

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE LINGUAGEM, CIÊNCIAS AGRARIAS E SOCIAIS APLICADAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA

KAROLLAYNNE CARDOSO DA SILVA

**PRÓPOLIS VERDE PROVENIENTE DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis
dracunculifolia*) COMO ADITIVO NATURAL SOBRE O BALANÇO DE
NITROGÊNIO EM OVINOS**

PONTES E LACERDA-MT
NOVEMBRO/2019

KAROLLAYNNE CARDOSO DA SILVA

PRÓPOLIS VERDE PROVENIENTE DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*) COMO ADITIVO NATURAL SOBRE O BALANÇO DE NITROGÊNIO EM OVINOS

“Trabalho de conclusão de Curso, apresentado a Coordenação do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ZOOTECNIA”.

Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Cristina de Aguiar

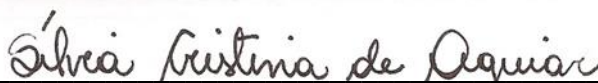
PONTES E LACERDA-MT
NOVEMBRO/2019

KAROLLAYNNE CARDOSO DA SILVA

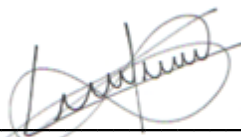
PRÓPOLIS VERDE PROVENIENTE DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*) COMO ADITIVO NATURAL SOBRE O BALANÇO DE NITROGÊNIO EM OVINOS

Trabalho de conclusão de Curso, apresentado a Coordenação do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL em ZOOTECNIA.

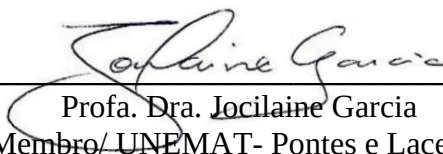
APROVADO EM: 26/11/2019



Prof. Dra. Sílvia Cristina de Aguiar
Orientadora/ UNEMAT- Pontes e Lacerda



Prof. Dr. Luiz Juliano Valério Geron
Membro/ UNEMAT- Pontes e Lacerda



Prof. Dra. Jocilaine Garcia
Membro/ UNEMAT- Pontes e Lacerda

*A minha mãe, Maria Dalva, pelo amor incondicional,
por todo apoio e incentivo constante.
A minha irmã, Dinalva Fatíma, por todo carinho e amor
Ao Tiago, por toda motivação, por toda força e amor*

Dedico-lhes de coração

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, por ter me guiado ao longo desse caminho, ao amor e proteção, a força diária, a todas as bênçãos derramadas sobre mim. Agradeço por acolher-me debaixo de suas asas nos meus momentos de aflições, por sempre confortar meu coração, não tenho palavras para expressar a minha gratidão.

A minha mãe, por sempre me incentivar, por todos os conselhos sábios, pelo amor incondicional, por fazer de tudo para me manter bem, mesmo estando longe. Agradeço por sempre me lembrar de ter foco e não desistir, sem o seu apoio nada disso seria possível. Serei eternamente grata por tudo, obrigada por ser essa mulher guerreira e maravilhosa. Me sinto extremamente honrada por ser sua filha.

A minha irmã, pela amizade, pelas palavras confortantes nos meus momentos difíceis, por todos os momentos de alegria proporcionado, por toda compreensão.

A meu namorado Tiago por todo amor, dedicação, pelo apoio, pelos constantes incentivos, conselhos, pela paciência.

À Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) *Campus* de Pontes e Lacerda, por me abrir as portas e permitir a realização deste projeto.

Ao Departamento de Zootecnia e aos professores do Curso de Zootecnia pelos valiosos ensinamentos.

A professora Sílvia Cristina de Aguiar por ter participado da minha formação acadêmica, pela compreensão, pela orientação, pelo carinho e apoio, para que fosse possível a realização deste projeto.

A professora Jocilaine Garcia, pela paciência e colaboração no desenvolvimento deste projeto.

A Alessandra Miranda, minha melhor amiga, que mesmo com a distância permaneceu sempre presente.

Aos meus melhores amigos, Anderson, Andressa, Fabiane, Joice, Rayane, Tatielle, por todo carinho, amizade, respeito. Pelos inúmeros momentos incríveis proporcionados, por toda a força nos momentos de tempestade. Sem vocês, não seria possível ter passado esses cinco anos.

A Liauany, Alexsandra, Amanda, Katryn por toda amizade e companheirismo, e a todos que contribuíram de forma direta e indiretamente.

“Porque tu, ó Senhor, és o meu refúgio! O Altíssimo é a tua habitação, nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará á tua tenda, porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito, para te guardarem em todos os teus caminhos.”

(Salmos 91:9-11)

RESUMO

Objetivou-se avaliar o balanço de nitrogênio (BN) de ovinos recebendo doses crescentes de extrato seco de própolis verde na ração. Foram utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida, com peso corporal (PC) médio de 26 kg. A ração dos animais foi constituída de 65% de volumoso e 35% de concentrado, sendo o volumoso utilizado o feno de capim Tamani (*Panicum maximum* cultivar BRS Tamani). Os tratamentos experimentais diferiram com a inclusão ou não do extrato seco de própolis verde à ração, constituindo-se, portanto, em quatro tratamentos: sem adição de própolis verde (Controle, CON), adição de 200 mg/dia de própolis verde (PRO2), adição de 400 mg/dia de própolis verde (PRO4) e adição de 600 mg/dia de própolis verde (PRO6). Foi realizada a coleta total de fezes e urina, através de sacolas de napa adaptadas aos animais e baldes colocados embaixo de cada gaiola metabólica. A inclusão das doses crescentes do extrato de própolis não influenciou ($p>0,05$) o BN em ovinos, com médias de 9,61 g/dia, 0,76 g/kg^{0,75} e BN de 50,79% do N ingerido. Isto que pode ter ocorrido devido a vários fatores, como: razão álcool:água usada para a extração dos compostos ativos da própolis, concentração de própolis utilizada para extração, doses fornecidas aos animais, entre outros. Conclui-se que a adição de doses crescentes de própolis em até 600 mg/dia à ração não altera o balanço de N em ovinos. Sugere-se, portanto, que outras doses deste mesmo extrato devem ser testadas.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Metabolismo do nitrogênio. Ruminante. Urina.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the nitrogen balance (NB) of sheep receiving increasing doses of green propolis dry extract in the diet. Four castrated male sheep, mixed breed, with an average body weight (BW) of 26 kg were used. The animals' diet consisted of 65:35 forage to concentrate ratio, and the forage used was Tamani grass hay (*Panicum maximum* BRS Tamani). Experimental treatments differed with or without the inclusion of green propolis dry extract in the diet, thus constituting four treatments: without addition of green propolis (Control, CON), addition of green propolis 200 mg/day (PRO2), addition of 400 mg/day of green propolis (PRO4) and addition of 600 mg/day of green propolis (PRO6). Total fecal and urine collection was performed through nappa bags and buckets placed under each metabolic cage. The inclusion of increasing doses of propolis extract did not influence ($p > 0.05$) NB in sheep, with averages of 9.61 g/day, 0.76 g/kg^{0.75} and BN of 50.79% of N ingested. This may have occurred due to several factors, such as: alcohol: water ratio used for extraction of propolis active compounds, propolis concentration used for extraction, doses supplied to animals, among others. It is concluded that the addition of increasing propolis doses up to 600 mg/day to the diet does not change the NB in sheep. Therefore, it is suggested that other doses of this same extract should be tested.

Keywords: Nitrogen metabolism. Phenolic compounds. Ruminant. Urine.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 USO DE ADITIVOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES	12
2.2 PRÓPOLIS	14
2.2.1 Composição química da própolis e suas atividades biológicas.....	17
2.2.2 Própolis verde	20
2.2.3 Própolis na alimentação de ruminantes	21
2.2.4 METABOLISMO E BALANÇO DE NITROGÊNIO (N) EM RUMINANTES	23
2.3.1 Metabolismo da proteína no rúmen.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

O uso de aditivos na dieta de ruminantes caracteriza-se como alternativa para intensificação dos sistemas de produção, e tem como objetivo a melhoria do desempenho animal e possível redução da poluição ambiental, por meio da atenuação das perdas por amônia e metano. Dentre os aditivos mais utilizados na dieta de ruminantes destacam-se os classificados como ionóforos, os quais têm como intuito elevar a participação de bactérias Gram-negativas no rúmen (HEIMBACH et al., 2014).

A monensina perdeu aceitação social e comercial na União Europeia (UE) devido a possíveis resíduos no produto e a resistência cruzada com bactérias causadoras de patologia humana. Devido aos agravantes, o mercado consumidor tem se mostrado intolerante aos produtos originados de animais alimentados com esse tipo de aditivo (OLIVEIRA et al., 2013).

Estudos estão sendo realizados em busca de produtos alternativos e naturais que possam agir da mesma maneira ou de forma semelhante aos dos ionóforos, porém, que não sejam sintéticos. Nesta busca por aditivos alimentares alternativos, a própolis apresenta resultados satisfatórios, pois possui ação semelhante aos ionóforos, capaz de auxiliar na degradação do alimento e diminuição na produção de gases (especialmente o metano) na fermentação ruminal (OLIVEIRA et al., 2019).

A própolis é um material resinoso, encontrado em tons que variam do amarelo esverdeado, passando pelo marrom-avermelhado ao negro, apresenta aroma forte e característico (em consequência de uma fração volátil de ácidos fenólicos), forte propriedade adesiva e um conjunto complexo de substâncias (GOMES et al., 2007).

Aguiar et al. (2014), ao estudarem a atividade antioxidante e oxidação lipídica no leite de vacas, com óleo de soja e extrato de própolis adicionados à ração, relataram aumento na atividade antioxidante nas amostras de leite de vacas que receberam própolis.

Pinto et al. (2001) verificaram a atividade antimicrobiana da própolis, avaliando a sensibilidade *in vitro* de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas do leite de vacas com mastite a diferentes extratos de própolis, e observaram que a própolis detém maior ação antibacteriana sobre as espécies Gram-positivas, com pouca ou nenhuma eficácia sobre as espécies Gram-negativas, sugerindo mais estudos sobre seu mecanismo de ação.

Silva et al. (2016) notaram o efeito do uso de um produto a base de própolis sobre a presença de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas no líquido ruminal de bovinos. Os resultados sugerem que a própolis pode influenciar as características da flora ruminal alterando

a composição de suas bactérias, porém, de maneira diferente dos ionóforos, selecionando bactérias Gram-positivas. Neste sentido, os autores afirmaram serem necessários mais estudos, a fim de compreender seus efeitos sobre a manipulação das bactérias ruminais.

Desta forma, objetivou-se avaliar o balanço de nitrogênio (BN) em ovinos que receberam ou não doses crescentes de extrato seco de própolis verde na ração, proveniente do alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), como um possível aditivo natural.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A manipulação da fermentação ruminal por meio da utilização de produtos modificadores (aditivos) é dependente do sistema de produção (VAN NEVEL, 1992). De acordo com Zeoula et al. (2008), o processo de otimização da fermentação ruminal pode ser considerado como maximização ou minimização de reações no rúmen, dependendo do tipo e do teor de alimento, da produção animal e dos compostos utilizados na modificação da fermentação ruminal. Em qualquer situação, os processos que devem ser maximizados são a síntese de proteína microbiana e fermentação da fibra em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); e os que devem ser minimizados são a metanogênese, a degradação da proteína verdadeira do alimento, a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados e, em parte, fermentação do amido.

Desta forma surgiram os compostos denominados como aditivos, que de maneira geral correspondem a uma série de compostos, os quais por diferentes mecanismos alteram a fermentação ruminal (pela maior formação de ácido propiônico, diminuição da formação de metano, redução da proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen), estabilizam o ambiente e protegem o trato gastrointestinal dos agentes patogênicos (NICODEMO, 2001).

Várias alternativas de aditivos têm sido pesquisadas para atuar na manipulação dos parâmetros ruminais com o objetivo de intensificar a atividade microbiana e consequente aumento da eficiência digestiva dos ruminantes (FRANÇA; RIGO, 2011).

2.1 USO DE ADITIVOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Aditivo, segundo o “Decreto 4.629 de 21 de março de 2004”, é uma “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano” (BRASIL, 2004).

Os efeitos principais dos aditivos alimentares são aumentar a eficiência alimentar e/ou o desempenho produtivo. Dentre os aditivos promotores de crescimento, liberados para o uso no Brasil e utilizados para ruminantes, têm-se: tampões; ionóforos; antibióticos não ionóforos;

enzimas fibrolíticas; leveduras; lipídios; própolis; dentre outros (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2005).

De acordo com Berchielli e Bertipaglia (2010), o objetivo maior da nutrição é a eficiência na produção animal e, para tanto, são lançados recursos para manipular a fermentação ruminal, como o uso dos aditivos na dieta. Os esforços focalizam, particularmente, as substâncias que aumentam a digestibilidade da fibra, o maior provimento do ácido propiônico no rúmen, a manutenção do pH próximo à normalidade, a redução da acidose ruminal, do timpanismo, da metanogênese, da proteólise ruminal e desaminação de aminoácidos. O emprego de aditivos consiste em uma estratégia de manipulação ruminal direta, regulando os processos de fermentação ruminal e aumentando a eficiência de utilização de nutrientes.

Van Nevel e Demeyer (1992), afirmaram que a manipulação da fermentação ruminal por meio da utilização de produtos modificadores (aditivos), é dependente do sistema de produção. Há uma grande variedade de aditivos alimentares que podem influenciar os componentes do metabolismo do rúmen. Dentre essa variedade encontram-se os ionóforos, que são um tipo de antibiótico que, seletivamente, deprime ou inibe o crescimento de microrganismos do rúmen (SOARES et al., 2015).

O ionóforo monensina tem sido amplamente utilizado na alimentação de bovinos de corte. Sua forma de ação se baseia na maior eficiência contra as bactérias Gram-positivas (maiores produtoras de hidrogênio, precursor de metano), do que contra as bactérias Gram-negativas. Quando a produção de hidrogênio e metano diminui, os cofatores reduzidos durante a fermentação dos carboidratos são oxidados na produção do propionato, aumentando a retenção de energia pelo animal (LANNA; RUSSELL, 2001).

Nos últimos anos, têm surgido uma grande preocupação com o uso de antibióticos e a propagação da resistência aos mesmos. O regulamento Nº 1831/2003 proposto pela UE, determina a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Espera-se que, com esta medida, ocorra a prevenção dos efeitos de uma possível relação entre o aumento da incidência de microrganismos resistentes aos antibióticos, observado na medicina humana, e a utilização destas substâncias em rações animais (HOULIHAN; RUSSELL, 2003).

Devido a estas restrições, tem ocorrido aumento nas pesquisas para utilização de novos aditivos em que haja uma exploração de produtos naturais, que venham oferecer resultados semelhantes aos ionóforos, mas sem causar danos/riscos à saúde humana. Tais produtos englobam os probióticos, prebióticos, enzimas, ácidos e metabólitos secundários de plantas ou de sua natureza química (WALLACE, 2004).

Dentre as possibilidades de aditivos, têm-se a utilização de leveduras vivas (principalmente *Saccharomyces cerevisiae*) como aditivo microbiano para alimentação animal e que são atualmente bem aceitos e amplamente utilizados, especialmente desde que alguns deles foram reconhecidos oficialmente como aditivos alimentares na Europa (FRANÇA; RIGO, 2011).

Eukles e Williams (1924), publicaram um artigo sobre a utilização de leveduras, as quais foram utilizadas como alimento complementar para vacas em lactação; e foi relatado aumento em ganho de peso e produção de leite. Dawson (1997), avaliou leveduras como aditivo microbiano alimentar, relatou o aumento médio de produção de leite de 2 a 30% e, em relação ao ganho de peso, apresentaram um aumento médio de 8,7%, porém podendo chegar a mais de 20%.

Uma outra possibilidade também seria a própolis, que é um produto natural e tem ação antimicrobiana. Hino e Russel (1987) afirmaram que a própolis pode ser utilizada como aditivo, por possuir ação bacteriostática sobre as populações de bactérias Gram-positivas e algumas Gram-negativas, aparentemente pela modificação do status bioenergético da membrana bacteriana e pela inibição de sua motilidade, o que remete à atividade dos ionóforos. Broudiscou et al. (2000), realizaram um experimento *in vitro* onde foi observado que a própolis aumentou a produção de propionato em 10,36% e diminuiu a população de protozoários.

Peixoto, Rodrigues e Gois (2010), testaram o efeito dos extratos aquoso e alcoólico da própolis sobre a viabilidade dos protozoários do rúmen de bovino, juntamente com verificação da ação destes extratos controlando o pH do líquido ruminal, obtiveram resultados positivos, onde os extratos aquoso e alcoólico de própolis *in vitro*, em diferentes concentrações, são passíveis de utilização no líquido ruminal por não alterar a viabilidade dos protozoários, não alterando o pH.

2.2 PRÓPOLIS

De acordo com os contextos históricos da humanidade há uma grande diversidade de produtos naturais e, dentre esses produtos, a própolis era e vem sendo a mais utilizada. Os registros mais antigos referentes ao uso da própolis no antigo Egito (1700 a.C.), relataram a sua utilização para embalsamento de cadáveres (FERREIRA, NEGRI, 2017). Tanto os incas, quanto romanos e assírios faziam a uso da própolis para tratar de enfermidades. A própolis teve

suas propriedades medicinais reconhecidas por médicos romanos e gregos, como Aristóteles, Dioscórides, Plínio e Galeno, que deixaram grande marco na história (CAPASSO; CASTALDO, 2002).

Segundo Pereira et al. (2002), a própolis desempenhou grande papel nos períodos de guerra na África do Sul durante o século XIX. Na antiga URSS a própolis também se destacou não somente na medicina humana quanto na veterinária (tratamento de tuberculose). No entanto, somente em 1968 surgiu a primeira patente sobre suas propriedades químicas, publicado no *Chemical Abstracts*, esse marco deu abertura para que mais trabalhos viessem ser publicados.

A palavra própolis deriva do Grego *pro*, em defesa de, e *polis*, cidade, sendo assim a sua produção tem como função proteger (defender) a colmeia contra ameaças de insetos invasores, manter a colmeia higienizada (recobrimo insetos mortos que ficaram presos na colmeia) e, ainda, realiza função de isolante térmico (Figura 1) (GHISLBERTI, 1979).

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas, de matéria-prima de diversas flores, brotos, ramos e exsudados de árvores. A essa matéria-prima, as abelhas adicionam secreções salivares durante o processo de elaboração da própolis (PEREIRA et al., 2002). De acordo com Marcucci (1995), algumas própolis são fibrosas e firmes, entretanto outras são gomosas e maleáveis, e a sua coloração depende da região geográfica e do tipo de vegetação disponível, variando do amarelo claro ao marrom, vermelha e verde.



Figura 1: Própolis verde.

Fonte: <https://i0.wp.com/www.oleosessenciais.org/wpcontent/uploads/2015/07/AlecrimDoCampo03.jpg>

A produção de própolis no Brasil é estimada em torno de 100 a 150 toneladas anuais, sendo que cerca de 75% desse total é exportado (tanto na forma bruta quanto em produtos manufaturados), especialmente ao Japão (97% das exportações), ou seja, 80% da demanda japonesa, alcançando assim elevados preços no comércio exterior e representando uma importante fonte de renda. Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de própolis do mundo, perdendo apenas para Rússia e a China (MACHADO et al. 2012; SILVA et al. 2016).

Park, Ikegaki e Alencar (2002), realizaram pesquisas onde foram feitas coletas de 500 amostras de própolis de diferentes regiões do Brasil (exceto a região Norte), visando a classificação das mesmas. Após todo o processamento e análise das amostras, foi possível classificar 12 grupos distintos de própolis (Quadro 1), onde pode-se observar que cinco grupos de própolis foram encontrados na região Sul, seis grupos na região Nordeste e um grupo na região Sudeste. Tais resultados demonstrados pelos autores, sugerem que há maior diversidade de própolis nas regiões Sul e Nordeste do Brasil, na mesma proporção que a vegetação destas regiões também variam.

Quadro 1- Agrupamento da própolis brasileira quanto à coloração.

Extrato Etanólico de Própolis			
Grupos¹	Cor	Substâncias Solúveis (%)	Origem da Própolis
Grupo 1 (RS)	Amarelo	63,0	Região Sul
Grupo 2 (RS)	Castanho claro	57,5	Região Sul
Grupo 3 (PR)	Castanho escuro	65,0	Região Sul
Grupo 4 (PR)	Castanho claro	54,5	Região Sul
Grupo 5 (PR)	Marrom esverdeado	58,7	Região Sul
Grupo 6 (BA)	Marrom avermelhado	45,9	Região Nordeste
Grupo 7 (BA)	Marrom esverdeado	43,8	Região Nordeste
Grupo 8 (PE)	Castanho escuro	41,3	Região Nordeste
Grupo 9 (PE)	Amarelo	46,7	Região Nordeste
Grupo 10 (CE)	Amarelo escuro	24,1	Região Nordeste
Grupo 11 (PI)	Amarelo	23,1	Região Nordeste
Grupo 12 (SP)	Verde ou marrom esverdeado	61,0	Região Sudeste

Fonte: Adaptado de Park, Ikegaki e Alencar (2002).

¹Locais de coleta: RS- Rio Grande do Sul; PR- Paraná; BA- Bahia; PE- Pernambuco; CE- Ceará; PI- Piauí; SP- São Paulo.

Com base no exposto acima, a própolis verde ficou classificada como PG12 (Própolis do grupo 12) produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*, possuindo uma coloração verde característica que é utilizada para sua rápida identificação no processo de comercialização, sendo que esta própolis é conhecida internacionalmente como própolis verde (*green propolis*).

O grupo 12 representa com fidelidade a sua origem botânica, a *Baccharis dracunculifolia* (KUMAZAWA et al., 2003).

2.2.1 Composição química da própolis e suas atividades biológicas

Segundo Mendonça et al. (2011) a própolis é considerada complexa devido a diversidade das substâncias que a compõem, ou seja, a ecologia da flora de cada região. Atualmente mais de 300 constituintes já foram identificados e devidamente caracterizados, tendo como principais os flavonoides e ácidos fenólicos.

Todavia, em estudos realizados por Koo e Park (1996) foram observadas diferenças entre a quantidade e qualidade dos flavonoides extraídos de dois tipos de própolis coletadas de duas variedades diferentes de abelhas *Apis mellifera* de uma mesma região, sugerindo assim que a composição química da própolis é dependente também da variedade da abelha, não sendo a origem botânica o único fator que determina tais diferenças.

Dentre os compostos em geral, a própolis contém 50% de resina vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos e 5% de pólen (PINTO; PRADO; CARVALHO 2011). De acordo com estudos realizados por Matsuda e Mastro (2002), dentro desta composição estão incluídos microelementos; tais como alumínio, cálcio, ferro, cobre, manganês e traços das vitaminas B1, B2, B6, C e E, que são importantes e conferem propriedades medicinais.

Na Europa, América do Norte e oeste da Ásia, a fonte dominante para a elaboração da própolis é o exsudato do botão de álamo (*Populus sp.*). Entretanto, na América do Sul, a espécie vegetal do gênero *Populus* não é nativa, existindo uma grande diversidade vegetal para a retirada de resina, o que dificulta a correlação da própolis com a fonte produtora (MARKHAM et al., 1996).

Aga et al. (1994), realizaram um estudo sobre o isolamento e identificação de compostos antimicrobianos em própolis brasileiras obtidas no estado de São Paulo, com total de três compostos isolados. Os compostos foram: ácido 3,5-diprenila-4-hidrocinâmico, ácido 3-prenila-4-dihidro-cinamoiloxicinâmico e 2,2-dimetila-6-carboxietenila-2H-1-benzopirano. Tais compostos agiram em resposta antimicrobiana contra *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes* e contra *Arthroderma benhamiae*. De acordo com os autores, o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico foi o composto da própolis brasileira com maior atividade antibacteriana.

De acordo com Menezes (2005), dentre o grupo de compostos da própolis, os flavonoides são os que mais vêm causando interesse nos pesquisadores. Os flavonoides são uma subclasse dos polifenóis, são compostos de baixo peso molecular, constituído por dois anéis aromáticos, designados A e B, que são unidos por três átomos de carbono, formando um terceiro anel (denominado C) oxigenado e heterocíclico (Figura 2) (MATIAS; BUOISI; GOMES, 2016).

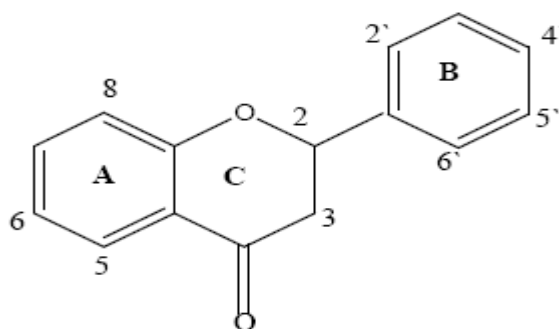


Figura 2: Estrutura básica dos flavonoides.

Fonte: Ivan Goncalves Ribeiro, 2007.

Em seus estudos Beecher (2003) relatou que os flavonoides são distribuídos na natureza, ou seja, são substâncias naturais. A ingestão dos flavonoides proporciona efeitos benéficos pois interferem nos processos fisiológicos, auxiliando na absorção e na ação de vitaminas, processos de cicatrização, como antioxidantes, e por apresentarem atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune.

No mais, a própolis possui uma composição química vasta, com vários outros componentes que têm grande importância, onde estão incluídos os ácidos fenólicos, como a cafeína, ácidos ferúlico, *p*-cumárico e cinâmico. Os ácidos fenólicos, assim como os flavonoides, são compostos de plantas amplamente espelhados por todo o reino vegetal. O interesse crescente pelos ácidos fenólicos decorre de seu potencial protetor contra doenças causadoras de danos oxidativos, doenças cardíacas, derrame e câncer (GULÇIN; BURSAL; SEHITOGLU et al., 2010).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos quanto para o organismo, além de contribuírem para a prevenção geral do câncer e efeitos antitumorais da própolis (SOARES, 2002). Os ácidos fenólicos consistem em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzóico e derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 3). Os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos gálico *p*-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e sirínico, que têm estrutura comum, C6–C1 (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

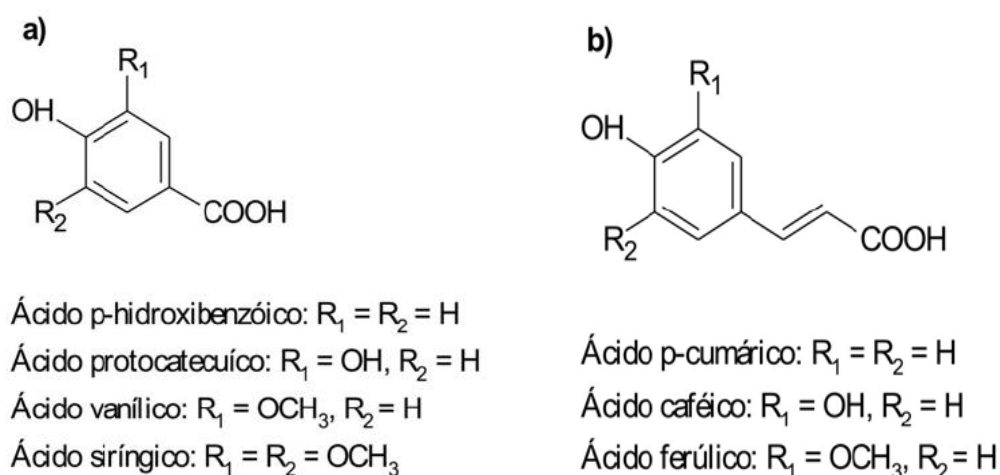


Figura 3: Estrutura química dos ácidos hifroxibenzóicos (a) e hifroxicinâmicos (b).

Fonte: Angelo e Gorge (2007).

Em estudos realizados por Grunberger et al. (1988), foi relatado uma identificação dentro do grupo de polifenóis existente na constituição da própolis, uma série de ésteres de cafeato dotados de espectros de bioatividade, o éster fenetil do ácido cafeico (CAPE). Dentre suas atividades, destaca-se o efeito inibitório sobre o HIV-1, além de atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral.

Outro composto presente na própolis com atividades biológica antitumoral, antioxidante e antimicrobiana é o Artepillin C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), que é o principal componente fenólico biologicamente ativo encontrado na própolis verde coletado da planta *Baccharis dracunculifolia*. A presença deste composto confere a própolis não somente um alto valor terapêutico, mas também um incremento no seu valor comercial (ESTRADA; SILVA; ANTUNES, 2008).

Em estudos realizados por Shimizu et al. (2004), ao avaliarem a biodisponibilidade antioxidante do Artepillin C na própolis brasileira, constatou-se que o mesmo pode prevenir doenças degenerativas, agindo no DNA celular. Os resultados encontrados demonstraram que o Artepillin C da dieta passa pelo sistema de absorção intestinal na forma livre e evita o dano oxidativo (doenças degenerativas tais como o câncer) ao DNA em células como hepatócitos. Shimizu et al. (2005), relataram que o Artepillin C previne o câncer de cólon através da indução da parada do ciclo celular, sendo um fator quimio preventivo útil na carcinogênese do cólon.

A propriedade antimicrobiana da própolis é amplamente relatada, sendo destacada sua ação sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida sp*, e sobre inúmeros outros microrganismos (ASTANI et al., 2013).

2.2.2 Própolis verde

A própolis verde é proveniente da resina da *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como alecrim-do-campo e vassourinha; é nativa do Brasil, onde ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, principalmente nas áreas em processo de sucessão (PARK et al. 2004). A *Baccharis dracunculifolia* produz óleos essenciais caracterizados por aroma forte e exótico, e as abelhas, por possuírem antenas com alta capacidade olfatória, visitam os ápices foliares (Figura 4). Esta planta é um arbusto lenhoso, que pode chegar a quatro (4) metros de altura, de espécie perene, e contém muitas ramificações em seus galhos (SPRING, 2000; GONÇALVES et al., 2005).

De acordo com Park et al. (2002), o melhor indicador da origem botânica da própolis é a análise da sua composição química comparada com a provável fonte vegetal e determinação da origem geográfica, o que é crucial para o controle de qualidade.

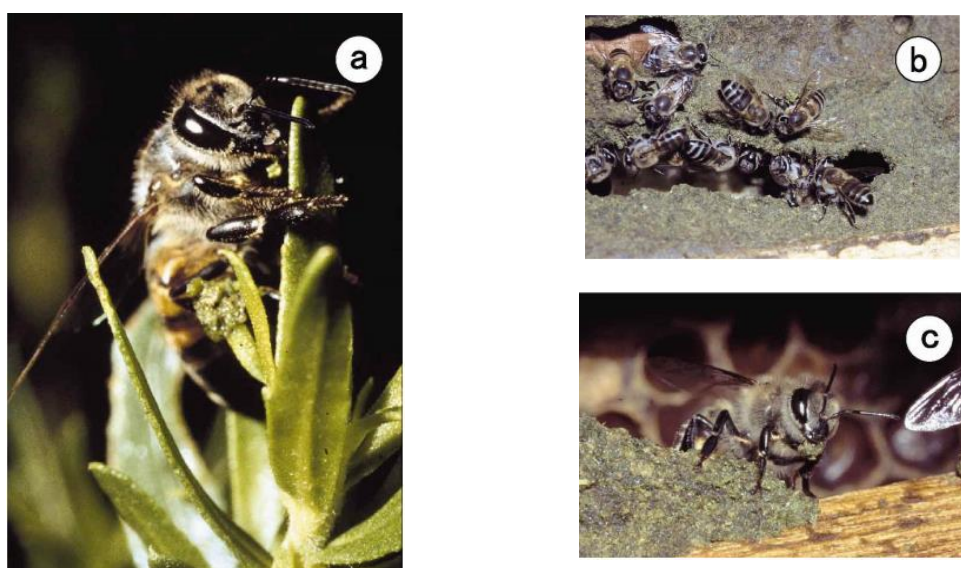


Figura 4: Abelha *Apis mellifera* coletando em ápices vegetativo de *Baccharis dracunculifolia*.
Fonte: (KUMAZAWA et al., 2003).

Nascimento et al. (2008) relataram um novo marcador químico para a própolis do alecrim-do-campo, onde foi utilizada a cromatografia gasosa e, de acordo com os resultados, a fonte vegetal mais importante para a preparação da própolis verde são os ápices vegetativos da *Baccharis dracunculifolia*. Outro ponto interessante deste mesmo estudo foi que os cromatogramas mostraram que o marcador químico não está presente em própolis da coloração marrom (região da Uberlândia, onde o pasto apícola não contém o alecrim), mas continua

presente em própolis de regiões que contêm como vegetação o alecrim, embora a própolis não seja de cor verde.

A própolis verde é conhecida internacionalmente como *Green propolis*, é a mais requisitada certamente devido a suas propriedades químicas e que tem como principal fonte vegetal a espécie de *Baccharis dracunculifolia*. No Japão, a própolis verde é utilizada para fins de consumo em suplemento alimentar e para tratamento de doenças, devido suas características organolépticas (PARK et al., 2004).

Funari e Ferro (2006) ao avaliarem a qualidade da própolis incluindo a indicação de sua provável fonte botânica, afirmaram que a própolis verde encontrada na Região Sudeste do Brasil é rica em ácidos fenólicos, o que possivelmente possui relação com a sua cor e composição química.

De acordo com Simões et al. (2004), a própolis verde produzida no estado de São Paulo e Minas Gerais, tendo como fonte vegetal a *Baccharis dracunculifolia*, tem como componentes majoritários o ácido *p*-cumárico e flavonoides, os quais apresentam importantes atividades biológicas, antitumoral e antimicrobiana, e estão ausentes na própolis da europeia, norte-americana e asiática.

2.2.3 Própolis na alimentação de ruminantes

Stradiotti et al. (2004), em estudos com a ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases, relataram que o extrato de própolis quando comparado ao tratamento controle (solução alcoólica a 70%), reduziu a produção final total de gases para carboidratos fibrosos. Foi observado também, que a taxa de digestão específica para carboidratos fibrosos e carboidratos não-fibrosos foi superior, quando se utilizou o extrato de própolis.

Freitas et al. (2009), ao avaliarem o extrato etanoico de própolis na alimentação de vacas leiteiras, obtiveram resultados positivos sobre a produção de leite e teores de proteína. O aumento do teor de proteína no leite ocorreu devido aos acréscimos de aminoácidos na glândula mamária, promovida pela menor taxa de fermentação da proteína dietética e pela redução na produção de gases, possibilitando maior escape de proteína para o intestino delgado.

Em estudos realizados por Rísoli et al. (2009), os quais avaliaram o efeito de dietas suplementadas com monensina ou produtos à base de própolis sobre as populações de

protozoários ciliados no rúmen de bovinos e bubalinos, observaram efeito redutor nas populações de ciliados no rúmen de bubalinos da raça Murrah.

Stelzer et al. (2009), avaliaram o desempenho de vacas Holandesas consumindo ração com dois níveis de concentrado associados ou não ao extrato etanólico de própolis (34 mL por dia), relataram que a adição da própolis não altera o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas produzindo acima de 20 kg de leite/ dia.

De acordo com estudos realizados por Faria et al. (2011), a adição do produto à base de própolis (LLOS) na dieta de bovinos mestiços inteiros confinados demonstrou aumentar as células leucocitárias (principais agentes de defesa contra-ataque de agentes externos).

Zawadzki et al. (2011), avaliaram a capacidade de produto a base de própolis em substituição a monensina sódica no desempenho de novilhos da raça Nelore terminados em confinamento, e verificaram que o ganho médio diário em kg/dia e o peso corporal final foram superiores para a própolis (1,17 kg/dia; 501 kg) em relação ao tratamento controle (0,87 kg/dia; 472 kg) e ao tratamento contendo monensina (0,94 kg/dia; 480 kg), revelando melhor desempenho com o uso da própolis se comparada a monensina.

Geron et al. (2014) realizaram um estudo utilizando 54 novilhas da raça Nelore, cujo produto a base de própolis foi fornecido juntamente com o suplemento energético-mineral com concentração de própolis entre 5 a 30 g e diluição alcoólica entre 60,0 a 93,8 % (v/v). Os autores relataram que a utilização de aditivo a base de própolis possibilitou a substituição da monensina sódica para novilhas mantidas a pasto se alterar o comportamento ingestivo.

Heimbach et al. (2014) avaliaram quatro níveis de inclusão da própolis marrom (5, 10, 15 e 20g) proveniente de *Baccharis dracunculifolia* sobre a digestibilidade *in vitro* dos nutrientes e relataram que o resíduo da extração de própolis marrom (RPM) apresentou efeito positivo na digestibilidade ruminal, onde o melhor nível de inclusão foi de 20 g de RPM/kg MS. A digestibilidade da MS também foi melhor com o aumento do nível de inclusão de RPM.

Aguiar et al. (2014), estudaram o efeito de um produto a base de própolis (PBP) sobre a produção, composição em ácidos graxos (AG) e capacidade antioxidante do leite de vacas leiteiras e constataram que a composição de AG do leite foi alterada pela adição do PBP, e essa alteração se deve ao aumento no isômero *cis9, trans11-18:2* (CLA); que promoveu aumento dos AG mono e poli-insaturados e redução dos AG saturados. Além disso, a capacidade antioxidante do leite também foi maior com a adição do PBP na ração.

Assim, com base nos estudos supracitados, mais pesquisas sobre o uso da própolis na nutrição de ruminantes devem ser conduzidos, uma vez que vários fatores influenciam nos

resultados obtidos, tais como origem botânica da própolis, forma de extração, quantidade utilizada, entre outros.

2.2.4 METABOLISMO E BALANÇO DE NITROGÊNIO (N) EM RUMINANTES

A determinação do balanço de nitrogênio no animal, assim como a síntese de proteína são de grande importância para avaliar a qualidade das dietas fornecidas aos animais. A proteína digestível representa o balanço entre o consumo de proteína da dieta e a excreção fecal, enquanto o balanço de nitrogênio reflete as perdas urinárias, o que fornece uma quantificação do metabolismo proteico e demonstra especificamente a retenção de proteína pelo organismo (ALVES et al., 2011).

De acordo com estudos realizados por Russell et al. (1992), os microrganismos ruminais dependem de esqueletos de carbono, disponibilidade de energia de amônia e peptídeos para que haja síntese de proteína microbiana. A disponibilidade de carboidratos no rúmen é muito importante e tem grande efeito sobre a utilização dos compostos nitrogenados, pois as bactérias ruminais podem incorporar os aminoácidos e fermentá-los como fonte de energia. Através da manipulação da razão volumoso: concentrado é possível alterar os processos fermentativos e maximizar a eficiência de síntese microbiana, bem como a eficiência de utilização dos nutrientes dietéticos.

O nitrogênio (N), presente no compartimento ruminal, pode ser de origem endógena ou dietética. O N de origem endógena é derivado da reciclagem da ureia, das células epiteliais de descamação e do processo de lise das células microbianas. O N dietético é composto pela proteína verdadeira e pelo nitrogênio-não-proteico (NNP), pertencente ao alimento (PEREIRA et al., 2007). O metabolismo de nitrogênio no rúmen pode ser dividido em dois eventos distintos: degradação de proteínas, que fornece fontes de N para bactérias e síntese de proteína microbiana (CAVALCANTE et al., 2006).

Considerando o papel central da fermentação microbiana na digestão dos ruminantes, torna-se importante a avaliação do N para a absorção pelo animal. Os compostos nitrogenados não-amoniacais (NNA) no abomaso têm sido utilizados para avaliar o N que chega ao intestino delgado e incluem, principalmente, o N dietético não-degradado e o N de origem microbiana. Os NNA totais do abomaso contêm ainda outra fração, a proteína endógena, constituída principalmente de enzimas, muco e células epiteliais (LADEIRA et al., 2002).

2.3.1 Metabolismo da proteína no rúmen

O metabolismo proteico no rúmen é o resultado da atividade metabólica dos microrganismos ruminais. A estrutura da proteína é um fator chave na determinação de sua suscetibilidade a proteases microbianas e, assim, sua degradabilidade (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005).

O fornecimento de aminoácidos a partir da proteína microbiana é fundamental para o metabolismo proteico dos ruminantes, uma vez que a maior parte dos aminoácidos absorvidos no intestino delgado é proveniente da proteína microbiana. A eficiência de produção microbiana e o fluxo microbiano são fatores determinantes da quantidade de proteína microbiana que alcança o intestino delgado (AGUIAR et al., 2015).

A proteína bruta contida nos alimentos é composta de uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma fração não degradável no rúmen (PNDR). Os fatores que afetam a degradabilidade proteica no rúmen são a composição química e física da PB, a atividade proteolítica microbiana, o acesso microbiano à proteína, o tempo de retenção do alimento no rúmen, o pH ruminal, o processamento do alimento e a temperatura ambiente (CAVALCANTE et al., 2008).

As fontes de proteína consumidas pelos ruminantes podem sofrer processos de hidrólise no rúmen (degradação da proteína), liberando aminoácidos livres em um primeiro momento, que podem ser desaminados, liberando amônia. Os aminoácidos liberados, bem como a amônia produzida, podem ser utilizados para a síntese de proteína microbiana, a qual pode apresentar um perfil de aminoácidos completamente diferente da fonte dietética. Desta forma, o aporte final de proteína para o intestino delgado é formado não somente pela proteína dietética, mas em grande parte pela proteína microbiana (CALDAS NETO et al., 2008).

A fração NNP é composta por N presente no DNA, RNA, amônia, aminoácidos e pequenos peptídeos. Quando a velocidade de degradação ruminal da proteína excede a velocidade de utilização dos compostos nitrogenados para a síntese microbiana, o excesso de amônia produzida no rúmen atravessa a parede ruminal e pode ser perdida via urina, na forma de ureia. Além disso, os peptídeos e aminoácidos provenientes da degradação ruminal da proteína não incorporados nas células microbianas, podem passar para o duodeno e serem absorvidos pelo ruminante (SANTOS, 2006).

Deste modo, a rápida degradação da ureia no rúmen pode acarretar um aumento nas concentrações de N-amoniaco e uma alta absorção de amônia pela parede ruminal, caso não

haja carboidratos fermentáveis suficientes no rúmen. Isto irá acarretar uma sobrecarga de N-amoniacal no fígado e um gasto maior de energia para excreção da ureia, além de risco de intoxicação. A taxa de degradação ruminal da fonte energética é o principal fator limitante para a utilização do NNP (DOMINGUES et al., 2010).

A degradação da proteína envolve alguns processos onde inicialmente a cadeia proteica é quebrada por hidrólise de ligações peptídicas (proteólise), resultando em peptídeos e aminoácidos. O mecanismo de degradação de proteínas difere um pouco entre bactérias e protozoários. Os peptídeos e aminoácidos resultantes da atividade proteolítica são transportados para dentro da célula microbiana, que podem ser incorporados na proteína microbiana ou degradados em AGCC, amônia, dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) (Figura 6) (TAMMINGA, 1979).

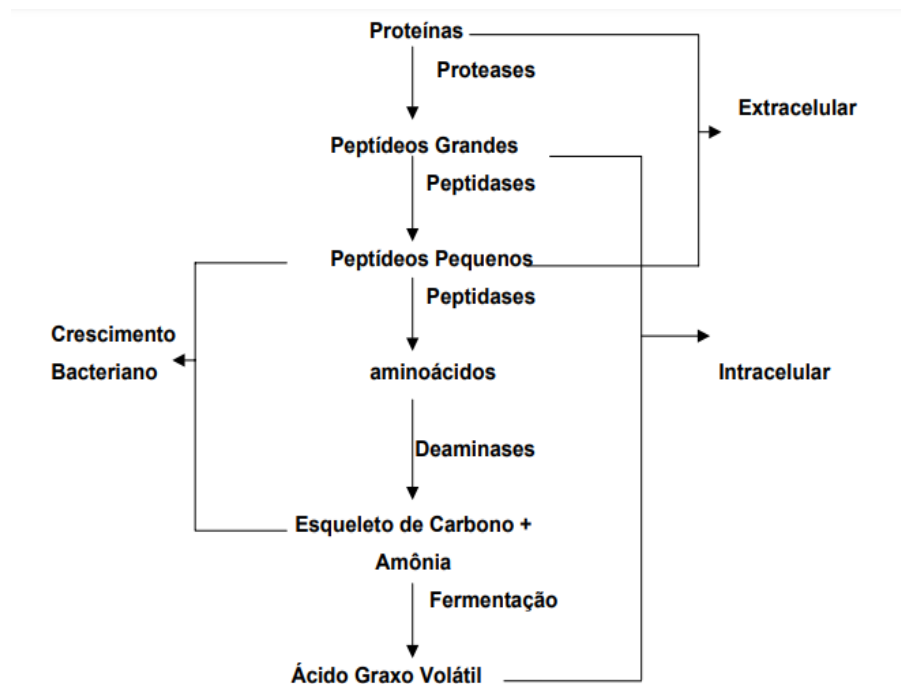


Figura 6: Processo sequencial de degradação de proteínas por bactérias.

Fonte: Santos, Cavaliere e Modesto (2001).

O metabolismo bacteriano dos aminoácidos absorvidos é complexo e altamente integrado. Alguns são incorporados diretamente na proteína microbiana, enquanto que o restante é deaminado, formando α -cetoácidos e amônia, sendo os primeiros utilizados no processo de fermentação de energia e a amônia excretada no meio (SANTOS; CAVALIERI; MODESTO, 2001).

A quantidade de energia disponível no rúmen é um dos fatores que afetam a utilização de aminoácidos e proteínas. Quando há energia suficiente para o metabolismo microbiano, os

aminoácidos são utilizados para síntese de proteína microbiana, mas se o fator limitante for a disponibilidade de energia, os aminoácidos serão fontes de AGCC e amônia (NOCEK; RUSSELL, 1988).

De acordo com Wallace et al. (2004), quando há uma quebra excessiva de peptídeos, ultrapassando a capacidade de assimilação, ocorre uma produção excessiva de amônia e uma pequena retenção de N. A redução da quebra dos peptídeos reduziria o fluxo de N proteico para amônia no rúmen ajudando a aumentar a eficiência da retenção do N pelo animal.

Assim, com base no exposto acima, a estimativa do balanço de N (BN) e da síntese de proteína microbiana são análises de grande importância para avaliação da qualidade das dietas fornecidas para os animais, por fornecer uma quantificação do metabolismo proteico e revelar especificamente se há ganhos ou perdas proteicas (LADEIRA et al., 2002). De acordo com Pessoa et al. (2009), a avaliação do balanço de nitrogênio no animal permite a obtenção de informações a respeito da nutrição proteica dos ruminantes, o que pode ser importante para evitar prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais, decorrentes do fornecimento de quantidades excessivas de proteína ou inadequada sincronia energia-proteína no rúmen.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no *Campus* Universitário de Pontes e Lacerda, no Setor de Metabolismo Animal (SeMA). As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LAANA), pertencente ao Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Foram utilizados quatro ovinos machos, castrados, sem raça definida com peso corporal (PC) médio de 26,0 kg. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas apropriadas para coleta de urina (Figura 7).



Figura 7: Setor de metabolismo animal (SeMA), gaiolas metabólicas e animais experimentais.
Fonte: Arquivo pessoal.

Os ovinos foram vermifugados com produto a base de ivermectina quinze dias antes do início do período experimental. A ração dos animais foi constituída de 65% de volumoso e 35% de concentrado, sendo o volumoso utilizado o feno de capim Tamani (*Panicum maximum* cultivar BRS Tamani) e o concentrado foi constituído de 24% de milho triturado, 10% de farelo de soja e 1% de sal mineral (Tabela 1). A dieta experimental foi formulada de acordo com as recomendações propostas pelo NRC (2007), contendo 65% de NDT e 13% de PB com base na MS. Os tratamentos experimentais diferiram com a inclusão ou não da própolis verde na ração dos animais constituindo-se, portanto, em quatro tratamentos, sendo: sem adição de própolis

(Controle, CON), adição de 200 mg/dia de própolis (PRO2), adição de 400 mg/dia de própolis verde (PRO4) e adição de 600 mg/dia de própolis verde (PRO6).

Tabela 1 – Composição química dos alimentos e proporção dos ingredientes utilizados na dieta experimental.

Alimentos	g/kg ¹									Dieta (%)
	MS	MO	PB	EE	FDN	FDA	CT	CNF	NDT ³	
Feno²	874,8	917,8	68,7	7,7	834,4	491,5	841,4	7,0	47,99	65
Farelo de soja	894,8	931,2	459,1	19,9	115,3	103,2	452,2	336,9	785,9	10
Milho quirera	907,9	940,2	110,7	41,8	166,1	45,3	787,7	6,21	786,9	24
Supl. mineral⁴	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	1

¹MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; CT = carboidratos totais; CNF = carboidratos não-fibrosos; NDT = nutrientes digestíveis totais. ²Feno de capim Tamani (*Panicum maximum* cultivar BRS Tamani). ³Determinado segundo equações propostas por Kearn (1982). ⁴Composição do suplemento mineral (quantidade mínima por kg de produto): 74 g de fósforo, 142 g de cálcio, 138 g de sódio, 19 de enxofre, 12 g de magnésio, 6150 mg de zinco, 832 mg de manganês, 51 mg de cobalto, 136 mg de iodo, 25 mg de selênio, 820 mg de flúor.

Fonte: elaborado pelo autor

O extrato de própolis verde comercial utilizado, denominado Cytopropolis Biochance (Néctar Farmacêutica Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil), é um extrato seco de própolis verde em pó obtido a partir do alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) em áreas livres de poluição no estado de Minas Gerais (Figura 9).



Figura 8: Extrato de própolis Néctar Cytopropolis Biochance.

Fonte: Arquivo pessoal.

Seu processo de produção é certificado e auditado por instituições internacionais ISO9001 e GMP. A própolis utilizada se encontra em cápsulas contendo 700 mg de extrato seco, as quais foram abertas para liberação do extrato em pó, os quais posteriormente foram pesados e embrulhados em papel para fornecer aos animais.

O experimento foi constituído de 4 períodos experimentais com 21 dias cada, em que 14 dias foram para adaptação dos animais e 7 dias para coleta. O fornecimento das rações foi realizado duas vezes ao dia, às 07 h e às 17 h, sendo o volumoso e o concentrado misturados manualmente no comedouro. A limpeza do SeMA foi realizada diariamente para promoção do bem-estar animal, estando em um ambiente agradável.

Os ovinos foram pesados no início e no fim de cada período experimental, para estimativa do fornecimento de MS das rações experimentais e obtenção do peso metabólico dos animais. Durante o período de adaptação, a ração foi fornecida de maneira a ter 10% de sobras nos comedouros.

As sobras do cocho foram coletadas e pesadas diariamente, para a determinação do consumo voluntário. Durante o período de coleta, as sobras dos alimentos foram amostradas pela manhã e armazenadas em freezer (-10°C), para posterior análise laboratorial.

As gaiolas metabólicas foram devidamente lavadas nos dias antecedentes às coletas de fezes e urina para evitar a contaminação da urina com alimentos e fezes aderidos nas gaiolas. A coleta total de fezes foi realizada utilizando uma sacola de napa adaptada em cada animal, provida de abertura com zíper.

Embaixo de cada gaiola metabólica foi colocado um balde plástico para a coleta de urina, com 20 mL de ácido clorídrico (HCl) 1:1, para evitar a volatilização do N e possível fermentação da urina. Os baldes plásticos foram cobertos com telas, para evitar a contaminação da urina com pelos, fezes e ração.

A amostragem de fezes e urina foram realizadas durante o período da manhã. Todo o conteúdo fecal presente na sacola foi pesado para a determinação da produção fecal diária por período, tratamento e animal.

A produção diária de urina dos animais foi mensurada utilizando uma proveta graduada, e 10% do total foi amostrado e conservado em frascos de vidro devidamente identificados por período, tratamento e animal e armazenados em geladeira (5°C) para posterior análise.

As análises de MS (método no 934.01), material orgânica (MO, método no 924.05), proteína bruta (PB, método no 920.87) e extrato etéreo (EE, método no 920.85) das amostras de alimentos foram conduzidas de acordo com A.O.A.C. (1990). A fibra em detergente neutro

(FDN) foi determinada segundo Van Soest et al. (1991) e a fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com o método no 973.18 (AOAC, 1990).

Os carboidratos totais (CT) foram obtidos por intermédio da seguinte equação de Sniffen et al. (1992, em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Matéria\ Mineral)$, (. Os carboidratos fibrosos (CNF) foram determinados pela diferença entre CT e FDN.

A determinação do teor de nitrogênio total das amostras compostas de alimentos, sobras, fezes e urina foi realizada pelo método de Kjeldahl (A.O.A.C., 1990). O balanço de N foi calculado da seguinte maneira: $BN = N_{oferecido} - (N_{sobras} + N_{fezes} + N_{urina})$, onde $N_{oferecido}$, N_{sobras} , N_{fezes} , N_{urina} , na qual representam, respectivamente, as quantidades médias diárias de nitrogênio nos alimentos oferecidos, nas sobras, fezes e urina.

O delineamento experimental utilizado foi em quadrado latino 4×4 , com quatro tratamentos e quatro repetições. As análises estatísticas das variáveis estudadas foram interpretadas por análises de variância e regressão, utilizando o software estatístico Sisvar, Versão 5.6 (FERREIRA et al., 2011), através do seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + N_i + P_j + A_{ijk} + e_{ijk}.$$

Em que:

Y_{ijk} = variável estudada no indivíduo k , do período j , recebendo o tratamento i com adição ou não de própolis verde;

μ = constante geral da variável; N_i = efeito da dose i de própolis verde à ração ($i = 0; 200; 400; 600$ mg/dia);

P_j = efeito do período j ;

A_{ijk} = animal k , no período j , recebendo o tratamento com a dose i de própolis verde;

e_{ijk} = erro aleatório associado à cada observação Y_{ijk} .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão das doses crescentes do extrato de própolis não influenciou ($p>0,05$) o balanço de nitrogênio (BN) em ovinos, com médias de 9,61 g/dia, 0,76 g/kg^{0,75} e BN de 50,79% do N ingerido (Tabela 1). Estes valores são superiores aos obtidos por Zeoula et al. (2006) e Santana et al. (2016), com médias de 44,27% e 32,29% do N ingerido, respectivamente.

Entretanto, o BN observado neste trabalho corrobora com Carvalho et al. (2015), com média de 52,33% do N ingerido. Essas diferenças observadas provavelmente se devem ao tipo de dieta fornecida aos animais, uma vez que o tipo de alimento influencia na disponibilidade de nutrientes a serem utilizados no rúmen. Aguiar et al. (2014), ao utilizarem um produto a base de própolis na ração de vacas leiteiras (PBP B1, PBP C1 e PBP C3), sugeriram que a própolis melhorou o metabolismo de N no rúmen, reduzindo as populações de bactérias produtoras de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), aumentando assim, o fluxo de proteína microbiana para o intestino.

Tabela 1 – Médias do nitrogênio (N) ingerido, N excretado nas fezes e urina e balanço de nitrogênio (BN) em g/dia, porcentagem do N ingerido e coeficientes de variação (CV) de ovinos recebendo própolis verde na ração.

Variáveis	Própolis verde (mg/dia)				CV (%)	Regressão
	0	200	400	600		
Nitrogênio ingerido						
g/dia	18,03	18,93	19,37	18,75	10,90	Y = 18,77
g/kg ^{0,75}	1,43	1,52	1,58	1,46	9,64	Y = 1,50
Nitrogênio fecal						
g/dia	5,46	4,88	5,34	4,73	20,36	Y = 5,10
g/kg ^{0,75}	0,43	0,39	0,44	0,36	21,35	Y = 0,40
% N ingerido	30,69	25,41	27,95	25,16	19,88	Y = 27,30
Nitrogênio urinário						
g/dia	4,85	4,18	3,54	4,29	25,46	Y = 4,22
g/kg ^{0,75}	0,39	0,33	0,29	0,34	26,80	Y = 0,33
% N ingerido	27,38	22,32	18,69	22,89	28,60	Y = 22,82
Balanço de nitrogênio						
g/dia	8,17	10,09	10,47	9,72	21,84	Y = 9,61
g/kg ^{0,75}	0,64	0,80	0,85	0,76	19,32	Y = 0,76
% N ingerido	44,47	53,40	53,34	51,94	15,80	Y = 50,79

Fonte: elaborado pelo autor

Aguiar et al. (2014) também verificaram que um dos PBP C1 reduziu a concentração média de N-NH₃ no rúmen, mostrando que a própolis tem efeito positivo no metabolismo proteico de ruminantes. Estes resultados não corroboram com o presente estudo, e isto pode ter ocorrido devido a vários fatores, tais como a razão álcool:água usada para a extração dos compostos ativos da própolis, concentração de própolis utilizada para extração, doses fornecidas aos animais, entre outros.

Oliveira et al. (2004), ao estudarem o efeito da monensina sódica e extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da PB de diferentes fontes de N (tripticase, farelo de soja e farinha de peixe), observaram que a própolis foi mais eficiente do que a monensina em manter maiores concentrações de proteína solúvel no início das incubações, pois causou a redução da atividade de desaminação, a qual aumentou a degradação da farinha de peixe e a concentração de proteína solúvel no meio.

No presente estudo, as perdas de N pelas vias fecal e urinária correspondem a 27,30% e 22,82% do N ingerido, respectivamente, indicando que 50,12% do N ingerido foi perdido nas fezes e na urina. Apesar do volumoso utilizado (feno de *Panicum maximum* cultivar BRS *Tamani*) conter mais de 80% de FDN, considerado de baixa degradação no rúmen, observa-se um BN superior ao obtido na literatura. Estudos indicam que a taxa de degradação ruminal dos diferentes alimentos pode exercer um profundo efeito sobre a fermentação, produtos da fermentação e desempenho animal. Se a taxa de degradação proteica exceder a taxa de fermentação de carboidratos, grandes quantidades de N poderão ser perdidas como amônia; em contraposição a esta situação, se a taxa de fermentação dos carboidratos exceder a taxa de degradação da proteína, a produção de proteína microbiana pode ser reduzida (NOCEK; RUSSEL, 1988).

Uma outra possibilidade seria aquela em que os alimentos são degradados muito lentamente, então o efeito do enchimento ruminal poderá restringir o consumo; e, se a taxa de degradação for baixa, alguns dos alimentos poderá escapar da fermentação ruminal passando diretamente para o intestino; e este maior fluxo de proteína ao intestino pode ter contribuído com a maior retenção de N. Sabe-se, também, que os microrganismos que fermentam a celulose e hemicelulose multiplicam-se mais lentamente e utilizam amônia com fonte de N para a síntese de proteína microbiana. Os microrganismos que fermentam amido, pectina e açúcares, multiplicam-se mais rapidamente que os fermentadores de CF, e utilizam tanto a amônia (34%) quanto aminoácidos (66%) como fonte nitrogenada para síntese de proteína microbiana ruminal (RUSSELL et al., 1983).

Vale ressaltar que o consumo de N pelos animais (18,77 g/dia) também está abaixo do observado na literatura (Zeoula et al., 2006) com média de 31,68 g/dia; Carvalho et al. (2015) com média de 54,96 g/dia e Santana et al. (2016) com média de 22,24 g/dia), o que pode ter ocorrido devido ao alto teor de FDN do volumoso, causando enchimento ruminal e restringindo o consumo.

Caldas Neto et al. (2007), ao avaliarem a utilização de dietas com níveis crescentes de PDR associada a fonte de amido de alta degradabilidade ruminal, verificaram que esta associação influenciou na digestibilidade *in vitro* da MS, comprovando a possibilidade de existência de um nível de sincronização da liberação de N e energia no rúmen que permita maior digestibilidade ruminal da dieta. Arruda et al. (2005) relataram que a maximização da sincronização de proteína e carboidratos dietéticos no rúmen resulta na minimização das perdas nitrogenadas e aumento do processo microbiano.

Com relação à própolis verde, devido à complexidade em se obter um extrato “padrão” ou único em seu estudo como um aditivo natural, outras doses deste mesmo extrato devem ser testadas, assim como outras dietas (p.e., maiores quantidades de concentrado na ração) devem ser utilizadas, para uma melhor compreensão da forma de atuação da própolis sobre a microbiota ruminal.

5 CONCLUSÃO

A adição de doses crescentes de própolis em até 600 mg/dia à ração não altera o balanço de N em ovinos. Neste contexto, novos estudos são necessários acerca da utilização da própolis como aditivo natural, a fim de melhor elucidar seus efeitos sobre o metabolismo ruminal, principalmente quando dietas com excesso de CF (carboidratos fibrosos), são fornecidas aos animais.

REFERÊNCIAS

- AGA, H.; SHIBUYA, T.; SUGIMOTO, T.; KURIMOTO, M.; NAKAJIMA, S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian Propolis. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 58, p. 945-946, 1994.
- AGUIAR, M. S. M. A.; SIVA, F. F.; DONATO, S. L. R.; SCHIO, A. R.; SOUZA, D. D.; MENESES, M. A.; LÉDO, A. A. Síntese de proteína microbiana e concentração de ureia em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira *Opuntia*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 999-1012, 2015.
- AGUIAR, S.C.; PAULA, E.M.; YOSHIMURA, E.H. et al. Effects of phenolic compounds in propolis on digestive and ruminal parameters in dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.43, n.4, p.197-206, 2014.
- ALVES, A. A.; SALES, R. O.; NEIVA, J. N. M.; MEDEIROS, A. N.; BRAGA, A. P.; AZEVÊDO, D. M. M. R.; SILVA, L. R. F. Metabolismo de compostos nitrogenados em ovinos alimentados com dietas contendo vagens de faveira. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 4, p. 1051-1066, 2011.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 232-240, 2007.
- ARRUDA, A. M. V.; PEREIRA, S. E.; MIRANDA, L. F.; MIZUBUTI, I. Y.; MUNIZ, E. B.; PINTO, A. P. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n.1, p. 125-134, 2005.
- ASTANI, A.; ZIMMERMANN, S.; HASSAN, E.; REICHLING, J.; SENSCH, K. H.; SCHNITZLER, P. Antimicrobial activity of própolis special extract GH 2002 against multidrug-resistant clinical isolates. **Original Articles**, v. 68, p. 695-701, 2013.
- BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 9-21, 2005.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 10, p.3248-3254, 2003.

BERCHIELLI, T. T.; BERTIPAGLIA, L. M. A. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 295-330.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004. Aprova o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. In: **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 230, p. 1, 01 de dezembro 2004, seção 1.

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**, Jablonna, v. 87, n. 3-4, p. 263-277, 2000.

CALDAS NETO, S. F.; ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; BRANCO, A. F.; KAZAMA, R.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; FERELI, F. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 6, p. 1094-1102, 2008.

CALDAS NETO, S. F.; ZEOULA, L. M.; KAZAMA, R.; PRADO, I. N.; GERON, L. J. V.; OLIVEIRA, F. C. L.; PRADO, O. P. P. Proteína degradável no rúmen associada a fontes de amido de alta ou baixa degradabilidade: digestibilidade in vitro e desempenho de novilhos em crescimento. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 36, n. 2, o. 452-460, 2007.

CAPASSO, F.; CASTALDO, S. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Revista de Fitoterapia**, v.73, n. 1, p.1-6, 2002.

CARVALHO, J. T. H.; COSTA, F. G.; OLIVEIRA, E. B.; ROBERTO, L. S.; SANTOS, I. S.; SANTOS, N. S.; SANTANA, W. S. S.; GERON, L. V. G. Nitrogen balance of sheep fed diets containing residue from the extraction of tamarindo pulp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECCIA DIMENSÕES TECNOLÓGICAS E SOCIAIS DA ZOOTECCIA, 25, 2015, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Associação Brasileira de Zootecistas, 2015. p. 1-3.

CAVALCANTE, M. A. B.; PEREIRA, O. G.; FILHO, S. C. V.; RIBEIRO, K. G.; PACHECO, L. B. B.; ARAÚJO, D.; LEMOS, V. M. C. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 203-210, 2006.

CAVALCANTE, M. A. B.; PEREIRA, O. G.; FILHO, V. S. C.; RIBEIRO, K. G.; CHIZZOTTI, F. H. M.; PEREIRA, D. H. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: Consumo

e digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2200-2208, 2008.

DAWSON, K. A.; RASMUSSEN, M. A.; ALLISON, M. J. Digestive disorders and nutritional toxicity. **Journal of Animal Science**, v. 16, p. 633-660, 1997.

DOMINGUES, A. R.; SILVA, L. D. F.; RIBEIRO, E. L. A.; CASTRO, V. S.; BARBOSA, M. A. A. F.; MORI, R. M.; VIEIRA, M. T. L.; SILVA, J. A. O. Consumo, parâmetros ruminais e concentração de ureia plasmática em novilhos alimentados com diferentes níveis de torta de girassol em substituição ao farelo de algodão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1059-1069, 2010.

ECKLES, C. H.; WILLIAMS, V. M. Yesast a supplementary feed for lactating cows **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, p. 421-439, 1924.

ESTRADA, G. O. D.; MENDES DA SILVA, J. F.; ANTUNES, O. A. C. Artepillin C: review. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 5, p. 88-92, 2008.

FARIA, L. A. N.; BARBOSA, O. R.; ZEOULA, L. M.; AGUIAR, S. C.; PRADO, R. M.; BERTOLINI, D. A. Produto á base de própolis (LLOS) na dieta de bovinos inteiros confinados: comportamento animal e respostas sanguíneas. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 79-85, 2011.

FERREIRA, DANIEL FURTADO. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFPA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, J. M.; NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras verde e vermelha. **Revista Acta Apícula Brasilica**, Pombal, v. 06, n.1, p. 06-15, 2017.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. Análise de Própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 171-178, 2006.

FRANÇA, R. A.; RIGO, E. J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na nutrição de ruminantes. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 187-195, 2011.

FREITAS, J. A.; ANTONANGELO, R. P.; RIBEIRO, J. L.; JOSLIN, M.; NOGUEIRA, S. R. P.; SOUZA, J. C. Extrato etanoico de própolis na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 2, p. 333-343, 2009.

GERON, L. J. V.; ZEOLA, L. M.; YOSHIMURA, E. H.; FRANCO, S. L.; NETO, M. C.; PAULA, E. M.; SAMENSARI, R. B.; PERES, L. P.; Comportamento ingestivo de novilhas Nelore em pastejo recebendo suplemento a base de própolis ou monensina sódica. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 2047-2062, 2014.

GHISALBERTI, E.L. Própolis: a review. **Bee World**, v. 60, p. 59-84, 1979.

GONÇALVEZ, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, A. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 353-8, 2005.

GOMES, R. T.; TEIXEIRA, K. I. R.; CORTÉS, M. E.; SANTOS, V. R. Antimicrobial activity of a propolis adhesive formulation on diferente oral pathogens. Brazilian **Journal of Oral Science**, Minas Gerais, v. 6, p. 1387-1391, 2007.

GRUNBERGER, D.; BANERJEE, R.; OLTZ, E. M.; CALDWELL, M.; ESTEVEZ, V.; NAKANISHI, K. Prefetential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from própolis. **Experientia**, v. 44, p. 230-232, 1988.

GULCIN, I.; BURSAL, E.; SEHITOGLU, M. H.; BILSED, M.; GOREN, A. C. Polyphenol contentes and antioxidante activity of lyophilized aqueous extract of própolis from Erzurum, Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, Catalonia, v. 48, p. 2227-2238, 2010.

HEIMBACH, N. S.; ÍTAVO, C. C. B. F.; ÍTAVO, L. C. V.; FRANCO, G. L.; LEAL, C. R. B.; LEAL, E. S. S.; SILVA, P. C. G.; REZENDE, L. C.; SILVA, J. A. Resíduo da extração de própolis marrom na dieta de ruminantes: digestibilidade e produção de gás *in vitro*. **Archivos de Zootecnia**, Campo Grande, v. 63, p. 259-267, 2014.

HINO, T.; RUSSEL, J.B. Relative contribution of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 261-270, 1987.

HOULIHAN, J. A.; RUSSELL, J. B. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, p. 623-628, 2003.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminants in developing countries**. Logan: 49 Utah State University / International Feedstuffs Institute, 1982. 381p.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in própolis collected by two diferente varieties of bees in the same region. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 367-369, 1996.

KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the origin of Brazilian Propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 6, p. 740-742, 2003.

LADEIRA, M. M.; RODRIGUEZ, N.M.; BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; SALIBA, E. O. S.; MIRANDA, L. F. Balanço de nitrogênio, degradabilidade de aminoácidos e concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen de ovinos alimentados com feno de *stylosanthes guianensis*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2357-2363, 2002.

LANA, R. P.; RUSSELL, J. B. Efeitos as monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 254-260, 2001.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDOU, K. P.; NETO, P. J. R. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 3, p. 447-453, 2008.

MACHADO, B. A. S.; CRUZ, L. S.; NUNES, S. B.; GUEZ, M. A. U.; PADILHA, F. F. Estudo prospectivo da própolis e tecnologias correlatas sob o enfoque em documentos de patentes depositados no Brasil. **Revista Geintec**, São Cristóvão, v. 2, n. 3, p. 221-235, 2012.

MARCUCCI, M.C. Própolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Revista Apidologie**, v.26, p. 83-99, 1995.

MARKHAM, K. R.; MITCHELL, K. A.; WILKINS, A. L.; LUNZ, Y. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in new Zealand propolis. **Phytochemistry**, v.42, n.1, p. 205-211, 1996.

MATIAS, I. M.; BUOSI, A. S.; GOMES, F. C. A. Functions of flavonoids in the central nervous system: Astrocytes as targets for natural compounds. **Journal Homepage**, v. 95, p.85-91, 2016.

MATSUDA, A. H.; MASTRO, N. L. D. **Estabilidade de compostos fenólicos da própolis processada por radiação ionizante**, São Paulo, 2002. Disponível em: <<https://www.ipen.br/biblioteca/2002/inac/08828.PDF>> Acesso em 06 de maio de 2019.

MENDONÇA, L. S.; ARAUJO, M. Y. L. F.; ORELLANA, S. C.; CARDOSO J. C.; ARAUJO, E. D. Influência da coloração de frações cromatográficas na atividade antimicrobiana de própolis vermelha. **Scientia Plena**, Aracaju, v.7, n.10, p.1-6, 2011.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.

NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R.; MORAIS, S. A. L.; VELOSO, P. D.; REIS, D. C. Um marcador químico de fácil detecção para própolis de Alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 379-386, 2008.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. 1 ed. Campo Grande, 2001, 54 p.

NOCEK, J. E.; RUSSELL, J. B. Protein and energy na integrated system relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 71, p. 2070-2107, 1988.

OLIVEIRA, A. P.; REIS, R. A.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; MELO, G. M. P.; BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, J. A.; CASAGRANDE, D. R.; BALSALOBRE, M. A. A. Substituição de monensina sódica por bicarbonato de sódio em dietas de novilhas confinadas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 4, p. 1149-1157, 2013.

OLIVEIRA, O. A. M.; AMARAL, A. G.; PEREIRA, K. A.; CAMPOS, J. C. D.; TAVEIRA, R. Z. Utilização de aditivos modificadores da fermentação ruminal em bovinos de corte. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 12, n. 1, p. 287-311, 2019.

OLIVEIRA, J. S.; LANA, R. P.; BORGES, A. C.; QUEIROZ, A. C.; ALMEIDA, I. C. C. Efeito da Monensina e Extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 504-510, 2004.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária REDVET**, Espanha, v. 6, n. 11, p.1-7, 2005. Disponível em: < <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111105/110505.pdf> >. Acesso em: 05 de maio de 2019.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2502-6, 2002.

PARK, Y. K.; GUZMAN, P. J. F.; ALENCAR, S. M. FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n.5, p. 1100-1103, 2004.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. de. Classificação da própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, Campinas-SP, v.58, p.2-7, 2000.

PEIXOTO, J. P. N.; RODRIGUES, A. E.; GOIS, G. C. Efeito da própolis de abelhas africanizadas em microrganismos do líquido ruminal. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.1, p.86-90, 2010.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. A. Própolis; 100 anos de pesquisas e suas perspectivas futuras. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, J. C.; ALMEIDA, M. S.; CECON, P. R.; QUEIROZ, A. C. Dinâmica da degradação ruminal por novilhos mantidos em pastagens natural, em diferentes épocas do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 740-748, 2002.

PEREIRA, K. P.; VÉRAS, A. S. C.; FERREIRA, M. A.; BATISTA, A. M. V.; MARQUES, K. A.; FOTIUS, A. C. A. Balanço de nitrogênio e perdas endógenas em bovinos e bubalinos alimentados com níveis crescentes de concentrado. **Acta Science Animal Science**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 433-440, 2007.

PESSOA, R. A. S.; LEÃO, M. I.; FERREIRA, M. A.; VALADARES, S. C. F.; VALADARES, R. F. D.; QUEIROZ, A. C. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e ureia associados a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 941-947, 2009.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Lavras, v VIII, p. 76-100, 2011. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/269826313_PROPRIEDADES_USOS_E_APLICA_COES_DA_PROPOLIS>. Acesso em 03 de maio de 2019.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.6, p.278-283, 2001.

RÍSPOLI, T. B.; RODRIGUES, I. L.; NETO, R. G. M.; KAZAMA, R.; PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; ARCURI, P. B. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 92-97, 2009.

RUSSELL, J. B.; CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; SOEST, V. P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal Fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

RUSSELL, J.B.; SNIFFEN, C.J.; Van SOEST, J.P. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.3, p.763-782, 1983.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, p. 255-286.

SANTOS, G. T.; CAVALIERI, F. L. B.; MODESTO, E. C. Recentes avanços em nitrogênio não proteico na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE: NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO. UFLA, p. 199-228, 2001. **Anais...** Maringá- PR. Disponível em < <http://www.nupel.uem.br/recentes.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

SANTANA, W. G. S.; CHAVES, P. C.; SILVA, N. A. F.; MENDES, G. R.; SANTOS, I. S.; SANTOS, M. M.; AGUIAR, S.C.; GERON, L.J.V. Adição de farelo de casca de maracujá (*Passiflora edulis*) em doses crescentes na dieta de ovinos sobre o balanço de nitrogênio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 26, 2016, Santa Maria. **Anais...** Universidade Federal Santa Maria, 2016. p. 1-3.

SHIMIZU, K.; ASHIDA, H.; MATSUURA, Y.; KANAZAWA, K. Antioxidative bioavailability of artemisin C in Brazilian propolis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 424, p.181-188, 2004. Disponível em < www.elsevier.com/locate/yabbi>. Acesso em: 03 de setembro de 2019.

SHIMIZU, K.; DAS, S. K.; HASHIMOTO, T.; SOWA, Y.; YOSHIDA, T.; SAKAI, T.; YUKINAGA, M.; KANAZAWA, K. Artemisin C in Brazilian Propolis Induces G₀/G₁ Arrest via Stimulation of Cip 1/ p 21 Expression in Human Colon Cancer Cells. **Molecular Carcinogenesis**, v. 44, p. 293-299, 2005.

SILVA, R. P. D.; MACHADO, B. A.; COSTA, S. S.; BARRETO, G. A.; PADILHA, F. F.; GUEZ, M. A. U. Aplicação de extrato de própolis em produtos alimentícios: Uma prospecção baseada em documentos de patentes. **Revista Virtual de Química**, Aracaju- SE, v. 8, n. 5, p.

1251-1261, 2016. Disponível em < <http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v8n5a02.pdf>>. Acesso em 30 de setembro de 2019.

SILVA, S. C. C.; GASPARINO, E.; VESCO, A. P. D.; ZEOULA, M. L.; TANAMATI, F.; GARCIA, A. L. S. Efeito do uso de própolis sobre a presença de bactérias gram-positivas e negativas no líquido ruminal de bovinos. **Acta Tecnológica**, v. 11, n. 2, 2016.

SIMÕES, L. M. C.; GREGÓRIO, L. E.; SILVA, F. A. A.; SOUZA, M. L. AZZOLINI, A. E. C. S.; BASTOS, J. K.; VALIM, M. Y. Effect of Brazilian green própolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 59-65, 2004.

SOARES, M. S.; SILVA, L. G.; FRAZÃO, O. S.; NASCIMENTO, A. L. S. Aditivos alimentares na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.12, n.04, p. 4162-4174, 2015. Disponível em: <www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/ARTIGO314B.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2019.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v.15, p. 71-81, 2002.

SOUZA, J. P. B.; FURTADO, N. A. J. C.; JORGE R.; SOARES, A. E. E.; BASTOS, K. B. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 17, p. 85-93, 2007.

STELZER, F. S.; LANA, R. P.; CAMPOS, M. S.; MANCIO, A. B.; PEREIRA, J. C.; LIMA, J. G. Desempenho de vacas leiteiras recebendo concentrado em diferentes níveis, associado ou não a própolis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n.7, p. 1381-1389, 2009.

STRADIOTTI, J. D.; QUEIROZ, A. C.; LANA, R. P.; PACHECO, C. G.; CAMARDELLI, M. M. L.; DETMANN, E.; EIFERT, E. C.; NUNES, P. M. M.; OLIVEIRA, M. V. M. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de Diferentes Alimentos pela Técnica de Produção de Gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 1093-1099, 2004.

SPRING, O. Chematoxonomy based on metabolites from glandular trichomes. **Advances in Botanical Research**, v. 31, p. 153-74, 2000.

SZLISZKA, E.; ZYDOWICZ, G.; MIZGALA, E.; KROL, W. Artepillin C (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL- induced apoptosis. **International Journal Of Oncology**, v. 41, p. 818-828, 2012.

TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal Of Animal Science**, v. 49, n. 6, 1979.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.11, p.3583-3597, 1991.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Influence of antibiotics and a deaminase inhibitor on volatile fatty acids and methane production from detergent washed hay and soluble starch by rumen microbes *in vitro*. **Animal Folding Science Technology**, v. 37, p. 21-31, 1992.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; VIANNA, L. R. Atividade antimicrobiana in vitro de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 159-163, 2004.

WALLACE, R. J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of the nutrition society**, London, v. 63, p. 621-629, 2004.

ZAWADZKI, F.; PRADO, I. N.; MARQUES, J. A.; ZEOULA, L. M.; ROTTA, P. P.; SESTARI, B. B.; VALERO, M. V.; RIVAROLI, D. C. Sodium monensina or própolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 20, p. 16-25, 2011.

ZEOULA, L. M.; BELEZE, J. R. F.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; PRADO, I. N.; PAULA, M. C. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v. 37, n.3, p. 563-571, 2008.

ZEOULA, L. M.; FERELI, F.; PRADO, I. N.; GERON, L. J. V.; NETO, S. F. C.; PRADO, O. P. P.; MAEDA, E. M. Digestibilidade e balanço de nitrogênio de rações com diferentes teores de proteína degradável no rúmen e milho moído como fonte amido em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 2179-2186, 2006.