

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DA PRÓPOLIS COMO ADITIVO
NA DIETA DE OVINOS FISTULADOS**

Guilherme Augusto Saperro

CAMPO GRANDE, MS.

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DA PRÓPOLIS COMO ADITIVO
NA DIETA DE OVINOS FISTULADOS**

Residue of brown propolis extraction as additive in the diet of
fistulated sheep

Guilherme Augusto Sapaterro

Orientadora: Profa. Dra. Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo

Co-orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção
Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2013

A

Deus...

Pela vida, por tudo.

Aos

Meus pais, Jurandir e Zélia.

Primeiros professores de minha vida, responsáveis por ensinar o amor, justiça,
honestidade, solidariedade e perseverança.

Aos

Meus irmãos André e Fernanda.

Que me dão, amor, amizade, incentivo, apoio e momentos inesquecíveis .

Aos

Meus Avós

Duzulina e Paulo

Maria (*in memoriam*) e Riciere (*in memoriam*)

À

Minha esposa Nayara.

Pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e compreensão em todas as horas.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Durante a realização de qualquer caminhada sempre contamos com competência, carinho, dedicação e amizade de inúmeras pessoas. Nesta que agora termina quero agradecer a todos, em especial:

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e professores da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por todas as oportunidades que me foram proporcionadas;

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, FUNDECT (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento e concessão da bolsa de estudo, fundamental para a realização deste estudo;

À minha orientadora Prof^a Dr^a. Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, pela dedicação, paciência e competência nos ensinamentos. Profissional que é exemplo de ética, a qual colaborou de forma direta no meu crescimento acadêmico;

À Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), por disponibilizar o laboratório de Biotecnologia de Nutrição Animal e em especial ao meu Co-orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo.

Aos colegas do grupo de pesquisa e estagiários, Cesar Augusto Esteves, Jonilson Araújo da Silva, Claudia Muniz Soares, Henrique Freitas, Marlova Miotto, Ariadne Portilho, Naomi Kerkhoff Gimenes, Kelvin Lino, Marcos Pagliari, Christian Ferreira Gomes, Guilherme Seraphim pela atenção, confiança, dedicação, não medindo esforços para ajudar na realização deste trabalho.

Aos participantes do Projeto Vivência que tiravam os sábados de manhã em pró da ovinocultura.

A todos os funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal: Antônio Straviz e Francisco, pelos momentos de amizade, tereré, paciência e auxílio na execução das análises.

A todos os meus amigos de graduação, pós-graduação e república em especial ao João Castello Branco pelo companheirismo durante anos morando juntos e as viagens, e ao José Carlos Carrilho Júnior que além de companheiro também me auxiliou na minha formação me levando para estágios.

Obrigado!

Resumo

SAPATERRO, G.A. Resíduo da extração da própolis como aditivo na dieta de ovinos fistulados. 2012. 36 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2012.

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar o resíduo da extração alcoólica da própolis na alimentação de borregos de corte. No primeiro experimento, avaliaram o efeito da inclusão do resíduo da extração alcoólica da própolis em dieta a base de feno e concentrado, sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e comportamento ingestivos de borregos canulados no rúmen, castrado, com peso médio de 29,5 kg, contemporâneos e mesmo plantel. Foi utilizado como volumoso o feno moído de capim-Tifton (*Cynodon* spp.), na relação volumoso:concentrado de 40:60, com base na matéria seca. Os animais foram submetidos a três tratamentos, sendo a dieta controle (sem resíduo de própolis), com acréscimo de 5g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP5) proporcionava 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta e 0,021 mg de fenóis totais/kg MS da dieta e a dieta com 10 g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP10) continha 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta e 0,041 mg de fenóis totais/kg MS da dieta. O RP10 teve um maior consumo de matéria seca (921,88g) em relação ao controle (795,07g), além de proporcionar melhor digestibilidade para FDA (0,5399), RP5 (0,4264) e controle (0,4543). A produção de nitrogênio amoniacal e pH afetada em função do tempo. O RP10 pode ser viável, no entanto, necessita de mais estudos. No segundo experimento objetivou-se avaliar as produções de gás e taxa de degradação nas diferentes frações, utilizando a mesma dieta do primeiro ensaio. A mensuração dos gases foi realizada por meio de um sensor de pressão acoplado a um voltímetro, por 48 horas. Com o somatório do volume de gás para cada tempo de leitura, foram estabelecidas as curvas de produção cumulativa dos gases. A cinética da produção cumulativa dos gases foi analisada empregando-se o modelo logístico bicompartimental, O RP10 se mostrou mais eficiente ($P < 0,05$) para degradação do somatório da fração de rápida e lenta degradação, tendo um total produzido 10,43 ml/100.MS, enquanto que a dieta controle e RP5 tiveram uma produção de 5,88 e 5,97 ml/100 MS, respectivamente, indicando uma menor digestibilidade.

Palavras chaves: cinética, ionóforo, produção de gás

Abstract

SAPATERRO, G.A. Residue of brown propolis extraction as additive in the diet of fistulated sheep. 2012. 36 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2012.

Two experiments were conducted to evaluate the propolis alcoholic extraction residue in the feeding of lambs. In the first experiment evaluated the effect of inclusion of alcoholic extraction residue of propolis in the base diet of hay and concentrate on the nutrient intake and digestibility, ruminal parameters and ingestivos behavior of cannulated lambs in the rumen, neutered, with an average weight of 29.5 kg, contemporâneos and even squad. Was used as bulky hay ground-Tifton grass (*Cynodon spp.*), bulky: concentrate ratio is between 40:60, on dry matter basis. The animals were subjected to three treatments, being the control diet (no residue of propolis), with addition of 5 g of propolis extraction residue diet/kg DM (RP5) provided 0.031 mg of flavonoids/kg MS diet and 0.021 mg of phenols totais/kg MS diet and the diet with 10 g of propolis extraction residue diet/kg DM (RP10) contained 0,061mg of flavonoids/kg MS diet and 0.041 mg of phenols totais/kg MS diet. The RP10 had a higher dry matter intake (921, 88 g) compared to the control (795, 07 g), in addition to providing better digestibility to ADF (0.5399), RP5 (0.4264) and control (0.4543). The production of nitrogen ammonial and pH is affected as a function of time. The RP10 can be viable, however, requires further studies. In the second experiment the objective to evaluate the gas production and rate of degradation in the different fractions, using the same diet the first test. The measurement of gases has been carried out by means of a pressure sensor coupled to a voltmeter, for 48 hours. With the sum of the volume of gas for each reading time, were established the cumulative gas production curves. The kinetics of cumulative gas production was analyzed using the logistic model bicompartimental, the RP10 proved to be more efficient (P 0.05) for degradation of the sum of the fraction of fast and slow degradation, having a total produced 10,43ml/100g DM, while the control diet and RP5 had a production of 5.88 5.97 ml/100 g DM, respectively, indicating a lower digestibility.

Keywords: kinetic, ionophore, gas production

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
1. Ionóforos como aditivo.....	1
2. Efeito da monensina sódica sobre o desempenho animal.....	2
3. Própolis como aditivo.....	3
4. Efeito da própolis sobre a produção animal.....	5
5. Resíduo da extração de própolis.....	7
Referências.....	8
EFEITO DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS MARROM SOBRE O COMPORTAMENTO INGESTIVO, PARÂMETROS RUMINAIS E DIGESTIBILIDADE EM BORREGOS FISTULADOS.....	12
Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Material e Métodos.....	15
Resultados e Discussão.....	18
Conclusão.....	24
Referências.....	24
EFEITO DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS MARROM SOBRE A PRODUÇÃO DE GÁS E DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i>	26
Resumo.....	26
Abstract.....	27
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	29
Resultados e Discussão.....	31
Conclusão.....	33
Referências.....	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS	36

INTRODUÇÃO

Durante o processo de fermentação os ruminantes emitem metano que pode representar perda em até 12% da energia bruta do alimento (Baker,1999), energia que poderia ser usada pelo animal.

Estudos na área de nutrição animal mostraram que a intensidade na emissão de metano proveniente da fermentação ruminal depende principalmente da categoria animal, do consumo de alimento, tipo e quantidade de carboidrato na dieta, manipulação da microflora ruminal (Berchielli et al. 2006).

Neste sentido, a utilização de aditivos tem sido um recurso utilizado para otimizar a produção animal, com o objetivo de melhora no desempenho e redução da poluição ambiental, por meio da atenuação de perdas por amônia e metano (Berchielli et al. 2006). Há alguns anos, várias pesquisas tentam estabelecer adequada produção desses compostos, com alterações na composição da dieta ou uso de aditivos zootécnicos, a exemplo dos ionóforos, leveduras, fungos, antibióticos não-ionóforos, lipídios insaturados, ácidos orgânicos e a própolis (Leopoldino, 2004).

1. Uso dos ionóforos como aditivo

Os ionóforos, principalmente a monensina, foram provavelmente os aditivos mais pesquisados em dietas de ruminantes. São conhecidos mais de 120 tipos de ionóforos resultantes da fermentação de vários tipos de actinomicetos, produzidos principalmente por bactéria do gênero *Streptomyces*, mas somente a monensina, lasalocida, salinomicina e laidlomocina propionato são aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso em dietas de ruminantes (Berchielli et al., 2006).

Os ionóforos melhoram o desempenho animal, principalmente devido às alterações na fermentação ruminal, com alta efetividade contra bactérias *gram*-positivas e pouca ou nenhuma atividade contra bactérias *gram*-negativas, devido ao fato de que na camada lipídica externa está presente a porina (canais de proteínas), com um tamanho limite de aproximadamente 600 Dalton. A maioria dos ionóforos é maior que 600 Dalton, não passando através das porinas (Nagajara et al., 1997). As bactérias *gram*-positivas não possuem essa camada externa e a monensina pode penetrar livremente na parede celular. Entretanto, a presença de membrana externa não é um

absoluto critério para resistência, sendo que algumas bactérias *gram*-negativas são susceptíveis a altas concentrações de ionóforos (Nagajara & Taylor, 1987).

Os ionóforos são geralmente bacteriostáticos e não bactericidas (Nagajara & Taylor, 1987), por meio da alteração do fluxo de cátions através da membrana. A monensina, por exemplo, faz o antiporte de sódio/potássio, decrescendo a concentração de potássio celular e o influxo de prótons, resultando no abaixamento do pH intracelular. Uma vez que o pH intracelular fica baixo, a monensina cataliza um efluxo de prótons em mudança com o sódio, então, para conter a queda de pH pelo influxo de prótons e sódio, a célula transporta prótons para fora, através das bombas Na⁺/K⁺ e de próton ATPase (Russell, 1987).

Inicialmente, a célula ainda continua sendo capaz de metabolizar a glicose, no entanto, com o passar do tempo, ela diminui o metabolismo interno para sobreviver, devido ao gasto de energia com as bombas de Na⁺/K⁺ e de próton ATPase, fazendo com que ocorra um declínio de ATP intracelular. Com essa diminuição do ATP intracelular, a célula se mantém em um estado de letargia, ou acaba morrendo (Russel & Strobel, 1989).

Ricke et al. (1983) avaliaram a inclusão dos ionóforos monensina e lasalocida, na dosagem de 33 mg/kg MS da dieta e observaram melhora na eficiência alimentar na presença dos ionóforos, em ambos aditivos, no entanto, a monensina diminuiu o nível de amônia no rumen, enquanto, a lasalocida aumentou quando comparado à dieta controle.

Cabral et al. (1999), estudando os efeitos dos níveis de salinomicina na dieta de ovinos submetidos em regime de confinamento por 62 dias, concluíram que o uso de até 28 mg/kg de salinomicina por um período de 62 dias proporciona melhoria da conversão alimentar em até 29,18% em ovinos confinados, quando comparados aos níveis 7 e 14 mg/kg e dieta controle.

2. Efeito da monensina sódica sobre o desempenho animal

Araújo et al. (2007) avaliaram o efeito do ionóforo adicionado concentrado, nos níveis de 0; 25; 50 e 75 mg de monensina/animal/dia, no desempenho de cordeiros, quatro meses e peso médio vivo inicial de 17,85 kg, criados a pasto e verificaram que a adição de monensina sódica não afetou o consumo de concentrado e o ganho de peso médio dos cordeiros. Em confinamento, Oliveira et al. (2007) administraram 28 mg de monensina sódica por kg de MS consumida por ovinos e verificaram redução significativa no consumo de nutrientes; porém, sem alteração de digestibilidade.

Quatro ovinos da raça Suffolk canulados no rumen recebendo uma dieta com 50% volumoso e 50% concentrado com a inclusão de 25 mg de monensina/dia, levedura 20×10^9 UFC/g, 25 mg de monensina/dia + levedura 20×10^9 UFC/g, e sem a inclusão de aditivo, não apresentaram alterações no consumo, digestibilidade e pH ruminal, mas houve aumento da produção de propionato em animais que receberam monensina e a associação entre levedura e monensina (Haddad & Goussous, 2005).

No marco da política de segurança alimentar e criação da agência de segurança alimentar (EFSA) a União Européia, a partir do ano 2006, proibiu o uso de aditivos ou antibióticos como avilacina, flavofosfolipol, monensina sódica e salinomicina sódica na alimentação animal, assim como a entrada de produtos provenientes de animais alimentados com estes aditivos. Desta forma, existe a necessidade de desenvolver pesquisas sobre aditivos naturais com efeitos semelhantes que não coloquem em risco a saúde do consumidor ou do ambiente (Valero, 2010).

3. Uso da própolis como aditivo

Própolis é o nome genérico para a substância resinosa de composição complexa coletada pelas abelhas, a partir dos mais heterogêneos tipos de plantas. A palavra própolis é derivada do grego *pro* que significa em defesa de, e *polis*, cidade, isto é, em defesa da cidade ou da colméia (Marcucci, 1996; Burdock, 1998). A própolis é coletada por abelhas a partir de diversas partes das plantas como brotos, botões florais, casca e exsudatos resinosos.

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à sua composição química, e esta possivelmente é o maior problema para sua utilização em fitoterapia, tendo em vista que a sua composição química varia com a flora da região, época da colheita, fatores que exerce enorme importância nas propriedades físicas, químicas e biológicas (Adelmann, 2005).

A técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM) detectou aproximadamente 150 componentes químicos (Burdock, 1998). A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas em fontes naturais, e mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis (Burdock, 1998).

Os principais compostos químicos isolados da própolis até o momento podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, alcoóis, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, esteroides,

cetonas, flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), terpenoides, proteínas, vitaminas B₁, B₂, B₆, C, E, bem como diversos minerais. De todos esses grupos de compostos, certamente o que mais vem chamando a atenção dos pesquisadores são os flavonoides (Havsteen, 1983).

Flavonóide é um dos principais grupos fenólicos presentes na própolis, sendo apontado como fator principal na estimativa da qualidade da própolis (Kosalec et al., 2004). A característica estrutural básica dos flavonóides é o núcleo flavona, que consiste em dois anéis de benzeno ligados por meio de um anel pirano heterocíclico (Cushnie & Lamb, 2005). Apesar da estrutura relativamente homogênea desses compostos, os flavonóides inibem um grande número e variedade de enzimas eucarióticas, devido a interação entre as enzimas e as diferentes partes da molécula do flavonóide (Havsteen, 1983; Cushnie & Lamb, 2005).

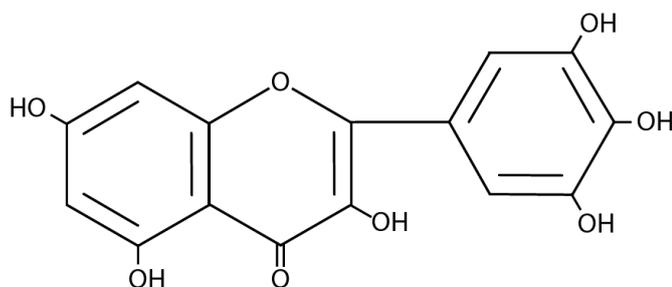


Figura 01. Estrutura química do flavonóide (Trouillas, 2004).

O extrato de própolis possui atividade antibacteriana especialmente contra bactérias *gram*-positivas (Mirzoeva et al., 1997). Vargas et al. (2004) também observaram atividade antibacteriana da própolis em solução alcóolica a 50% em isolados bacterianos *gram* positivas (81) e *gram* negativas (80) demonstrando maior sensibilidade dos isolados *gram* positivos (92,6%) do que *gram* negativos (42,5%) avaliados. Esta atividade é relacionada à presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres presentes na resina (Burdock, 1998).

Várias propriedades têm sido atribuídas à própolis, como atividade antimicrobiana (Gonsales et al., 2006), anti-fúngica (Longhini et al., 2007), antiinflamatória (Montpied et al., 2003), cicatrizante (Ghisalberti, 1979), anestésica (Burdock, 1998), anticariogênica (Park et al., 1998a), anticarcinogênica (Menezes, 2005), antioxidante (Park et al., 1998b), dentre outras.

Por tais motivos, a própolis tem sido utilizada pelas indústrias farmacêutica e alimentícia na forma de alimentos funcionais. O Brasil é um dos maiores exportadores

de própolis para Japão, Estados Unidos e Europa e com objetivo de padronizar tal produto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento aprovou regulamento técnico de identidade e qualidade de própolis e extrato de própolis (Brasil, 2001).

4. Efeito da própolis sobre a produção animal

Broudiscou et al. (2000) avaliaram treze extratos vegetais, selecionados pela alta concentração de flavonoides, os quais, foram incluídos em dietas a base de aveia e feno com a relação volumoso e concentrado de 50: 50, observaram que a própolis aumentou a produção de propionato (fonte de energia) em 10,3% e diminuiu a população de protozoários.

Stradiotti Jr et al. (2004a) observaram que a própolis foi eficiente em inibir a atividade de desaminação pelos microrganismos ruminais tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Em outro trabalho, Stradiotti Jr et al. (2004b) observaram que o extrato de própolis inibiu a produção de gases *in vitro*, mas não alterou a ingestão de matéria seca, pH, produção de amônia e concentração de proteína microbiana no líquido ruminal de bovinos.

Em cabras leiteiras, Lana et al. (2005) avaliaram a inclusão de óleo de soja e extrato etanólico de própolis no concentrado utilizado e não relataram interferência do extrato de própolis sobre consumo, digestibilidade, produção e composição de leite, assim como parâmetros de fermentação ruminal.

Prado et al (2010) utilizaram quatro búfalos mestiços castrados, canulados no rúmen com peso médio corporal inicial de 459,3 kg, submetidos a dietas com relação volumoso:concentrado de 80:20, controle (sem aditivo), ou com 2g de monensina sódica/animal/dia e com os produtos contendo própolis (LLOS), sendo que, as concentrações de própolis avaliadas foram 0,036 mg de flavonoides/animal/dia (LLOSC1) e de 0,022 mg de flavonoides/animal/dia (LLOSB3) e não verificaram efeito no consumo de matéria seca e demais nutrientes, além dos nutrientes digestíveis totais.

Valero (2010), trabalhando com bovinos confinados recebendo dietas composta por 50% volumoso e 50% concentrado, com a adição de 250mg de monensina/animal/dia ou 35 mg de flavonóide/animal/dia do produto a base de própolis, contendo 0,036 mg de flavonóide/g do produto, observou diminuição de consumo de matéria seca e melhora na eficiência alimentar dos animais submetidos aos aditivos, em relação dieta controle.

Daniel (2011) avaliou cinco bovinos mestiços (Zebu x Holandês) castrados canulados no rúmen, com peso corporal médio 437,04 kg, alimentados com dieta com 60% de silagem de milho e 40% de concentrado fornecida em 2% do peso corporal, acrescidas de produtos à base de própolis LLOSC1 (15,09 mg de flavonóides/animal/dia), LLOSC1+ (30,18 mg de flavonóides/animal/dia), LLOSC1++ (45,27 mg de flavonóides /animal/dia) e LLOSC1+++ (60,36 mg de flavonóides/animal/dia) e observaram que a adição das doses crescentes do produto à base de própolis LLOS C1 na dieta não alteraram os parâmetros digestivos, cinética de trânsito de sólidos e líquidos e eficiência de síntese microbiana.

Ítavo et al. (2011) estudaram a inclusão de extrato de própolis marrom (20,2 mg de flavonóides/animal/dia) e verde (67,0 mg de flavonoides/animal/dia), na dosagem de 15 ml/animal/dia, em dietas de cordeiros confinados e verificaram que animais submetidos à própolis marrom apresentaram consumo de matéria seca, conversão alimentar e eficiência alimentar semelhante aos animais submetidos à monensina sódica.

Silva (2011), utilizando cordeiros com sete meses de idade e peso médio inicial de 24,36 kg submetidos ou não ao uso de aditivos alimentares: própolis marrom bruta (0,142 mg de flavonóides/kg MS) ou em extrato (17,88 mg de flavonóides/kg MS), monensina sódica (31,8 mg/kg MS) e controle, respectivamente, não observou efeito dos tratamentos sobre ganho de peso, consumo de matéria seca e conversão alimentar.

Simioni (2011), utilizando cinco bovinos castrados, com peso corporal médio 295,00 kg, fistulados no rúmen. Os animais foram distribuídos em Quadrado Latino (5x5), recebendo uma dieta, restrita a 2,1% do peso corporal, composta por 47% de silagem de milho e 53% de concentrado, e acrescidas com monensina sódica, produto à base de própolis, com diferentes níveis de flavonóides, LLOS B1+ (34,74 mg/dia/animal), LLOS C1+ (30,18 mg/dia/animal) e LLOS C1++ (45,27 mg/dia/animal) e não verificaram semelhança entre os produtos e a monensina.

Zawadzki et al. (2011) observaram que a adição de produto à base de própolis aumentou o ganho em peso e melhorou a eficiência alimentar, em 20%, em bovinos Nelore terminados em confinamento e alimentados com uma dieta com 50% de volumoso (silagem de milho) e 50% de concentrado.

Em teste com os produtos a base de própolis (LLOS) e lasalocida, Pontara et al. (2011) observaram que não houve efeito da substituição do ionóforo pelos diferentes produtos à base de própolis sobre o desempenho, conversão alimentar e digestibilidade

das rações, sugerindo que os produtos à base de própolis podem substituir o uso de lasalocida sódica em bezerras.

5. Uso do resíduo da extração da própolis

Santos et al. (2003) avaliaram o resíduo da extração da própolis sobre o desempenho de frangos de corte e concluíram que a adição de 2,86% de resíduo da extração da própolis aumentou o ganho de peso na fase de 1 a 21 dias e reduziu, com piora na conversão alimentar na fase de 21 a 42 dias.

Heimbach et al. (2009) testando o efeito antimicrobiano do resíduo da extração das própolis verde e marrom sobre a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) observaram efetividade sobre *Escherichia coli*, enquanto que o resíduo do extrato de própolis verde, recebendo 0,5g, concentração afetou o crescimento de *Staphylococcus aureus*.

Há inúmeros estudos avaliando os efeitos do extrato alcóolico da própolis como forma de aditivos para ruminantes, no entanto, o elevado valor do álcool de cereais pode inviabilizar a utilização (Ítavo et al. 2008), então, torna-se importante o estudo acerca das possibilidades de uso do resíduo da extração de própolis.

Devido à escassez de estudos científicos sobre a caracterização da composição química ou utilização do resíduo de própolis na alimentação animal, a busca por uma aplicabilidade desse resíduo se torna importante.

Nesse contexto a realização do presente trabalho, apoiado pela FUNDECT, processo N° 15725.291.1716.2511.2009, teve como objetivo caracterizar quimicamente o resíduo da extração de própolis marrom e identificar os efeitos da sua adição na dieta de ovinos fistulados. Os resultados obtidos foram abordados nos artigos denominados “Efeito do resíduo de extração da própolis sobre comportamento ingestivo, digestibilidade aparente e parâmetros ruminais de ovinos”, “Efeito do resíduo da extração de própolis marrom sobre a produção de gás e degradação *in vitro*”, redigidos de acordo com as normas editoriais do periódico Revista Brasileira de Zootecnia.

REFERÊNCIAS

- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana / antioxidante**. 2005, 186 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR..
- Araújo, J.S; Mesquita, E.E;Tszuzuki, N; Oliveira, V M. et al. Avaliação da monensina sódica no desempenho de cordeiros suplementados a pasto. **Asociación Latino americana de Producción Animal**. v.15, n.3, p.100-106, 2007.
- Baker, S.K.Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research** (1999).v.50, n.8, p.1293-1298
- Berchielli, T. T., Pires, A.A. e Oliveira, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Ed. FAPESP. Jaboticabal, SP, 2006.
- BRASIL. Instrução normativa SDA nº 3, de 19 de janeiro de 2001, aprova os **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis**.
- BROUDISCOU, L. P.; PAPON, Y.; BROUDISCOU, A. F. Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.87, n.3-4, p.263-277, 2000.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis.**Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-363, 1998.
- CABRAL, M.M. et al. Efeito de diferentes níveis de salinomicina sobre o desempenho e funções enzimáticas de ovinos em regime de confinamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n. 4, p.968-972, 1999.
- DANIEL, F. W. Digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com silagem de milho e doses do crescentes do produto à base de própolis lloscl. 2011.47 f. Disertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR.
- GHISALBERTI, E.L. Própolis: a review. **Bee World**, v.60, 1979. p.59-84.
- GONSALES, G.Z.; ORSI, R.O.; FERNANDES JÚNIOR, A. et al. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.12, n.2, p.276-284, 2006.
- Haddad, S.G.; Goussous, S.N. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.118, 343-348, 2005.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, v.32, n.7, p.1141-1148, 1983.
- HEIMBACH, N.S.; ÍTAVO, C.C.B.F.; LEAL, C.R.B. et al. Efeito antimicrobiano do resíduo da extração de própolis In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA – ZOOTEC 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Associação Brasileira dos Zootecnistas, 2009. (CD-ROOM).
- ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAIS, M.G.; COSTA, C. et al. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**, v.165, 161–166, 2011.
- Ítavo, C.C.B.F.;Brumatti, B.C; Moraes; M.G; Ítavo, L.C.V. Avaliação econômica do uso de própolis verde, própolis marrom e monensina sódica na dieta de cordeiros na fase de terminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA – ZOOTEC 2008, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Associação Brasileira dos Zootecnistas, 2008. (CD-ROOM).

- LANA, R. P.; CAMARDELLI, M. M. L.; QUEIROZ, A. C. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.650-658, 2005.
- LEOPOLDINO, W.M. **Efeito da monensina, lasalocida, própolis, acidez e lipídios sobre a perda de potássio e fermentação de populações de bactérias do rúmen**. 2004. 54f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG.
- LONGHINI, R.L.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.388-395, 2007.
- MENEZES, H. Própolis: Uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivo Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.405-411, 2005.
- MIRZOEVA, O.K.; GRISHANIN, R.N.; CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, n.3, p.239-246, 1997.
- MONTPIED, P.; DE BOCK, F.; RONDOUIN, G. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Molecular Brain Research**, v.115, n.2, p.111-120, 2003.
- NAGAJARA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P. N.; Stewart, C. S. (eds). **The Rumen Microbial Ecosystem**. Blackie Academy and Professional, London, p.523-632, 1997.
- NAGAJARA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied Environmental Microbiology**, v.53, p.1620-1625, 1987.
- OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; EIFERT, E.C. et al. Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.643-651, 2007.
- PARK, Y.K.; HOO, M.H.; ABREU, J.A.S. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current Microbiology**, v.36, p.24-28, 1998a.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, p.313-318, 1998b.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P.P. et al. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dietas à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1336-1345, 2010.
- PONTARA L.P.; ZEOULA, L.M.; FRANCO, S.L; et al Recentes avanços no uso da própolis para nutrição animal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA – ZOOTECH 2011, Maceió: **Anais...Alagoas: Associação Brasileira dos Zootecnistas**, 2011. (CD-ROOM).
- RICKE, S.C.; BERGER, L.L.; Van der HAAR, P.J. et al. Effects of lasalocid and monensin on nutrient digestion, metabolism and rumen characteristics of sheep. **Journal of Animal Science**, v.58, n.1, p.194-202, 1984.
- RUSSELL, J.B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca, New York, p. 119, 2002.
- RUSSELL, J.B. A proposed model of monensin action in inhibiting ruminal bacteria growth: effects on ion flux and proton motive force. **Journal of Animal Science**, v.64, p.1519-1525, 1987.
- RUSSELL, J.B., STROBEL, H.J. Minireview. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, p.1-6, 1989.

- SANTOS, A. V. et al.. Valor nutritivo do resíduo de própolis para frango de corte. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 27, n. 5, p. 1152 - 1159, 2003
- SILVA, J.A. **Própolis marron como aditivo na alimentação de ovinos em confinamento**. 2011. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande/MS.
- SIMIONI, F. L. **Própolis como aditivo alimentar para bovinos de corte**. 2011. 97f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/Pr.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIRÓZ, A.C.; LANA, R. P. et al. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1093-1099, 2004b.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIRÓZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004a.
- Trouillas, P., Fagne`re, C., Lazzaroni, R., Calliste, C. A. et al.. A theoretical study of the conformational behavior and electronic structure of taxifolin correlated with the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry*, v. 88, 571–582, 2004
- VALERO, M.V. **Monensina ou própolis na dieta de bovinos mestiços terminados em confinamento: desempenho, digestibilidade, produção microbiana, características da carcaça e do músculo *longissimus***. 2010. 77f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR.
- VARGAS, A.C. de; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.159-163, 2004.
- ZAWADZKI, F; PRADO, I.N; MARQUES, J.A, et al. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Sciences**, 20, 16–25, 2011.

EFEITO DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DE PRÓPOLIS MARROM SOBRE O COMPORTAMENTO INGESTIVO, PARAMETROS RUMINAIS E DIGESTIBILIDADE EM BORREGOS FISTULADOS.

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito do inclusão do resíduo da extração alcoólica da própolis em dieta a base de feno e concentrado, sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros ruminais e comportamento ingestivos de borregos. Foram utilizados quatro borregos cruzados texel, canulados no rúmen, castrado, com peso médio de 29,5 kg, contemporâneos e mesmo plantel. Foi utilizado como volumoso o feno moído de capim-Tifton (*Cynodon* spp.), na relação volumoso:concentrado de 40:60, com base na matéria seca. Os animais foram submetidos a três tratamentos, sendo a dieta controle (sem resíduo de própolis), com acréscimo de 5g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP5) proporcionava 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta e 0,021 mg de fenóis totais/kg MS da dieta e a dieta com 10 g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP10) continha 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta e 0,041 mg de fenóis totais/kg MS da dieta. O RP10 teve um maior consumo de matéria seca (921,88g) em relação ao controle (795,07g), além de proporcionar melhor digestibilidade para FDA (0,5399), RP5 (0,4264) e controle (0,4543). A produção de nitrogênio amoniacal e pH afetada em função do tempo. O RP10 pode ser viável, no entanto, necessita de mais estudos.

Palavras-chave: confinamento, compostos fenólicos, ionóforo, nitrogênio amoniacal

EFFECT OF RESIDUE OF BROWN PROPOLIS EXTRACTION ON THE INGESTIVE BEHAVIOR, RUMEN AND DIGESTIBILITY PARAMETERS IN FISTULATED LAMBS.

ABSTRACT: It was aimed to evaluate the effect of the inclusion of alcoholic extraction residue of propolis in the base diet of hay and concentrate on the nutrient intake and digestibility, ruminal parameters and ingestivos behavior of lambs. Four cross-texel lambs were used, in the rumen cannulated, neutered, with an average weight of 29.5 kg, contemporaries and even squad. Was used as bulky hay ground-Tifton grass (*Cynodon spp.*), bulky: concentrate ratio is between 40:60, on dry matter basis. The animals were subjected to three treatments, being the control diet (no residue of propolis), with addition of 5 g of propolis extraction residue diet kg DM (RP5) provided 0.031 mg of flavonoids/kg DM diet and 0.021 mg of phenols totais/kg DM diet and the diet with 10 g of propolis extraction residue diet kg DM (RP10) contained 0, 061mg of flavonoids/kg DM diet and 0.041 mg of phenols totais/kg DM diet. The RP10 had a higher consumption of dry matter (921, 88 g) compared to the control (795, 07 g), in addition to providing better digestibility to ADF (0.5399), RP5 (0.4264) and control (0.4543). The production of ammonia and nitrogen affected pH as a function of time. The RP10 can be viable, however, requires further studies.

Keywords: feedlot, phenolic compounds, ionophore, ammoniacal nitrogen

Introdução

O metano é produzido pelos ruminantes durante o processo de fermentação, podendo representar uma perda em até 12% da energia bruta do alimento (Baker, 1999). Estudos na área de nutrição animal mostraram que a intensidade na emissão de metano proveniente da fermentação ruminal devido a dieta ou conforme a manipulação da microflora ruminal (Berchielli et al., 2006).

Os aditivos tem sido utilizados para otimizar a produção animal. No caso dos ruminantes, o objetivo é melhorar o desempenho, evitar distúrbios metabólicos, e reduzir a poluição ambiental, por meio da diminuição de perdas por amônia e metano. Esses objetivos podem ser alcançados pela manipulação da fermentação ruminal, onde o processo de otimização ocorre em função da alimentação e do uso de compostos químicos para modificação da fermentação ruminal (Zeoula et al., 2008).

Própolis é o produto oriundo de substâncias colhidas pelas abelhas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto (Brasil, 2001). Já foram identificados mais de 300 compostos químicos na própolis, entre eles flavonóides, ácidos graxos, ácidos aromáticos, entre outros (Pereira et al., 2002). O maior grupo é dos flavonóides (flavonas, flavonóis, flavononas, dihidroflavonóis), os quais são descritos como principais responsáveis pela atividade antimicrobiana (Havsteen, 1983).

Várias propriedades têm sido atribuídas à própolis, como atividade antimicrobiana (Gonsales et al., 2006), antifúngica (Longhini et al., 2007), antiinflamatória (Montpied et al., 2003), dentre outras. Por tal motivo, tem sido ampla a utilização do extrato na indústria farmacêutica e alimentícia como um alimento funcional.

Stradiotti Jr. et al. (2004) estudaram a ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos, pela técnica de produção de gases, e apontaram que a própolis foi eficiente em inibir a produção de gases *in vitro* pelos microrganismos ruminais, com aumento da taxa de digestão específica de carboidratos.

Em cabras leiteiras, Lana et al. (2005) avaliaram a inclusão de óleo de soja e extrato etanólico de própolis no concentrado utilizado na alimentação de cabras e não relataram interferência do extrato de própolis sobre consumo, digestibilidade, produção e composição de leite, assim como nos parâmetros de fermentação ruminal.

Heimbach et al. (2009), em estudos preliminares, verificaram efetividade dos resíduos da extração hidro-alcoólica de própolis verde e marrom na limitação do crescimento de *Escherichia coli*, sendo que altas concentrações do resíduo do extrato de própolis verde foram efetivas na inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*.

Devido à escassez de estudos científicos sobre a caracterização da composição química ou utilização do resíduo de própolis na alimentação animal, objetivou-se avaliar o efeito do resíduo da extração da própolis marrom na dieta de ovinos canulados sobre o comportamento ingestivos, parâmetros ruminais e digestibilidade de nutrientes.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em Campo Grande – MS. Foram utilizados quatro borregos cruzados Texel de doze meses de idade, canulados no rúmen, castrado, com peso médio de 29,5 kg, contemporâneos e de mesmo plantel. Os animais foram alojados em galpão coberto provido de baias individuais de 3m², com piso ripado, providas de comedouro e bebedouro, com acesso irrestrito à água e mistura mineral.

A alimentação foi fornecida e corrigida diariamente em dois períodos às 8h00, quando recebiam 60% da dieta do dia, e às 16h00, 40% da dieta do dia, na forma de ração total, com ajuste do fornecido para obtenção de sobras de aproximadamente 10%, caracterizando fornecimento *ad libitum*.

O volumoso utilizado foi o feno moído de capim-Tifton (*Cynodon* spp.), na relação volumoso:concentrado de 40:60, com base na matéria seca. A composição do concentrado e feno encontra-se na Tabela 1. O concentrado, à base de farelo de soja e fubá de milho, formulado para atender às exigências nutricionais de cordeiros para um ganho de peso estimado em 200 g/dia, com base no NRC (2007).

Os animais foram submetidos a três tratamentos, sendo eles: sem inclusão de aditivo na dieta, acréscimo de 5g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP5); acréscimo de 10 g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP10), perfazendo níveis crescentes de inclusão.

O período experimental teve duração de 84 dias, divididos em quatro períodos de 21 dias, sendo cada período, constituído por 14 dias de adaptação e sete dias de coleta de amostra e dados. Os animais foram pesados inicialmente e ao final de cada período, após jejum de sólidos por 16 horas, para acompanhamento do peso corporal.

Tabela 1 - Composição química dos alimentos e da ração total misturada

Nutrientes	Volumoso	Concentrado ¹	Ração Total
Matéria Seca - MS (g/kg MN)	886,40	836,40	856,40
Matéria Orgânica (g/kg MS)	927,61	932,30	930,42
Proteína Bruta (g/kg MS)	148,20	244,40	205,90
Fibra em Detergente Neutro g/kg MS	747,75	276,30	464,88
Fibra em Detergente Ácido g/kg MS	401,12	109,60	126,20
Extrato Etéreo g/kg MS	16,90	24,70	22,60
Carboidratos Totais g/kg MS	764,40	663,20	703,70
Carboidratos Não Fibrosos g/kg MS	16,70	386,90	238,80

¹Ingredientes: 517 g/kg MS de fubá de milho, 472 g/kg MS de farelo de soja, 1 g/kg MS de premix mineral

As amostras do fornecido, sobras e fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 96 horas, e trituradas em moinhos com peneira com crivos de 1 mm. As amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e extrato etéreo (EE), segundo metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela equação: $100 - (\%PB + \%EE + \%Matéria\ Mineral)$, enquanto os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela diferença entre CT e FDN (Sniffen et al., 1992). A densidade energética das dietas experimentais, expressa em nutrientes digestíveis totais (NDT) foi determinada segunda fórmula recomendada pelo NRC (2001): $NDT(\%) = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDND$, em que PBD, EED, CNFD e FDND significam: proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não fibrosos digestíveis e fibra em detergente neutro digestível, respectivamente, cujo os coeficientes de digestibilidade foram determinados neste experimento.

O resíduo da extração da própolis marrom foi obtido por meio do processamento da própolis marrom proveniente de pasto apícola de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) e de assa-peixe (*Vernonia polyanthes*). Para obtenção do extrato de própolis, foram utilizados 30 g de própolis marrom bruta triturada em 100 mL de solução etanólica (70 v/v) de álcool de cereais, por um período de 10 dias de extração (Stradiotti Jr. et al., 2004), sendo que após a filtragem obteve-se o resíduo da extração da própolis marrom.

O resíduo da extração da própolis marrom foi analisado quanto aos teores de umidade, matéria mineral, resíduo insolúvel em metanol, cera, resíduo seco (sólidos

solúveis em metanol), flavonóides e fenóis totais (Tabela 2), estes por colorimetria tendo, respectivamente, quercetina e ácido gálico como padrões, de acordo com Funari & Ferro (2006). A administração de 5g de resíduo da extração de própolis/kg MS da dieta (RP5) proporcionava 0,031 mg de flavonóides/kg MS da dieta e 0,021 mg de fenóis totais/kg MS da dieta e a dieta com 10 g de resíduo da extração de própolis/ kg MS da dieta (RP10) continha 0,061mg de flavonóides/kg MS da dieta e 0,042 mg de fenóis totais/kg MS da dieta.

Tabela 2 - Composição química do resíduo da extração da própolis marrom

Item	Resíduo da extração da própolis marrom
Cinzas (g/kg MS)	50,31
Perda por dessecação (g/kg)	163,59
Resíduo insolúvel em metanol (g/kg MS)	887,86
Cera (g/kg MS)	74,27
Resíduo seco-RS (g/kg MS)	17,78
Fenóis totais (mg/g RS)	0,24
Flavonóides totais (mg/g RS)	0,35

Para avaliação da digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de fezes, realizado por meio de bolsas coletoras, diariamente, no período de 5 dias, sendo manualmente retiradas antes da alimentação, homogeneizadas, quantificadas e amostradas em 10% do total excretado. Assim como o material fornecido e as sobras, as fezes amostradas e quantificadas a cada período formaram amostras compostas em cada tratamento, proporcionalmente por animal. As amostras foram devidamente acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e congeladas (-20 °C), para posteriores análises

Para determinação do pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃), o fluido ruminal foi coletado via cânula ruminal, nos tempos zero, 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação da manhã. O pH foi determinado imediatamente após a coleta. Aproximadamente 50 mL foram acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico 1:1 para posterior determinação das concentrações de N-NH₃. A dosagem de amônia nas amostras de líquido ruminal filtrado foi determinada conforme Preston (1995).

As avaliações de comportamento foram realizadas a cada 21 dias, em quatro períodos. A coleta de dados foi realizada em sessões de 24 horas consecutivas, iniciando às oito horas da manhã, com a primeira alimentação dos animais, até oito horas do dia seguinte, com o novo fornecimento, totalizando 96 horas de observação por animal. A coleta de dados quantitativos sobre os padrões básicos de comportamento ingestivo dos

ovinos, foram baseados na amostragem de varredura instantânea ou esquadramento, segundo Altmann (1974) e Martin & Bateson (1993).

As categorias comportamentais utilizadas no estudo são apresentadas na Tabela 3. Como critério preferencial, foi utilizado varredura de 1 minuto com intervalo de 10 minutos, continuamente ao longo de 24 horas, com anotação de hora e atividade do animal em planilha.

Tabela 3 - Categorias básicas de comportamento usadas no presente estudo (Etograma)

Item	Categoria	Descrição
1	Consumo de alimento	Observado no ato de consumo de alimento
2	Ócio	Observado parados, sem outra atividade aparente
3	Ruminação	Observado em ruminação
4	Atividade	Observado em interação com ambiente
5	Ingestão de água	Observado bebendo água

Os dados de consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e comportamento ingestivo foram submetidos a análises de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey, em nível de 10% de significância. Os parâmetros ruminais foram avaliados como parcelas subdivididas (tempo) e o modelo de regressão múltiplas com efeito do tratamento e do tempo.

Resultados e Discussões

Os consumos de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (CFDA), carboidratos totais (CCT) e nutrientes digestíveis totais (CNDT) em gramas por dia (Tabela 4) foi superior para a dieta que recebia 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP10), quando comparado com a dieta controle. No entanto, a dieta com 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) foi semelhante aos demais tratamentos.

O maior consumo de matéria seca e demais nutrientes, em g/dia dos animais que receberam 10 g de resíduo de extração própolis na dieta (Tabela 4) também foi descrito por Ítavo et al. (2011), que verificaram maior consumo médio diário em cordeiros recebendo 15 ml/dia de extrato de própolis verde em comparação aos que recebiam monensina. O aumento no consumo pode ser atribuído à concentração de flavonóides e fenóis remanescentes no resíduo da extração da própolis, compostos estes que por ação antimicrobiana seletiva pode ter propiciado uma melhoria no padrão de fermentação ruminal e digestão do alimento.

Tabela 4 - Médias e erros padrão das médias dos pesos inicial e final e consumos de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (CFDA), carboidratos totais (CCT) e nutriente digestíveis totais (NDT) em gramas por dia (g/dia) e em gramas por quilogramas de peso corporal (g/kg de PV).

	Tratamentos ¹			EPM	P
	Controle	RP5	RP10		
PV inicial	29,12 ^a	28,61 ^a	29,81 ^a	0,47	NS
PV final	31,37 ^a	30,88 ^a	31,76 ^a	0,53	NS
CMS (g/dia)	795,07 ^b	835,42 ^{ab}	921,88 ^a	21,99	0,04296
CMO (g/dia)	740,69 ^b	778,10 ^{ab}	859,98 ^a	20,57	0,04099
CPB (g/dia)	169,65 ^b	179,07 ^{ab}	194,67 ^a	4,80	0,08246
CEE (g/dia)	19,25 ^a	18,95 ^a	20,96 ^a	0,51	0,24832
CFDN (g/dia)	348,21 ^b	364,43 ^{ab}	409,82 ^a	9,73	0,01919
CFDA (g/dia)	155,13 ^b	167,08 ^{ab}	189,61 ^a	5,75	0,03403
CCT (g/dia)	551,79 ^b	580,08 ^{ab}	644,35 ^a	15,39	0,03130
CNDT (g/dia)	580,32 ^b	576,18 ^{ab}	665,14 ^a	15,14	0,02021
Consumo de nutrientes (g/kg PV)					
CMS (g/kgPC)	26,71 ^a	28,26 ^a	30,50 ^a	0,88	0,19161
CMO (g/kgPC)	24,89 ^a	26,32 ^a	28,45 ^a	0,82	0,18584
CPB (g/kgPC)	5,69 ^a	6,06 ^a	6,46 ^a	0,20	0,26672
CEE (g/kgPC)	0,65 ^a	0,65 ^a	0,69 ^a	0,02	0,19581
CFDN (g/kgPC)	11,60 ^a	12,33 ^a	13,57 ^a	0,39	0,12122
CFDA (g/kgPC)	5,22 ^a	5,67 ^a	6,29 ^a	0,23	0,13827
CCT (g/kgPC)	18,54 ^a	19,61 ^a	21,30 ^a	0,61	0,15789
CNDT (g/kgPC)	19,94 ^a	19,73 ^a	20,18 ^a	0,68	0,26527

¹Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,10$). RP5 = 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) ou 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta; RP10= 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta ou 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; CT = Carboidratos Totais; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais

Entretetando, as dietas com inclusão do resíduo de própolis, RP5 e RP10, não promoveram diferenças no consumo dos nutrientes, quando avaliados em g/Kg PC.

Prado et al. (2010) utilizaram quatro búfalos mestiços castrados, canulados no rúmen, submetidos a dietas com relação volumoso:concentrado de 80:20 e acrescido ou não dos aditivos monensina sódica (2g/animal/dia), 0,018 mg de flavonóides (produto a base de própolis LLOSC1) e 0,011 mg flavonóides (produto a base de própolis LLOSB3) e não verificaram efeito para o consumo de nutrientes.

Entretetando, as dietas com inclusão do resíduo de própolis, RP5 e RP10, não promoveram diferenças no consumo dos nutrientes, quando avaliados em g/Kg PC.

Prado et al. (2010) utilizaram quatro búfalos mestiços castrados, canulados no rúmen, submetidos a dietas com relação volumoso:concentrado de 80:20 e acrescido ou não dos aditivos monensina sódica (2g/animal/dia), 0,018 mg de flavonóides (produto a base de própolis LLOSC1) e 0,011 mg flavonóides (produto a base de própolis LLOSB3) e não verificaram efeito para o consumo de nutrientes.

Também Daniel (2011), não encontrou diferença significativa para o consumo de matéria seca por bovinos mestiços castrados, canulados no rúmen, submetidos a uma dieta restrita em 2% do peso corporal (60% de silagem de milho e 40% de concentrado) acrescida de produto à base de própolis (LLOSC1 ou 15,09 mg de flavonóides/animal/dia, LLOSC1+ ou 30,18 mg de flavonóides/animal/dia, o LLOSC1++ ou 45,27 mg de flavonóides /animal/dia e o LLOSC1+++ ou 60,36 mg de flavonóides /animal/dia).

Valero (2010), trabalhando com bovinos confinados recebendo dieta com relação volumoso:concentrado de 50:50, com a adição de 250 mg de monensina/animal/dia ou 35 mg de flavonóides/animal/dia do produto a base de própolis (0,036 mg de flavonóide/g do produto), observou que presença do extrato de própolis acarretou a diminuição do CMS e melhora na eficiência alimentar, em relação dieta controle.

Silva (2011), utilizando borregos com sete meses, peso médio inicial de 24,36 kg, submetidos ou não ao uso de aditivos alimentares própolis marrom bruta (0,142 mg de flavonóides/kg MS) ou em extrato (17,88 mg de flavonoídes/kg MS), monensina sódica (31,8 mg/kg MS) não observou efeito dos tratamentos sobre consumo de matéria seca.

Em relação à digestibilidade aparente dos nutrientes, (Tabela 5), RP10 mostrou - se maiores, em relação ao RP5, digestibilidade de matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB) e fibra em detergente neutro (DFDN), mas não foi significativo para a dieta controle. A digestibilidade da fibra em detergente ácido (DFDA) foi superior para o RP10 em relação aos demais tratamentos, sendo que a maior digestão da fração fibrosa do alimento reduz a limitação física de consumo, o que também pode ter contribuído com o aumento na ingestão de nutrientes pelos animais.

A maior digestibilidade do extrato etéreo foi obtida na dieta controle. A menor digestibilidade do EE nos tratamentos RP5 e RP10, pode estar associado a presença da

cera no resíduo que é rico em n-alcanos de cadeia longa, comprimento das cadeias varia de 21 a 37 carbonos. N-alcanos com mais de 33-35 carbonos apresentam baixa digestibilidade e são recuperáveis nas fezes, podendo ser utilizado como indicadores de consumo e digestibilidade.

Tabela 5 – Médias e erros padrão das médias dos coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína (DPB), extrato etéreo (DEE), fibra em detergente neutro (DFDN), fibra em detergente ácido (DFDA), carboidratos totais (DCT) e nutriente digestíveis totais (NDT), em função dos tratamentos.

	Tratamentos ¹			EPM	P
	Controle	RP5 ²	RP10 ³		
DMS	0,7755ab	0,7591b	0,7881 ^a	0,53	0,09277
DMO	0,7740ab	0,7443b	0,7784 ^a	0,66	0,08609
DPB	0,7550 ^a	0,7159b	0,7693 ^a	0,68	0,00444
DEE	0,6530 ^a	0,4534b	0,4550b	2,76	0,00153
DFDN	0,6578 ^a	0,6128b	0,6892 ^a	0,91	0,00244
DFDA	0,4543b	0,4264b	0,5399 ^a	1,51	0,00452
DCT	0,7659 ^a	0,7426 ^a	0,7752 ^a	0,72	Ns
DNDT	0,7284 ^a	0,6928b	0,7276 ^a	0,70	0,07177

¹Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo Teste Tukey ($p < 0,10$). ²RP5 = 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) ou 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta; ³RP10= 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta ou 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta.

MAYES *et al.* (1988) avaliaram ovinos com cânulas no rúmen e tipo "T" no duodeno e íleo terminal, para estudar a digestão e metabolismo de n-alcanos naturais da dieta e sintéticos fornecidos (C28, C32 e C36). Eles encontraram pouco desaparecimento dos alcanos da dieta no rúmen, ceco e cólon, ocorrendo apenas no intestino delgado.

Simioni (2011), utilizou cinco bovinos castrados, com peso corporal médio 295 kg, canulados no rúmen, submetidos a uma dieta composta por 47% de silagem de milho e 53% de concentrado, acrescida de aditivos alimentares: monensina sódica e produtos à base de própolis, com diferentes níveis de flavonoides: LLOS B1+ (34,74 mg/dia/animal), LLOS C1+ (30,18 mg/dia/animal) e LLOS C1++ (45,27 mg/dia/animal) e constatou que somente a monensina apresentou maiores digestibilidade da MS, MO e EE, em relação a dieta com 34,74 mg de flavonóides/dia/animal, e PB, em relação a dieta com 30,18 mg de flavonóides/dia/animal.

Zawadzki *et al.* (2011) observaram em bovinos nelore terminados em confinamento e alimentados com uma dieta com 50% de volumoso (silagem de milho) e

50% de concentrado, que a adição 35 gramas do produto à base de própolis contendo 0,054 mg de flavonóides/g aumentou a digestibilidade, além de promover maior ganho de peso e eficiência alimentar, com diferencial de 20% sobre a dieta controle e monensina.

Em relação aos parâmetros ruminais, (Tabela 6), os animais submetidos ao RP10 apresentou pH mais elevado (6,52), em relação ao controle (6,3) e RP5 (6,26), antes da alimentação. Para os demais tempos de coleta não houve efeito entre os tratamentos.

Tabela 6 – Médias e erros padrão das médias do Nitrogênio Amoniacal (mg/100 mL de líquido ruminal) e pH do líquido ruminal de ovinos fistulados, em função do tempo de amostragem e dos tratamentos

Tempo de amostragem (horas)	Tratamentos [#]			EPM	P
	Controle	RP5	RP10		
Nitrogênio amoniacal (mg/100 mL de líquido ruminal)					
0	19,17	18,64	16,85	0,98	NS
2	36,45	37,61	35,22	1,30	NS
4	27,75	23,87	21,88	1,56	NS
6	15,20	15,29	14,33	1,12	NS
8	16,97ab	20,37 ^a	12,47b	1,34	0,00509
P	0,00069	0,00001	0,00001	-	-
ER	1	2	3	-	-
pH do líquido ruminal					
0	6,30 b	6,26 b	6,52 a	0,03	0,00105
2	6,29	6,22	6,29	0,04	NS
4	6,16	6,13	6,03	0,04	NS
6	6,18	6,22	6,13	0,04	NS
8	6,36	6,26	6,23	0,03	NS
P	0,05217	NS	0,00001	-	-
ER	4	5	6	-	-

[#]Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,10$); NS = Não significativo ($p > 0,10$) ¹ RP5 = 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) ou 0,031 mg de flavonóides/kg MS da dieta; RP10= 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta ou 0,061mg de flavonóides/kg MS da dieta

$$^1 Y_{10} = 19,2287 + 18,1396.t - 5,66069.t^2 + 0,419859.t^3 (R^2=0,99)$$

$$^2 Y_{15} = 19,0583 + 18,9051.t - 6,20076.t^2 + 0,483093.t^3 (R^2=0,96)$$

$$^3 Y_{110} = 17,3835 + 16,8759.t - 5,29476.t^2 + 0,389608.t^3 (R^2=0,94)$$

$$^4 Y_{10} = 6,29954 + 0,0271726.t - 0,0257143.t^2 (R^2=0,95)$$

$$^5 Y_{15} = 6,21625 (NS)$$

$$^6 Y_{110} = 6,53496 - 0,185339.t + 0,0185268.t^2 (R^2=0,94)$$

A menor concentração de nitrogênio amoniacal pode ter ocorrido devido a redução da degradação de proteína dietética, aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado, ocorrendo um efeito semelhante a monensina, devido a atuação da própolis nas bactérias *gram* positivas (Mirzoeva et al., 1997 e Vargas et al. 2004), segundo Russel (1997), três espécies de bactérias isoladas utilizam somente aminoácidos como fontes de energia e são sensíveis a monensina,

Clostridium sticklandii, *Peptostreptococcus anaerobicus* e *Clostridium aminophilum* o que segundo esse autor, o fornecimento de monensina causou uma redução de aproximadamente 50% na produção de amônia ruminal, além de reduzir 10 vezes a quantidade de bactérias fermentadoras de aminoácidos.

Stradiotti Jr. et al (2004) avaliaram a ação da própolis na fermentação ruminal em bovinos e não observaram diferença para os valores de pH e nitrogênio amoniacal. Também, (Prado et al., 2010) não observaram diferenças no pH ruminal e nitrogênio amoniacal de bubalinos submetidos a dietas com base em forragem com a adição do produto LLOSC1 e monensina, em relação a dieta controle.

Verifica-se que os resultados obtidos relacionados ao comportamento não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 7), o tempo de ruminação está altamente correlacionado ao consumo de FDN, sendo o mesmo para todos os tratamentos.

Tabela 7. Médias de tempo gasto, em minutos, por atividade comportamental de ovinos confinados em função dos tratamentos.

	Controle	RP5	RP10	CV(%)	P
Consumo	180,0	200,0	225,0	28,01	NS
Ruminação	317,5	335,0	292,5	29,32	NS
Ócio	647,5	635,0	722,5	15,10	0,27
Hidratação	10,0	12,5	10,0	31,42	NS
Deslocamento	285,0	257,5	190,0	23,95	0,166

P = Probabilidade; CV = Coeficiente de variação; NS = Não significativo; RP5 = 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) ou 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta; RP10= 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta ou 0,061mg de flavonoídes/kg MS da dieta

Os resultados, em função dos tratamentos, demonstraram semelhança entre o padrão de comportamento de cordeiros em confinamento, concordando com Fischer et al. (1997) ovinos confinados, arraçados duas vezes ao dia, apresentam duas refeições principais após o fornecimento da ração, com duração de uma a três horas, além de intervalos variáveis de pequenas refeições. Períodos de ruminação e descanso ocorrem entre as refeições, em que sua duração e padrão de distribuição são influenciados pelas atividades de ingestão.

Conclusões

A inclusão do resíduo da extração da própolis marrom na dosagem de 10g/kg de MS da dieta proporcionou melhor digestibilidade da fibra de detergente ácido.

A concentração de nitrogênio amoniacal e o pH ruminal apresentou valores adequados de modo que não ocorresse redução da digestibilidade da fibra em todos os tratamentos.

Referências

- ALTMANN, J. Observational study of behavior sampling methods. **Behaviour**, v.49, p.227-267, 1974.
- ARAÚJO, J.S.; PEREZ, J.R.O.; PAIVA, P.C.A. et al. Efeito da monensina sódica no consumo de alimentos e pH ruminal em ovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 39-43, 2006.
- BAKER, S.K. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**. Volume: 50, Issue: 8, Pages: 1293-1298, 1999.
- Berchielli, T. T., Pires, A.A. e Oliveira, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Ed. FAPESP. Jaboticabal, SP, 2006.
- Daniel, F. W. **Digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com silagem de milho e doses crescentes do produto à base de própolis llosc1**. 2011. 47f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/Pr.
- FISCHER, V.; DESWYSEN, A.G.; DESPRES, L. et al. Comportamento ingestivo de ovinos recebendo dieta à base de feno durante um período de seis meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.1032-1038, 1997.
- Funari, C.S., Ferro, V.O., 2006. Análises de própolis. *Ciênc.Tecnol. Aliment.*, 26, 1, 171-178.
- GONSALES, G.Z.; ORSI, R.O.; FERNANDES JÚNIOR, A. et al. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.12, n.2, p.276-284, 2006.
- GREENWAY, W.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F.R. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. **Bee World**, v.71, n.3, p.107-118, 1990.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, v.32, n.7, p.1141-1148, 1983.
- HEIMBACH, N.S.; ÍTAVO, C.C.B.F.; LEAL, C.R.B. Efeito antimicrobiano do resíduo da extração de própolis. Congresso Brasileiro de Zootecnia, **Anais...**, Águas de Lindóia, SP: 2009.
- HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. ed. Academic Press, New York, p. 533, 1966.
- ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAIS, M.G.; COSTA, C., et al. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**, v.165, 161–166, 2011.
- LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; QUEIROZ, A.C. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34; n.2, p.650-658, 2005.
- LONGHINI, R.L.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.388-395, 2007.
- MAYES, R.W., LAMB, C.S., COLGROVE, P.M. Digestion and metabolism of dosed even-chain and odd-chain n-alkanes in sheep. In: GEN. MEET. EUR. GRASSL. FED., 12, 1988, Dublin. **Proceedings...** Dublin : Irish Grassland Association, 1988. 527p. p.159-163
- MARTIN, P.; BATESON, R. **Measuring Behaviour**. Cambridge University Press. p. 84-100. 1993.

- MIRZOEVA, O.K.; GRISHANIN, R.N.; CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, n.3, p.239-246, 1997.
- MONTPIED, P.; DE BOCK, F.; RONDOUIN, G. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Molecular Brain Research**, v.115, n.2, p.111-120, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press, 385p. 2007.
- PEREIRA, A.S.; SEIXAS, F.R.M.S.; AQUINO NETO, F.R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v.25, n.2, p.321-326, 2002.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P.P. et al. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dietas à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1336-1345, 2010.
- PRESTON, T.R. **Biological and chemical analytical methods**. In: PRESTON, T.R. Tropical animal feeding: a manual for research workers. Rome: FAO, 1995, p.191-264.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**.3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SILVA, J.A. **Própolis marron como aditivo na alimentação de ovinos em confinamento**. 2011. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal).
- SIMIONI, F. L. **Própolis como aditivo alimentar para bovinos de corte**. 2011. 97f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/Pr.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST J et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. 2. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D., QUEIROZ, A.C., LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.
- VALERO, M.V. **Monensina ou própolis na dieta de bovinos mestiços terminados em confinamento: desempenho, digestibilidade, produção microbiana, características da carcaça e do músculo *longissimus***. 2010. 77f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR.
- ZAWADZKI, F.; PRADO, I.N.; MARQUES, J.A, et al. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Sciences**, 20, 16–25, 2011.
- ZEOULA, L.M.; BELEZE, J.R.F.; GERON, L.J.V. et al. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforos ou probióticos para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.563-571, 2008.
- EFEITO DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO ALCÓOLICA DE PRÓPOLIS MARRON SOBRE A PRODUÇÃO DE GÁS E DEGRADAÇÃO *IN VITRO*.**

RESUMO – Objetivo-se avaliar as produções de gás e taxa de degradação nas diferentes frações. Em dietas com relação volumoso:concentrado 40:60, utilizando dois níveis de resíduo da extração alcóolica da própolis, 5 g de resíduo de própolis/kg de MS (RP5) e 10 g de resíduo de própolis/kg de MS da dieta (RP10) e o tratamento controle, sem adição de aditivo. A mensuração dos gases foi realizada por meio de um sensor de pressão acoplado a um voltímetro, por 48 horas. Com o somatório do volume de gás

para cada tempo de leitura, foram estabelecidas as curvas de produção cumulativa dos gases. A cinética da produção cumulativa dos gases foi analisada empregando-se o modelo logístico bicompartimental, O RP10 se mostrou mais eficiente ($P < 0,05$) para degradação do somatório da fração de rápida e lenta degradação, tendo um total produzido 10,43 ml/100.MS, enquanto que a dieta controle e RP5 tiveram uma produção de 5,88 e 5,97 ml/100 MS, respectivamente, indicando uma menor digestibilidade.

Palavras chaves: cinética, ionóforo, produção de gás

EFFECT OF ALCOHOLIC EXTRACTION RESIDUE OF PROPOLIS ON GAS PRODUCTION AND DEGRADATION *IN VITRO*.

ABSTRACT – It was aimed to evaluate the gas production and rate of degradation in different fractions. In diets bulky: concentrate ratio is between 40:60, on dry matter basis, using two levels of alcoholic extraction residue of propolis, 5 g of propolis DM/kg residue (RP5) and 10 g of propolis DM/kg residue of the diet (RP10) and the control treatment without the addition of the additive. The measurement of gases has been carried out by means of a pressure sensor coupled to a voltmeter, for 48 hours.

With the sum of the volume of gas for each reading time, were established the cumulative gas production curves. The kinetics of cumulative gas production was analyzed using the logistic model bicompartimental, the RP10 proved to be more efficient (P0 .05) for degradation of the sum of the fraction of fast and slow degradation, having a total produced 10.43 ml/100 DM, while the control diet and RP5 had a production of 5.88 ml/100DM and 5.97 ml/100 DM, respectively, indicating a lower digestibility.

Keywords: kinetic, ionophore, gas production

Introdução

A digestão anaeróbia de celulose e outros tipos de fibras por microrganismos ruminais (por exemplo, *Ruminococcus albus*, *succinogenes Fibrobacter*, *Ruminococcus flaudefaciens*) produz ácidos graxos voláteis (AGV), dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), e vestígios de hidrogênio (H₂) (Schofield et al. 1994). *In vivo* e *in vitro*, o AGV reage com tampão de bicarbonato para liberar CO₂ para que a produção de gás ocorra

simultaneamente e em conjunto com a digestão de fibras. Portanto, a medição da evolução de gás *in vitro* pode fornecer informações quantitativas sobre a taxa e a extensão da digestão da celulose (Schofield et al. 1995). Um complicador para descrever matematicamente a digestão de fibra é que as fibras naturais são na verdade uma mistura de componentes, como a fibra de detergente neutro, que inclui hemicelulose, celulose e lignina, e esses componentes são degradados em taxas diferentes (Goering & Van Soest, 1970). As quantidades relativas de componentes de fibra variam entre os alimentos (Van Soest, 1982),

A técnica de produção de gás se baseia na suposição de que a produção de AGV, que gera aproximadamente 50% do gás observado (Beuvink & Spoelstra, 1992), não é substancialmente alterada por diferenças no substrato (entre um conjunto de forragem e seu componente FDN).

Testando esta hipótese Nocek & Tamminga (1991) analisaram perfis de AGV no final de cada execução da produção de gás, por meio da relação acetato e propionato. Os autores encontraram mais propionato, e, portanto, menor relação acetato propionato no fluido ruminal de vacas alimentadas com uma dieta rica em grãos. Mais propionato está associado a menor produção de gás, uma vez que o átomo de carbono extra do propionato diminui carbono para formação de CO₂ (Schofield et al. 1994), e por isso deve se atentar para mudanças metabólicas com a utilização de métodos de gás. Entretanto, estudos mostram que o volume de gás produzido pela digestão da FDN é linearmente relacionada com a massa de fibra digerido, uma vez que Pell e Schofield (1993), verificaram que o volume de gás produzido foi 0,37 mL para cada 1,0 mg de fibra digerido (Pell e Schofield, 1993) oriundo da alfafa e milho, assim como para alfafa (maturidade diferentes) e capim-colonião e encontrou um valor semelhante de 0,39 ml / mg ($r^2 = 0,97$, $n = 24$). Alguns aditivos tem sido utilizados na nutrição de ruminantes afim de manipular a fermentação ruminal, onde o processo de otimização ocorre em função da alimentação e do uso de compostos químicos para modificação da fermentação ruminal (Zeoula et al., 2008), objetivando melhora do desempenho, evitar distúrbios metabólicos, e reduzir a poluição ambiental, por meio da diminuição de perdas por amônia e metano.

Objetivou se avaliar o efeito da adição de resíduos da extração de própolis marrom na dieta sobre a produção de gás e taxa de degradação das diferentes frações da dieta.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), no laboratório de Biotecnologia Aplicada a Nutrição Animal, em Campo Grande/MS

O volumoso utilizado foi capim-tifton 85 (*Cynodon*spp.) e o concentrado à base de farelo de soja e milho moído, na relação volumoso:concentrado de 40:60, com base na matéria seca (MS). Os diferentes tratamentos foram controle, dieta sem aditivo; adição de 5 g de resíduo da extração da própolis marrom/kg MS da dieta (RP5) e adição de 10 g de resíduo da extração da própolis marrom/kg MS da dieta (RP10).

As amostras das dietas foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 96 horas, e trituradas em moinhos com peneira com crivo de 1mm. As amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e extrato etéreo (EE), segundo metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela equação: $100 - (\%PB + \%EE + \%Matéria\ Mineral)$, enquanto os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela diferença entre CT e FDN (Sniffenet al., 1992).

Tabela 3 - Composição química dos alimentos e da ração total misturada

Nutrientes	Volumoso	Concentrado ¹	Ração Total
Matéria Seca - MS (g/kg MN)	886,40	836,40	856,40
Matéria Orgânica (g/kg MS)	927,61	932,30	930,42
Proteína Bruta (g/kg MS)	148,20	244,40	205,90
Fibra em Detergente Neutro g/kg MS	747,75	276,30	464,88
Fibra em Detergente Ácido g/kg MS	401,12	109,60	126,20
Extrato Etéreo g/kg MS	16,90	24,70	22,60
Carboidratos Totais g/kg MS	764,40	663,20	703,70
Carboidratos Não Fibrosos g/kg MS	16,70	386,90	238,80

¹Ingredientes: 517 g/kg MS de fubá de milho, 472 g/kg MS de farelo de soja, 1 g/kg MS de premix mineral

O resíduo da extração da própolis marrom foi analisado quanto aos teores de umidade, matéria mineral, resíduo insolúvel em metanol, cera, resíduo seco (sólidos solúveis em metanol), flavonóides e fenóis totais (Tabela 2), estes por colorimetria tendo, respectivamente, quercetina e ácido gálico como padrões, de acordo com Funari & Ferro (2006). A administração de 5g de resíduo da extração de própolis/kg MS da dieta (RP5) proporcionava 0,031 mg de flavonóides/kg MS da dieta e 0,021 mg de fenóis totais/kg MS da dieta e a dieta com 10 g de resíduo da extração de própolis/ kg

MS da dieta (RP10) continha 0,061mg de flavonóides/kg MS da dieta e 0,042 mg de fenóis totais/kg MS da dieta.

Tabela 4 - Composição química do resíduo da extração da própolis marrom

Ítem	Resíduo da extração da própolis marrom
Cinzas (g/kg MS)	50,31
Perda por dessecação (g/kg)	163,59
Resíduo insolúvel em metanol (g/kg MS)	887,86
Cera (g/kg MS)	74,27
Resíduo seco (g/kg MS)	17,78
Fenóis totais (mg/g MS)	0,24
Flavonóides totais (mg/g MS)	0,35

O preparo das amostras para as incubações *in vitro*, pela técnica de produção de gases, foi realizado segundo metodologia descrita por Adesoganet al. 2005, em frascos de vidro com capacidade de 50 ml, onde foram pesados aproximadamente 100mg de substrato. Aos frascos foram adicionados 8ml de tampão, previamente reduzido com CO₂ (pH 6,9-7,0) e 2ml de inóculo de um bovino fistulado no rúmen, filtrado em camada dupla de gaze sob aspersão de CO₂. Imediatamente após, os frascos foram vedados com tampa de borracha e lacre de alumínio e mantidos em mesa de agitação orbital a 39°C, em sala climatizada. A mensuração dos gases foi realizada por meio de um sensor de pressão acoplado a um voltímetro, por 48horas. Com o somatório do volume de gás para cada tempo de leitura, foram estabelecidas as curvas de produção cumulativa dos gases. A cinética da produção cumulativa dos gases foi analisada empregando-se o modelo logístico bicompartimental, proposto por Pell&Schofield (1993):

$$y = A / \{1 + \text{EXP} [2 + 4 * B * (C - T)]\} + D / \{1 + \text{EXP} [2 + 4 * E * (C - T)]\}$$

Em que: y = Volume total de gás no tempo T (extensão da degradação); A e D = volume de gás (ml) das frações de degradação de rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose, hemicelulose), respectivamente; B e E = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta (/h), respectivamente; e C = tempo de colonização das bactérias (h).

Os parâmetros de cinética da digestão dos alimentos, em função dos níveis de resíduo foram analisados sob a forma de coeficiente de variação (CV%) em duplicatas por amostras. O delineamento experimental utilizado para comparar os parâmetros da

cinética da digestão foi o inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Resultados e discussão

Nas dietas controle e RP5 apresentaram menores volumes de gás produzido da fração de degradação rápida (Tabela 3) 2,07ml e 2,13ml respectivamente, indicando uma menor digestibilidade, na fração de rápida degradação, ao passo que as dietas RP10 obtiveram um maior volume de gás (3,26 ml) na fração de rápida degradação.

Tabela 3 – Médias e erros padrão das médias dos parâmetros da produção cumulativa de gases (ml/100 mg de MS) em 48 horas de incubação *in vitro*, em função dos tratamentos

Parâmetros	Tratamentos ¹			EPM	P
	Controle	Própolis 5 g/dia	Própolis 10 g/dia		
A	2,07b	2,13b	3,26 ^a	0,17	0,00001
B	0,30 ^a	0,28 ^a	0,24 ^a	0,02	0,09439
C	6,97 ^a	6,77 ^a	7,63 ^a	0,42	0,34283
D	3,81b	3,84b	7,08 ^a	0,46	0,00001
E	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04 ^a	0,003	0,11478
TOTAL	5,88b	5,97b	10,34 ^a	0,67	0,00001
R ²	0,99	0,99	0,99	-	-

[#] Dieta controle = Feno + Concentrado (60:40), ¹ Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05), A= Fração de rápida degradação; B= Taxa de degradação da fração A; C = Tempo (horas) gasto para início da fermentação microbiana *Lag-time*; D= Fração de degradação lenta; E= Taxa de degradação da fração D; RP5 = 5g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP5) ou 0,031 mg de flavonoides/kg MS da dieta; ³RP10= 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta ou 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta.

A maior concentração de flavonóides pode ter favorecido o crescimento microbiano de bactérias fermentadoras de carboidratos não fibrosos, fazendo com que tivesse uma maior degradação da fração rápida.

O volume de gás produzido pela digestão da FDN é linearmente relacionada com a massa de fibra digerida (Pell e Schofield, 1993). A maior ou menor digestibilidade pode estar relacionada com a característica fermentativa das bactérias, onde a maior digestibilidade pode estar associado a uma maior população de bactérias fermentadoras de carboidratos não fibrosos e a menor digestibilidade com bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos. (Kozloski, 2009).

A taxa de degradação não variou entre os tratamentos, pois a susceptibilidade dos diferentes carboidratos à degradação microbiana depende das características físico-química dos alimentos ou dos fatores que limitam o acesso das enzimas bacterianas ao substrato (Kozloski, 2009).

Stradiotti Jr et al (2004), avaliando a ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* do feno de *Brachiaria* pela técnica de produção de gases verificaram que o uso do extrato de própolis favoreceu maior taxa de degradação da fração de rápida digestão, em relação a dieta sem a presença de extrato de própolis.

O tempo de colonização, *lag-time*, dos microrganismos ruminais para o início de fermentação não foi influenciado pelos diferentes níveis de flavonoides em relação a dieta controle.

A dieta com RP10 apresentou maior digestibilidade da fração de degradação lenta, assim como no total de 48 horas foi observada com a inclusão do RP10 (Tabela 3), pode estar relacionado a atividade antimicrobiana, assim como o volume de gás produzido oriundo da fração de degradação lenta (celulose e hemicelulose). Possivelmente, a inclusão de resíduo de própolis marrom tenha favorecido a população de bactérias celulolíticas, responsáveis pela degradação.

Concordando com Sapaterra (2012), que trabalhou com ovinos fistulados e diferentes níveis de resíduo de extração da própolis na dieta como fonte de flavonóides sendo 0,061 mg de flavonóides/kg MS da dieta e 0,031 mg de flavonóides/kg MS da dieta, observou maior digestibilidade de MS (78,81) para o tratamento com o maior nível de flavonóide.

Heimbach et al. (2009) que verificaram efetividade dos resíduos da extração de própolis verde e marrom na limitação do crescimento de *Escherichia coli* (gram negativa), sendo que altas concentrações do resíduo do extrato de própolis verde foram efetivas na inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* (gram positiva).

Assim como Vargas et al. (2004) observaram atividade antibacteriana da própolis em solução alcóolica a 50% em isolados de 81 bactérias *gram* positivas e 80 *gram* negativas demonstrando maior sensibilidade dos isolados *gram* positivos (92,6%) do que *gram* negativos (42,5%) avaliados. O extrato de própolis possui atividade antibacteriana especialmente contra bactérias *gram*-positivas (Mirzoeva et al., 1997). Esta atividade é relatada devido à presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres presentes na resina (Burdock, 1998), as quais continuam, apesar de em menor quantidade, no resíduo da extração de própolis marrom.

Na figura 1, nota se que após o período de colonização para os tratamentos controle (6,97 h), RP5 (6,77 h) e RP10 (7,63 h) o aumento da produção de gás ocorre em escala exponencial, a estabilização para as dietas controle e RP5, 35 horas após a

incubação, e para RP10, após 39 horas, caracterizando uma maior produção de gás que está relacionado a maior fermentação da dieta (Tabela 3).

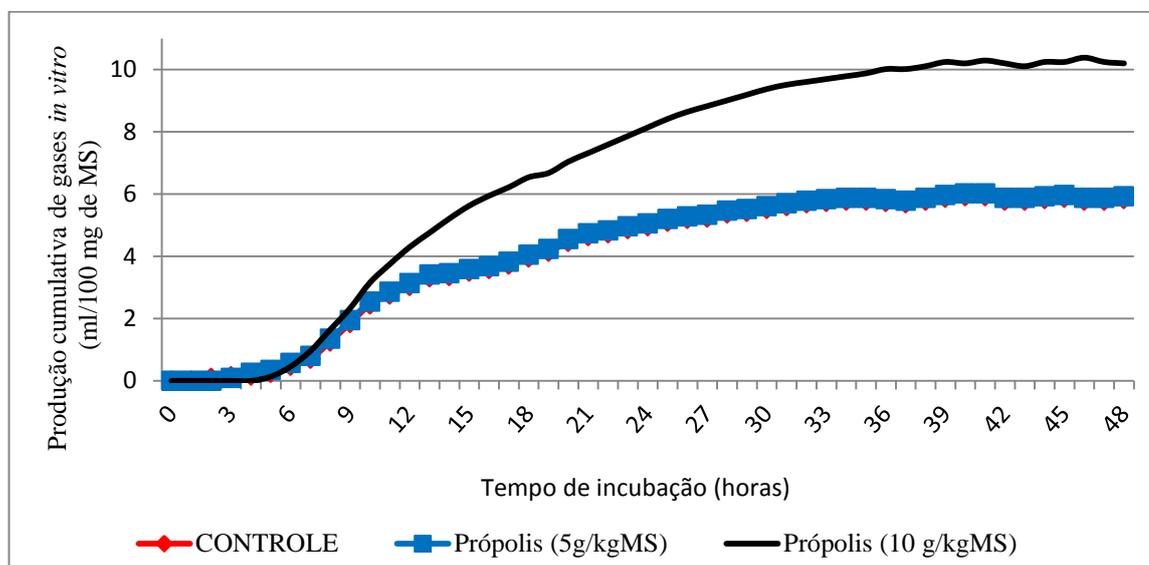


Figura 1 – Produção Cumulativa de Gás (ml/100 mg de MS) em 48 horas de incubação *in vitro*

Conclusão

A adição do resíduo da extração de própolis, em 10 g/kg de matéria seca da dieta, aumentou a produção de gás e a digestibilidade de dietas com relação volumoso: concentrado de 40:60.

Embora as medições de gases *in vitro* podem fornecer informações valiosas sobre a cinética de digestão de alimentos em ruminantes. Os dados de gás são mais difíceis de interpretar o desaparecimento de fibra em detergente neutro porque o gás é gerado a partir de uma ampla gama de substratos, incluindo os componentes solúveis e fibras, devendo então evitar generalizar os resultados.

Referências

- Adesogan, A.T; Krueger, N.K; Kim, S.C.A novel, wireless, automated system for measuring fermentation gas production kinetics of feeds and its application to feed characterization. **Animal Feed Science and Technology** , 2005, 123–124, 211–223
- Beuvink, J.M.W., and S. F. Spoelstra.. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different

- carbohydrates by mixed rumen microorganisms in vitro. *App. Microbiol. Biotechnol* 1992.37:505.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v.36, n.4, p.347-363, 1998.
- Funari, C.S., Ferro, V.O., 2006. Análises de própolis. *Ciênc.Tecnol. Aliment.*, 26, 1, 171-178.
- Goering, H. K., Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). USDA Agricultural Handbook n°. 379.
- HEIMBACH, N.S.; ÍTAVO, C.C.B.F.; LEAL, C.R.B. Efeito antimicrobiano do resíduo da extração de própolis. Congresso Brasileiro de Zootecnia, **Anais...**, Águas de Lindóia, SP: 2009.
- Kozloski, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2a ed – Santa Maria: Ed. da UFMS, 2009.
- MIRZOEVA, O.K., GRISHANIN, R.N., CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, p.239-246, 1997.
- Nocek, J. E., and S. Tamminga. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal Dairy Science**. 1991, 74:3598.
- Pell, A. N., and P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. *Journal Dairy Science*.76:1063.
- SAPATERRO, G.A. Resíduo da extração da própolis como aditivo na dieta de ovinos fistulados. 2012. 42f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**.3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST J et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. 2. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- Stradiotti Jr., D., Queiroz, A.C., Lana, R.P., Pacheco, C.G., Eifert, E.C., Nunes, P.M.M., 2004. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. *Rev. Bras. Zootec.*, 33, 4, 1086-1092.
- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. Measurement and Kinetic Analysis of the Neutral Detergent-Soluble Carbohydrate Fraction of Legumes and Grasses. **Journal Animal Science**.1995. 73:3455–3463
- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal Animal Science**, 1994.72:2980.
- Van Soest, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. O&B Books, Corvallis, OR, 1982.
- VARGAS, A.C.; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato de própolis. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.159-163, 2004.
- ZEOULA, L.M.; BELEZE, J.R.F.; GERON, L.J.V. et al. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforos ou probióticos para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.563-571, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão de resíduo da extração alcóolica da própolis marrom na dieta de borregos em confinamentos com inclusão de 60% de concentrado e tendo como volumoso feno de Tifton aumentou o consumo voluntário de nutrientes, sem efeito sobre o comportamento ingestivo e desempenho produtivo dos animais.

A digestibilidade dos nutrientes em ovinos cruzados Texel, foi maior com a utilização de 10g de resíduo de própolis/kg MS da dieta (RP10) ou 0,061mg de flavonoides/kg MS da dieta, com exceção para a digestibilidade para extrato etéreo (DEE).

Essa maior digestibilidade da matéria seca para o tratamento RP10 também foi observado quando a dieta foi avaliada sobre a produção de gás e taxa de degradação das diferentes frações da dieta.

A menor digestibilidade para extrato etéreo, provavelmente foi afetada possivelmente pelos n-alcenos de cadeia longa, comprimento das cadeias varia de 21 a 37 carbonos, pois apresentam baixa digestibilidade e são recuperáveis nas fezes.

A inclusão de resíduo da extração da própolis a dieta dos borregos não afetou o pH entre os tratamentos, no entanto, apresentou uma redução do valor de nitrogênio amoniacal, essa redução pode ter ocorrido devido a diminuição da degradação de proteína dietética, aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado.

O uso do resíduo da extração da própolis como aditivo na dieta de ovinos em confinamento recebendo dieta com níveis intermediários de inclusão de concentrado parece ser aceitável segundo dados obtidos nos experimentos desenvolvidos, no entanto, mais estudos são necessários afim de que possa explorar o real potencial de utilização do resíduo da extração da própolis como aditivo para ruminantes.

Fatores como tipos de processamentos físicos, nível de inclusão, bem como o uso adequado da melhor dose resposta em função da composição química do resíduo da extração da própolis utilizada devem ser melhor explorados com o intuito de propiciar recomendações adequadas para o uso prático do resíduo da própolis como aditivo na alimentação de ovinos.