimus thoracis*. Para medição do pH foi utilizado um potenciômetro (Sentron, modelo 1001, Holanda) acoplado a uma sonda (Sentron, LanceFET 2074-008) com sistema de identificação digital, sensor de compensação de temperatura e eletrodo de vidro apropriado. Na meia-carcaça direita, foram determinados o comprimento e a profundidade da carcaça, o tamanho de coxão e o perímetro de coxão, de acordo com Müller (1987). Na mesma meia-carcaça foi realizada a pesagem dos cortes primários (dianteiro, ponta de agulha e traseiro

especial) e seus rendimentos, conforme preconiza a PADRONIZAÇÃO DE CORTES DE CARNE BOVINA, aprovada pela Portaria SIPA nº 5, de 08 de novembro de 1988.

A partir da secção do músculo *Longissimus thoracis*, entre a 12<sup>a</sup> e a 13<sup>a</sup> costelas, foi mensurada a área de olho de lombo (AOL), utilizando uma régua quadriculada. A medida da espessura de gordura subcutânea (EGS) foi realizada com auxílio de um paquímetro.

### **Avaliação da qualidade da carne**

Após 24 horas do abate, um total de quatro bifés, do músculo *Longissimus thoracis*, cada um de 2,54 cm de espessura de 24 animais (12 de cada tratamento) foram coletados, identificados e embalados a vácuo. Um bife foi utilizado para a análise de composição química, outro para determinação da coloração, perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento e outro para a determinar o perfil de ácidos graxo e um para análise de resíduo. As amostras de resíduo de nitrato e nitrito foram realizadas na USP-Esalq pelo método de espectrofotometria segundo metodologia de análise físico químico de alimentos (Brasil, 2005a, b).

As análises de coloração, PPC e força de cisalhamento da carne foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Carne da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos/SP (Brasil). A determinação da cor da carne foi realizada como descrito por Houben et al. (2000), utilizando um colorímetro portátil (HunterLab, modelo Miniscan XE plus). Para obtenção dos índices de cor foi estabelecido o sistema CIELAB, iluminante A., ângulo de 10° para o observador e luz especular excluída (controleE). Trinta minutos antes da avaliação, as amostras foram removidas das embalagens a vácuo e superfície das amostras exposta ao ar para a oxigenação de mioglobina (Tapp III et al., 2011). A luminosidade ( $L^*$ ), índice de vermelho ( $a^*$ ) e índice de

amarelo ( $b^*$ ) foram obtidos para cada amostra. A cor foi medida em 5 pontos e os valores médios calculados.

Após a medida de cor, a maciez foi avaliada através do método Warner-Bratzler Shear Force (WBSF). As amostras foram assadas a 170°C em forno industrial elétrico (Tedesco, modelo TC06/ELT). A temperatura dos bifes foi monitorada com o auxílio de um termômetro com haste colocada no centro geométrico de cada bife até a temperatura atingir 70°C (Wheeler et al., 1997), quando então os bifes foram retirados e deixados à temperatura ambiente para serem arrefecidos. A perda por cocção foi calculada como a diferença entre o peso dos bifes, antes e depois de assados. Oito núcleos de 1,27cm de diâmetro foram removidos de cada bife paralelo ao eixo longitudinal das fibras musculares. Cada núcleo foi cortado uma vez no centro, perpendicular à direção da fibra por uma lâmina tipo Warner-Bratzler ligado a um texturômetro (Exponent modelo TAXT plus).

A análise do perfil de ácido graxo da carne foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia do Departamento de Nutrição e Produção Animal na Universidade de São Paulo. O perfil de ácidos graxos foi determinado pelo método de extração de Folch et al. (1957), a gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). Para o processo de metilação foram utilizados dois padrões internos o ácido esteárico (C18:0) e o ácido nonadecanóico (C19:0) para quantificação das perdas do processo.

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC-2010 Plus - Shimadzu. auto-injetor AOC 20i), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0.25 mm de diâmetro com 0.02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70°C, com aquecimento progressivo (13°C/min) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos.

Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto foi iniciado até 215°C, e mantido durante 31 minutos. Hidrogênio (H<sub>2</sub>) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm<sup>3</sup>/s.

A avaliação dos ácidos graxos quanto a sua funcionalidade (hipercolesterolêmicos; hipocolesterolêmicos e neutros) foi feita através da classificação preconizada por Bessa (1999).

As equações são apresentadas a seguir:

$$\text{Hipercolesterolêmicos} = \text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C16:1};$$

$$\text{Hipocolesterolêmicos} = \text{C18:1n9} + \text{C18:2n6} + \text{20:4n6};$$

$$\text{Neutros} = \text{C18:0}.$$

### **Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental adotado foi em blocos completos ao acaso (DBC), as áreas experimentais foram os critérios de blocagem (2 blocos), e os piquetes as unidades experimentais (12 piquetes e 6 repetições por tratamento). Os dados foram analisados através da utilização de modelos mistos, por meio do procedimento MIXED do programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), sendo considerado efeito fixo o tratamento (1GL), e efeito aleatório o bloco (1Gl) e o erro experimental (9GL). O modelo matemático pode ser expresso pela seguinte equação:  $Y_{ije} = \mu + B_i + T_j + e_{ij}$ , onde  $Y_{ije}$  = observação do tratamento j, no bloco i;  $\mu$  = média geral;  $B_i$  = efeito de bloco i;  $T_j$  = efeito de tratamento j;  $e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação. As comparações entre tratamentos foram realizadas pelo teste t ao nível de 10% de probabilidade, considerando tendência ao nível de 15% de probabilidade.

## Resultados

*A inclusão de nitrato encapsulado não altera a proporção de órgãos dos animais*

A suplementação com nitrato não alterou a proporção dos órgãos avaliados ( $P \leq 0,26$ ), que tiveram médias entre os tratamentos de 1,93%, 0,24% e 1,25% para fígado, rins e gordura pélvica renal inguinal (GPRI) respectivamente.

Tabela 3: Órgãos de bovinos Nelore durante a fase de recria e terminação (432 dias) suplementados com ou sem nitrato encapsulado

Item <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	controle	nitrato		
Fígado (%)	1,94	1,91	0,63	0,1
Rins (%)	0,23	0,24	0,83	0,0
GPRI (%)	1,17	1,33	0,26	0,1

<sup>1</sup> Fígado (%): em porcentagem do peso de carcaça; Rins: em porcentagem do peso de carcaça; GPRI: gordura pélvica renal inguinal em porcentagem do peso de carcaça. <sup>2</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média

*A inclusão de nitrato encasulado no suplemento não altera a cor da carne e suas características qualitativas*

A suplementação com nitrato aumentou a 1,1 mm a espessura de gordura nos animais ( $P=0,08$ ). Não houve diferença entre os tratamentos ( $P \geq 0,32$ ) para nenhuma variável de cor ou qualidade da carne (Tabela 4). A média de luminosidade ( $L^*$ ), intensidade de vermelho ( $a^*$ ) e intensidade amarelo ( $b^*$ ) foi de 32,75; 13,90 e 11,18, respectivamente. A capacidade de retenção de água (CRA), perda por cocção (PPC) e maciez foram em média 73,6%, 22,5% e 3,42 kgf, respectivamente, não havendo efeito do tratamento ( $P \geq 0,44$ ).



Tabela 4: Qualidade de carne do músculo *Longissimus thoracis* de bovinos Nelore suplementados com ou sem nitrato encapsulado

Item <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	controle	nitrato		
pH	5,79	5,76	0,85	0,10
AOL (cm <sup>2</sup> )	74,1	75,5	0,75	4,00
EGS (mm)	2,10	3,00	0,08	0,40
L*	32,5	33,0	0,6	0,57
a*	13,6	14,2	0,32	0,47
b*	11,0	11,4	0,55	0,50
pH	5,79	5,76	0,85	0,10
CRA (%)	73,8	73,4	0,82	1,07
PPC (%)	21,6	23,3	0,44	1,82
WBFS (kgf)	3,36	3,48	0,86	0,47

<sup>1</sup>AOL (cm<sup>2</sup>): Área de olho de lombo; EGS (mm): Espessura de gordura subcutânea, L\*: L\* = luminosidade; a\* = intensidade de vermelho; b\* = intensidade de amarelo; CRA (%): Capacidade de retenção de água em porcentagem, PPC (%): Perda por cocção em porcentagem, WBFS: Warner-Bratzler Shear Force. <sup>2</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média.

*A inclusão de nitrato encasulado no suplemento não altera a composição de ácidos graxos do musculo Longissimus thoracis*

A concentração de ácidos graxos no músculo *Longissimus thoracis* não foi alterada ( $P \geq 0,50$ ) pela inclusão de nitrato encapsulado nos suplementos (Tabela 5). Os ácidos graxos saturados (AGS), e ácidos graxos insaturados (AGI) tiveram média de 42,23g/100g e 48,21g/100g respectivamente ( $P \geq 0,78$ ). Os ácidos graxos hipercolesterolêmicos tiveram média de 27,7g/100g e os hipocolesterolêmicos, 46,1g/100g ( $P \geq 0,53$ ).

Tabela 5: Composição de ácidos graxos (g/100g de ácidos graxos) de bovinos Nelore suplementados com ou sem nitrato encapsulado

Item <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		P-valor <sup>3</sup>	EPM <sup>4</sup>
	controle	nitrato		
C14:0, Mirístico	2,40	2,57	0,50	0,17
C16:0, Palmítico	22,91	23,44	0,58	0,66
C16:1, Palmitoleico, cis-9	2,00	2,13	0,68	0,22
C18:0, Esteárico	16,85	16,29	0,66	0,88
C18:1 n9, C, Oleico	32,67	33,23	0,81	1,61
C18:2 n6, C, Linoleico	10,74	10,51	0,88	1,04
C20:4 n6, Araquidônico	2,57	2,55	0,95	0,26
Outros A.G.	9,86	9,27	0,60	0,77
AGS	42,16	42,30	0,94	1,3
AGI	47,98	48,42	0,78	1,1
AGMI	34,67	35,36	0,79	1,78
AGPI	13,31	13,06	0,89	1,27
AGI:AGS	1,14	1,16	0,87	0,06
AGMI:AGS	0,82	0,85	0,77	0,06
AGPI:AGS	0,32	0,31	0,86	0,04
Ácidos graxos n-6	13,31	13,06	0,89	1,27
Hipercolesterolêmico	27,31	28,14	0,53	0,91
Hipocolesterolêmico	45,98	46,30	0,82	0,98
Neutro	16,85	16,29	0,66	0,88

<sup>1</sup> AGS: ácido graxo saturado; AGI: ácido graxo insaturado; AGMI: ácido graxo monoinsaturado; AGPI: ácido graxo poli-insaturado; AGI:AGS: relação AGI e AGS; AGMI:AGS: relação AGMI e AGS; AGPI:AGS: relação AGPI e AGS. <sup>2</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>3</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>4</sup>EPM: Erro padrão da média.

*O consumo de nitrato encapsulado durante 432 dias não ocasiona resíduo de nitrito ou nitrato na carne*

Não foi detectado resíduo de nitrito no músculo *Longissimus thoracis* dos animais (Tabela 6). Não houve acúmulo de nitrato na carne de animais suplementos com nitrato ( $P = 0,77$ ), com valores máximos de 6,30mg/kg e 6,50mg/kg para controle e nitrato,

respectivamente. O valor mínimo de nitrato na carne para o tratamento controle foi de 0,30 mg/kg e nitrato de 0,40mg/kg.

Tabela 6: Resíduo de nitrito e nitrato no musculo *Longissimus thoracis* de bovinos Nelore suplementados com ou sem nitrato encapsulado

Item	Tratamentos <sup>1</sup>		P-valor <sup>2</sup>	EPM <sup>3</sup>
	controle	nitrato		
Nitrito (mg/kg)	<2,0	<2,0	-	-
Nitrato (Expresso em Nitrito mg/kg)	3,35	3,10	0,77	0,60
Mínimo Nitrato (Expresso em Nitrito mg/kg)	0,30	0,40	-	-
Máximo Nitrato (Expresso em Nitrito mg/kg)	6,30	6,50	-	-

<sup>1</sup>controle = suplemento sem nitrato, com equivalente proteico substituído por ureia; nitrato = suplemento com nitrato encapsulado. <sup>2</sup>Médias comparadas pelo teste “t” a 10% de probabilidade. <sup>3</sup>EPM: Erro padrão da média.

### Discussão

O pH da carne dos animais foi na faixa adequada entre 5,5 e 5,8 (Cañeque e Sañudo, 2005), o que pode ter contribuído para uma vida adequada de prateleira da carne e também demonstra manejo sem estresse dos animais antes do abate, pois o pH da carne têm correlação positiva com o teor de glicogênio do músculo. O glicogênio em condições anaeróbicas post-mortem é metabolizado a lactato, que é o responsável pela queda do pH (Coombes et al., 2014), e em condições de estresse, o glicogênio é consumido antes do abate, proporcionando pH acima de 5,8. Hegarty et al. (2016) também não constataram efeito do uso de nitrato sobre o pH da carne de animais alimentados com nitrato (5,49) ou sem nitrato (5,48).

Os resultados de AOL demonstram que a suplementação com nitrato não prejudica o desenvolvimento muscular. Em corroboração com a presente pesquisa, Lee et al. (2017) e Hegarty et al. (2016) também não constataram efeito do uso de nitrato sobre a AOL. A maior espessura de gordura subcutânea na carcaça de animais suplementados com nitrato está relacionada ao aumento no consumo de energia dos animais, pois a deposição dessa gordura é

relacionada ao status energético do animal. Em contraste com a presente pesquisa, Lee et al. (2017) não observaram efeito do nitrato sobre a espessura de gordura, porém foi constatado que o nitrato encapsulado reduziu o consumo de matéria seca nas 3 primeiras fases avaliadas, o que pode ter influenciado na energia disponível para a deposição de gordura subcutânea.

Um dos principais atributos de qualidade de carne é a sua cor, pois é um dos primeiros atributos observados pelo consumidor. A inclusão de nitrato encapsulado não alterou os valores de luminosidade ( $L^*$ ), intensidade de vermelho ( $a^*$ ) e intensidade de amarelo ( $b^*$ ). Da mesma maneira, El-Zaiat (2014) também não observou efeito da suplementação de nitrato sobre as variáveis de cor da carne. Por outro lado, Freire (2016) observou efeito quadrático sobre a luminosidade com o aumento do nível de nitrato encapsulado, sem modificar  $a^*$  e  $b^*$ . A cor da carne é influenciada por fatores como o manejo pré-abate, processos de oxigenação e oxidação, pH e mioglobina na carne (Abril et al., 2001). A mioglobina influencia a cor da carne através de seu estado físico químico (mioglobina, oximioglobina e metamioglobina) (Mancini e Hunt, 2005), e o nitrato tem a capacidade de oxidar a mioglobina, oximioglobina e metamioglobina, o que poderia alterar a cor da carne, tornando-a mais escura. Como na presente pesquisa o nitrito presente na carne esteve abaixo dos níveis de detecção e o resíduo de nitrato não diferiu entre os suplementos, a suplementação com nitrato ao longo da recria e terminação do animal não prejudica a cor da carne.

Outro fator importante do nitrito é o efeito regulador do óxido nítrico (produzido a partir do nitrito) sobre as calpaínas em pH dependente, o que poderia ter modificado a maciez e a capacidade de retenção de água (Brewer, 2014). A carne dos animais pode ser considerada macia, pois apresentou valores de WBSF abaixo de  $4,6 \text{ kg/cm}^2$  (Belew et al., 2003). As variáveis perda por cocção e capacidade de retenção de água são influenciadas por fatores como sexo, raça e idade do animal, manejo pré-abate, processamento industrial e principalmente pH.

O pH não foi alterado e os demais fatores foram similares entre os tratamentos, contribuindo para a mesma resposta entre os tratamentos.

Nenhum efeito da adição de nitrato encapsulado foi observado sobre o perfil de ácidos graxos da carne. A tendência do aumento no consumo de forragem pelo suplemento poderia ter alterado o perfil de ácidos graxos (Daley et al., 2010), porém, isso não ocorreu. Nossos dados corroboram com Scollan (2006), demonstrando que os principais ácidos graxos saturados da carne bovina são o merístico (14:0), palmítico (16:0) e esteárico (18:0) e estão relacionados ao aumento dos níveis de LDL, colesterol prejudicial à saúde humana. O maior teor de ômega 6 ( $n-6$ ) na presente pesquisa em relação ao ômega 3 ( $n-3$ ) é função do tipo de terminação, com fornecimento de elevada quantidade de concentrado, aumentando a participação de ( $n-6$ ) (Scollan, 2006). A maior concentração de ácidos graxos hipocolesterolêmicos em relação ao hipercolesterolêmico observada é desejada, pois ácidos graxos hipocolesterolêmicos quando consumidos reduzem o LDL, prevenindo, principalmente, doenças cardiovasculares (Molketin, 2000).

O nitrato é utilizado na conservação de alimentos, e também está presente na água e nos vegetais, ou seja, é uma substância permitida para consumo humano, em quantidades diárias de no máximo 7mg/kg de peso corporal; e o resíduo na carne é permitido até 200ppm no músculo (Bedale et al., 2016). A suplementação com nitrato não proporcionou aumento na concentração de nitrato na carne ou detecção de nitrito, assim como E-Zaiat (2013) e Freire (2015). Esses resultados demonstram que em doses de 47g de  $\text{NO}_3$  a cada 100kg de peso corporal mesmo durante 432 dias, a segurança alimentar da carne é garantida.

## Conclusão

O consumo de nitrato encapsulado por bovinos zebuínos nas condições tropicais em pastejo da recria ao abate não altera a qualidade da carne ou causa resíduo na carne, sendo uma alternativa de fonte proteica para animais suplementados em pastejo durante toda sua vida.

## Referências

- Abril, M., Campo, M. M., Önenç, A., Sañudo, C., Albertí, P. and Negueruela, A. I., 2001. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58:69-78.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- Baldassini, W. A., Chardulo, L. A. L., Silva, J. A. V., Malheiros, J. M., Dias, V. A. D., Espigolan, R., Baldi, F. S., Albuquerque, L. G., Fernandes, T. T. and Padilha, P. M., 2017. Meat quality traits of Nellore bulls according to different degrees of backfat thickness: a multivariate approach. *Animal Production Science*, 57:363-370.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análises de alimentos, Instituto Adolfo Lutz, Brasília. Ministério da Saúde, 2005. 4ª Edição. Nitrato - Metodologia 284/IV, p. 517-522a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análises de alimentos, Instituto Adolfo Lutz, Brasília. Ministério da Saúde, 2005. 4ª Edição. Nitrito - Metodologia 283/IV, p. 515-517b.
- Bedale, W., Sindelar, J. J. and Milkowski, A. L., 2016. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat science*, 120:85-92.
- Berchielli, T.T., Andrade, P., Furlan, C.L. 2000. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29:830-833.
- Brasil (1997). Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento, Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Brewer, M. S., 2014. Chemical and physical characteristics of meat| Water-holding capacity. *Encyclopedia of meat sciences*, 274-282.
- Casali, A. O., Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Pereira, J. C., Henriques, L. T., Freitas, S. G., Paulino, M. F. 2008. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os

teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimento *in situ*. Revista Brasileira de Zootecnia. 37:335-342.

Coombes, S. V., Gardner, G. E., Pethick, D. W. and McGilchrist, P., 2014. The impact of beef cattle temperament assessed using flight speed on muscle glycogen, muscle lactate and plasma lactate concentrations at slaughter. Meat science, 98:815-821.

Daley, C. A., Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A. and Larson, S., 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. Nutrition Journal, 9:10.

De Mey, E., De Klerck, K., De Maere, H., Dewulf, L., Derdelinckx, G., Peeters, M. C., Fraeye, I., Heyden, Y. V. and Paelinck, H., 2014. The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. Meat science, 96:821-828.

De Vries, M. F. W. 1995. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. J. Range Man. 48:370-375.

El-zaiat, H. M. M. Efeito da inclusão de nitrato na dieta sobre a fermentação ruminal, a emissão de metano entérico e o desempenho de ovinos. 2013. 126 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

Fidelis, H. A., Bonilha, S. F. M., Tedeschi, L. O., Branco, R. H., Cyrillo, J. N. S. G. and Mercadante, M. E. Z., 2017. Residual feed intake, carcass traits and meat quality in Nellore cattle. Meat Science, 128:34-39.

Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloane-stanley. 1957. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues, Journal of Biology and Chemistry. 226:497-509.

Freire, A. P. A. Desempenho, características de carcaça, produção de metano e metabolismo ruminal em ovinos alimentados com dietas contendo nitrato de cálcio. 2015. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba, 2015.

Hegarty, R. S., Miller, J., Oelbrandt, N., Li, L., Luijben, J. P. M., Robinson, D. L., Nolan, J. V. and Perdok, H. B., 2016. Feed intake, growth, and body and carcass attributes of feedlot steers supplemented with two levels of calcium nitrate or urea. J. Anim. Sci., 94:5372-5381.

Houben, J. H., A. Van Dijk, G. Eikelenboom, and A. H. Hoving-Bolink. 2000. Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on color stability and lipid oxidation in minced beef. Meat Sci. 55:331-336.

Humada, M. J., Sañudo, C. and Serrano, E., 2014. Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, colour and cooking losses in meat from Tudanca bulls finished on semi-extensive or intensive systems and slaughtered at 12 or 14 months. Meat science, 96:908-915.

- Johnson, K., Huyler, M., Westberg, H., Lamb, B., Zimmerman, P. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF<sub>6</sub> tracer technique. *Environmental Science e Technology*. 28:359–362.
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M and Beauchemin, K. A. 2015. Effects of encapsulated nitrate on eating behavior, rumen fermentation, and blood profile of beef heifers fed restrictively or ad libitum. *J. Anim. Sci.* 93: 2405–2418.
- Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractions of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57, 347–358.
- Liu, J., Arner, A., Puolanne, E. and Ertbjerg, P., 2016. On the water-holding of myofibrils: Effect of sarcoplasmic protein denaturation. *Meat Science*, 119:32-40.
- Lorenzo, J. M. and Domínguez, R., 2014. Cooking losses, lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat as affected by cooking procedure. *Flavour and fragrance journal*, 29:240-248.
- Mott, G. O, and H. L. Lucas. 1952. The desing, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: *International grassland congress*, 6, Pennsylvania. *Proceedings...* Pennsylvania: State College Press. 1380-1385.
- Maia Filho, G. H. B., Barbosa, F. A., Emerick, L. L., Souza, R. C., Figueiredo, T. C., Azevedo, H. D. O., Cavalcanti, L. F. L. and Mandarino, R. A., 2016. Carcass and meat traits of feedlot Nellore bulls fed different dietary energy sources. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45:265-272.
- Mancini, R. A., and Hunt, M., 2005. Current research in meat color. *Meat science*, 71:100-121.
- Missio, R. L., da Silva, D. P., Alexandrino, E., Restle, J., de Paula Neto, J. J., de Rezende, J. M., Melo, J. C., Silva, A. A. M. and e Duarte, T. D., 2017. Carcass and meat of two genetic groups of cattle fed two levels of grass-Convert silage in feedlot. *Semina: Ciências Agrárias*, 38:1501-1512.
- Müller, L. Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaça de novilhos. 2.ed. Santa Maria: Imprensa Universitária, 1987. 31p.
- Oliveira, E. A., Sampaio, A. A. M., Henrique, W., Pivaro, T. M., Rosa, B. L., Fernandes, A. R. M. and Andrade, A. T., 2012. Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. *Meat Science*, 90:28-35.
- Pereira, M. L. R. Nitrato encapsulado em substituição ao farelo de soja na terminação de bovinos de corte em confinamento. 2015. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.
- Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I. and Moloney, A., 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, 74:17-33.



- Silva, L. H. P., Paulino, P. V. R., Assis, G. J. F., Assis, D. E. F., Estrada, M. M., Silva, M. C., Silva, J. C., Martins, T. S., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F. and Chizzotti, M. L., 2017. Effect of post-weaning growth rate on carcass traits and meat quality of Nelore cattle. *Meat science*, 123:192-197.
- Tapp III, W. N., J. W. S. Yancey, and J. K. Apple. 2011. How is the instrumental color of meat measured? *Meat Science*. 89:1–5.
- Smith, A.M., Reid, J.T. 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science*. 38:515-524.
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russell, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70, 3562–3577.
- Sollenberger, L. E., Cherney, D. J. R. 1995. Evaluating forage production and quality. In: Barnes, R. F., Miller, D.A, and Nelson, C.J. (Eds.) *Forages: the science of grassland agriculture*. Ames: University Press. 2:97-110.
- Usinger, E. L., Larson, E. M., Niebuhr, S. E., Fedler, C. A., Prusa, K. J., Dickson, J. S., Tarté, R. and Sebranek, J. G., 2016. Can supplemental nitrate in cured meats be used as a means of increasing residual and dietary nitrate and subsequent potential for physiological nitric oxide without affecting product properties?. *Meat science*, 121:324-332.
- Wheeler, T. L., S. D. Shackelford, L. P. Johnson, M. F. Miller, R. K. Miller, and M. Koohmaraie. 1997. A comparison of Warner- Bratzler shear force assessment within and among institutions. *J. Anim. Sci*. 75:2423-2432.