

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**METABOLISMO DO CROMO ORGÂNICO E SEU EFEITO SOBRE A FAUNA  
RUMINAL DE CORDEIROS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**José Francisco Xavier da Rocha**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

**METABOLISMO DO CROMO ORGÂNICO E SEU EFEITO SOBRE  
A FAUNA RUMINAL DE CORDEIROS**

por

**José Francisco Xavier da Rocha**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Clínica Médica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

**Orientadora: Marta Lizandra do Rêgo Leal.**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2013**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Departamento de Clínica de Grandes Animais**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada  
Aprova a Dissertação de Mestrado

**METABOLISMO DO CROMO ORGÂNICO E SEU EFEITO SOBRE A FAUNA  
RUMINAL DE CORDEIROS**

Elaborado por  
**José Francisco Xavier da Rocha**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**Comissão Examinadora**

---

**Marta Lizandra do Rêgo Leal, UFSM**  
(Presidente/orientadora)

---

**José Francisco Manta Bragança**

---

**Marcelo da Silva Cecim**

Santa Maria, 28 de Fevereiro de 2013.

*“É necessário que as coisas  
acabem, para que coisas  
novas aconteçam...”*  
*(Eckhart Tolle)*

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus por ter me dado forças nas dificuldades pessoais e profissionais e ter me dado serenidade em continuar em frente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Lisia Helena Flores Saenger e José Antônio Xavier da Rocha pelos conselhos, auxílios e palavra amiga quando eu mais precisava. Vocês são responsáveis diretos por mais esta conquista.

Aos meus irmãos Otacílio e Ricardo, sabemos o quanto somos importantes um para o outro e que sempre estamos juntos nas dificuldades e nas alegrias. Amo vocês.

A minha noiva Giovana, por ter aceitado fazer parte deste meu sonho vindo a Santa Maria de olhos fechados sem saber o que estava por vir, pelo companheirismo, amizade e principalmente paciência.

A minha orientadora Professora Marta, pela amizade, mas principalmente por me mostrar a importância de detalhes que podem fazer a diferença lá na frente em nosso futuro. Obrigado por sua amizade, foi um grande prazer ter sido seu orientado nessa etapa.

Aos professores Marcelo e Alfredo pela amizade e convívio, estando sempre os dois disponíveis para auxiliar em algum problema que estamos enfrentando.

Aos meus colegas de pós-graduação, Adelina, Cunha e Andressa, sempre dispostos a ajudar cada um com sua disponibilidade e tempo. Agradeço pela ajuda e por terem sido meus companheiros nesta etapa da minha vida.

Ao professor Gilberto pelo fornecimento da área experimental, assim como as sugestões para o presente estudo. E seus estagiários especialmente o Vinicius (*in memorian*) sempre solícito em me auxiliar nas análises realizadas.

Ao Matheus do Laboratório de Química da Universidade Federal de Santa Maria por auxiliar na mensuração de cromo durante todo o experimento.

A todos os estagiários e ao residente da Clínica médica de ruminantes que conviveram comigo na época do experimento, Douglas, Rafael, Carol, Filipo, Fernanda (*in memorian*), Azael, Vivi, Rosana, Carpes, Marcos, Gabi e Miguel por sempre estarem dispostos a ajudar.

A Noxon Química e Farmacêutica LTDA empresa em qual trabalhei e que me possibilitou realizar grande parte do meu mestrado.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### **METABOLISMO DO CROMO ORGÂNICO E SEU EFEITO SOBRE A FAUNA RUMINAL DE CORDEIROS**

AUTOR: José Francisco Xavier da Rocha  
ORIENTADORA: MARTA LIZANDRA DO RÊGO LEAL  
Santa Maria, 28 de fevereiro de 2013.

A utilização de microminerais em animais de produção é tema de estudo de diversos pesquisadores que buscam com esses elementos potencializar o desempenho produtivo e reprodutivo de rebanhos. Porém, ainda são poucos os trabalhos relacionados ao metabolismo de minerais em ovinos, o que dificulta muitas vezes, a adequada interpretação de resultados obtidos em pesquisas. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi de avaliar o metabolismo do cromo orgânico e seu efeito sobre a concentração de protozoários ruminais. Para tanto, foram utilizados quatro cordeiros machos com quatro meses de idade e 28 quilos. Os animais foram alocados em gaiolas metabólicas por um período de adaptação de quinze dias e mais cinco dias de período experimental, totalizando 20 dias em dois momentos com tratamentos invertidos totalizando quatro animais por grupo. O mineral foi administrado mediante a infusão de um miligrama da levedura rica em cromo (*Sacharomices cerevisae*), via intraruminal, durante todo o período adaptativo e experimental. Foram avaliados os índices de matéria seca (MS) da dieta e das fezes dos animais para estimar o consumo, a digestibilidade e a produção fecal. Sangue, fezes e urina foram coletados, a cada 24 horas, durante o período experimental para determinar a excreção de cromo. As coletas de suco de rúmen foram realizadas nos dias zero, três e cinco do experimento. Não houve detecção de teores de cromo na urina dos animais tratados e não foi detectado resquícios do mineral no plasma sanguíneo. A excreção foi basicamente fecal. Os cordeiros do grupo tratado apresentaram maiores teores de cromo nas fezes do que os animais do grupo controle nos dias zero e 3. O uso do cromo orgânico promoveu um acréscimo no consumo de MS nos animais no dia zero ( $P < 0,05$ ). A produção fecal de MS do grupo suplementado foi maior que aquela observada nos animais do grupo controle nos dias 1, 2, 3 e 4 ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença na digestibilidade, no consumo de MS e na concentração de protozoários ruminais, entre os grupos, durante o período experimental. Observou-se alta correlação positiva entre digestibilidade e produção MS ( $r = 0,82$ ). O cromo orgânico (1 mg) suplementado na dieta de cordeiros não foi absorvido e não causou efeito sobre a fauna ruminal.

## ABSTRACT

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### **METABOLISM OF ORGANIC CHROMIUM AND ITS EFFECT IN THE RUMINAL FAUNA OF LAMBS**

AUTOR: José Francisco Xavier da Rocha  
ORIENTADORA: MARTA LIZANDRA DO RÊGO LEAL  
Santa Maria, 28 de fevereiro de 2013.

The use of micro minerals in farm animals is widely studied in order to enhance the production and the reproductive performance of these animals. However, considering small ruminants, information about minerals metabolism is scant. Thus, the aim of this study was to evaluate the metabolism of chrome and its effect in the ruminal fauna of lambs. A total of four male lambs 4 months old and with a mean weight of 28 Kg were used in this study. Animals were maintained in metabolic cages during a period time of 20 days (i.e., 15 days of adaptation period and 5 days of experimental period). The mineral was administered through infusion of one milligram of yeast rich in chrome (*Sacharomices cerevisae*), in the rumen during whole study period. It were evaluated the dry matter (DM) rate of the animals diet and feces in order to estimate the ingestion, digestibility and fecal production. Blood, feces and urine samples were collected every 24 hours during the experiment to determine the chrome excretion. The ruminal fluid was collected at different time points, i.e., day 0, +3 and +5 after begin of the experiment. No alterations were observed in the chrome excretion in the urine, at the same time, it was not detected the mineral (i.e., chrome) in the plasma, being this excretion basically fecal. Animals from treated group presented a higher excretion of chrome than those belong to the control group at day 0 and +3. The utilization of organic chrome allowed an increase in the ingestion of dry matter (DM) at day 0 ( $P < 0.05$ ). The fecal production of DM in the supplemented group was higher than those observed in the control group in the days 1, 2, 3 and 4 ( $P < 0.05$ ). It was not detected difference in the digestibility, DM ingestion and ruminal fauna during the study. In conclusion, lambs supplemented with organic chrome did not absorb this mineral, consequently, no alteration was observed in the ruminal fauna.

## **LISTA DE TABELAS**

### **CAPÍTULO 2**

TABELA 1 - Effect of chromium rich yeast supplementation on the concentration of ruminal protozoa, volume of urine, production of feces, digestibility and excretion of chromium in the feces.....	32
--	----



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - Chrome excretion rates and production of fecal dry material .....31

## LISTA DE ABREVIATURAS

MS	-	Matéria Seca
Cr	-	Cromo
Cr <sup>+3</sup>	-	Cromo Trivalente
CrPic	-	Cromo Picolinato
GMD	-	Ganho Médio Diário
pH	-	Potencial de Hidrogênio

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
2.	<b>CAPÍTULO 1</b> .....	13
	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
	2.1. Cenário da ovinocultura .....	13
	2.2. Cromo e função orgânica .....	14
	2.3. Fontes de Cromo e Metabolismo .....	15
	2.4. Avaliação do Cromo excretado .....	16
	2.5. Toxicidade do Cromo .....	16
	2.6. Cromo e Parâmetros produtivos .....	17
	2.7. Cromo e Microbiota Ruminal .....	18
3.	<b>CAPÍTULO 2</b> .....	19
	<b>MANUSCRITO</b> .....	19
	Abstract .....	20
	Introduction .....	21
	Materials and Methods .....	22
	Results and Discussion .....	24
	Conclusion .....	28
	References .....	28
4.	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	35
5.	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	36

## 1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade que nos últimos anos apresentou uma evolução nos sistemas de criações. Paralelamente, vem-se buscando alternativas nutricionais que possam auxiliar na melhora da performance e saúde dos animais. Dentro deste conceito, estudos relacionados a este tema tornam-se muito importantes dentro da atividade, principalmente em relação ao uso de minerais na dieta dos animais.

A ação dos microminerais na produção animal vem sendo estudada nos últimos anos com o intuito de promover uma ação nutracêutica, auxiliando em doenças e, principalmente, buscando melhorar o desempenho produtivo dos ruminantes. Porém, é importante determinar com exatidão o metabolismo dos minerais, a fim de melhorar o seu aproveitamento no organismo animal. Dentro deste contexto, o cromo aparece como alternativa na melhora da síntese de glicose dos animais, facilitando a entrada da mesma dentro da célula (MERTZ, 1993). O cromo é um mineral traço o qual recentemente vem sendo utilizado na dieta de animais de produção com o intuito de melhorar o ganho de peso e a resposta imune de animais (JOHNSON, 2001).

Pouco são os trabalhos que abordam o metabolismo do cromo no organismo animal. A maioria se detém a citar o efeito deste mineral na resposta imune e eficácia de vacinas (GIACOMETTI et al., 2006; BURTON et al., 1994). Nesses estudos não existem dados quanto à excreção e absorção deste mineral, bem como seus teores na dieta. A falta desses dados dificulta a interpretação dos resultados encontrados, já que diversos fatores podem interferir no metabolismo do cromo e na sua absorção. A quantidade de cromo dietético absorvido depende também da origem do mineral ofertado, sendo que o cromo de origem orgânica é reconhecidamente de melhor absorção que os de fontes inorgânicas (ANDERSON et al., 1998).

Entre as fontes orgânicas de cromo, as mais utilizadas em estudos são o picolinato de cromo e a levedura rica em cromo *Sacharomices cerevisiae* as quais são ditas como as que geram as melhores taxas de absorção em seres vivos (LYONS, 1997). Já o cromo de origem inorgânica não é absorvido pelos animais sendo excretado via fezes (DAVIS et al., 1995). Além do cuidado com a escolha da fonte de cromo a ser adicionada na dieta dos animais, é importante avaliar qual a ação do mesmo na fauna ruminal, já que pesquisas apontaram que o picolinato de cromo, quando administrado

em altas doses, por um longo período, pode causar efeito deletério nos protozoários ruminais (DALLAGO, 2008).

Pela grande carência de estudos acerca da absorção e excreção do cromo em ruminantes, este estudo teve por objetivo avaliar o metabolismo do cromo orgânico em cordeiros, mediante suplementação com levedura rica em cromo *Sacharomices cerevisae*, bem como avaliar o efeito desse mineral na fauna ruminal.

## **2. CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO DE LITERATURA**

#### **2.1. Cenário da Ovinocultura**

A ovinocultura brasileira passou nos últimos anos por uma série de mudanças de paradigmas culturais, focando cada vez mais em manejos eficientes aumentando a lucratividade da criação. Prova disso é a evolução do rebanho ovino brasileiro, o qual no ano de 2010 contava com 16,8 milhões de cabeças aumentando para 17,3 milhões de animais no ano de 2011. O Rio Grande do Sul representa 32,57 % do rebanho nacional, tornando-se o Estado com maior número de animais (IBGE, 2012).

O desenvolvimento da cadeia de carne é diretamente relacionado com o manejo nutricional dos animais nas propriedades. É de vital importância que as exigências energéticas, proteicas e minerais estejam nos teores recomendados para a espécie, respeitando sua idade e aptidão (ALBUQUERQUE et al., 2005).

Neste contexto, visando aumentar a produtividade nas criações de ovinos, a nutrição é uma das áreas de estudo mais importantes a ser desenvolvida, pois é a base necessária para que a sanidade e a reprodução possam ser otimizadas (CEPEA, 2012). Mesmo com a criação de novas tecnologias relacionadas à produção de cordeiros, a carne ovina brasileira, apesar de estar em um momento de evolução econômica, ainda não tem capacidade para competir com o mercado externo (SOUZA, 2006).

Seguindo esta tendência, um dos pontos estudados na nutrição é a ação dos minerais sobre a produção e saúde animal. A sua utilização em dietas está diretamente relacionada a algumas funções orgânicas que os mesmos podem auxiliar como melhora da imunidade e da performance produtiva e reprodutiva de rebanhos (LAMB et al., 2008). De acordo com MORAIS (2001) a absorção mineral pelo organismo pode ser comprometida por uma série de fatores como estado do animal, idade, dieta e fonte do mineral ofertada. Por esses motivos o conhecimento do metabolismo e requerimento dos minerais utilizados na dieta é de grande importância para melhorar a eficiência dos mesmos pelo organismo animal (O'DELL, 1984).

## 2.2. Cromo e função orgânica

O cromo (Cr) é um mineral traço essencial para o organismo e que segundo GIACOMETTI et al. (2006) pode ter efeitos benéficos sobre a resposta imune em bovinos. É um elemento que atua diretamente potencializando a ação da insulina, na captação de glicose pela célula, bem como auxilia no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (MERTZ, 1993). Segundo MALLARD e BORGS (1997), a ação do Cr frente à insulina é uma das funções mais importantes deste mineral.

Em ruminantes ele atua no metabolismo energético, na prevenção da cetose, auxilia no metabolismo proteico e na diminuição do índice de gordura na carcaça (CARVALHO et al., 2003). Este mineral tem sido avaliado na nutrição de humanos e, mais recentemente, na produção de animais (JHONSON, 2001). Apesar de diversas empresas apresentarem formulações contendo esse mineral, ainda não existe a determinação exata do requerimento desse elemento para ovinos (NRC, 1996). A falta desse dado dificulta a realização de experimentos relacionados com o cromo nessa categoria animal.

O Cr possui também ação antioxidante quando fornecido em sua forma trivalente ( $\text{Cr}^{+3}$ ), além de ser extremamente importante na ativação de diversas enzimas (TEZUKA et al., 1991). Mesmo com alguns estudos contraditórios, esse mineral na sua forma de levedura demonstrou uma boa ação na resposta imunitária de bovinos após aplicação de vacina antirrábica (GIACOMETTI et al., 2006). Em estudo com bovinos submetidos a estresse de transporte, o Cr ligado a levedura *Sacharomices cerevisiae* foi melhor absorvido diminuindo os índices de cortisol de animais melhorando sua condição (MOONSIE-SHAGEER e MOWAT, 1993).

BOREL e ANDERSON (1984) observaram que o cromo possui ação importante na ativação de enzimas e na manutenção da estabilidade de proteínas e ácidos nucleicos. Algumas funções deste mineral ainda não estão bem definidas. BURTON et al. (1993) levantam a hipótese de que o cromo atuaria como um fator anti-estresse atuando diretamente no cortisol, porém ainda não existem dados suficientes que comprovem esta função.

### 2.3. Fontes de cromo e metabolismo

Este elemento é encontrado na forma oxidada sendo a trivalente a mais estável e a hexavalente a de melhor taxa de absorção (McDOWELL, 1992). O cromo é encontrado no ambiente sob duas apresentações, a orgânica e inorgânica, o que está diretamente relacionado com as taxas de absorção desse mineral. As fontes orgânicas, onde se enquadram o picolinato de cromo (CrPic) e a levedura rica em cromo orgânico, possuem os melhores índices de absorção desse elemento e são as mais utilizadas na dieta dos animais, bem como em estudos com ruminantes. Outras fontes orgânicas são a cromo-L-metionina e o complexo cromo-ácido nicotínico (ANDERSON et al., 1998).

Dentre as fontes inorgânicas, a mais conhecida é o cloreto de cromo, o qual é transformado em óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). O óxido crômico possui excreção basicamente fecal, sendo utilizado como marcador em ensaios de digestibilidade de alimentos em ruminantes (RODRÍGUEZ et al., 2006). O Cromo inorgânico apresenta uma menor absorção, na ordem de 1 a 3%, sendo pouco utilizado na nutrição animal (ANDERSON e KOZLOVSKY, 1985). Nos alimentos as maiores concentrações de cromo são encontradas nas forragens. Já grãos, frutas e outros alimentos apresentam concentrações variadas desse mineral (ANDERSON et al., 1992).

O metabolismo do cromo dietético ainda não está totalmente elucidado em ruminantes. Em estudo realizado com roedores observou-se que o cromo é primeiramente absorvido no intestino delgado (CHEN et al., 1973). Após absorvido, o mesmo se liga a  $\beta$ - globulinas no plasma sanguíneo sendo carreado para o resto do organismo (ANDERSON, 1987).

O cromo plasmático, após ser utilizado em funções orgânicas, é rapidamente depurado pelos rins, porém alguns tecidos possuem a capacidade de manter estoques de cromo que podem durar até 85 dias após a sua administração (BOREL e ANDERSSON, 1984). As fontes inorgânicas do cromo, por ter pouca ou nenhuma absorção orgânica são excretadas via fezes em até 24 horas depois de ingeridas (RODRÍGUEZ et al., 2006).

A avaliação da dinâmica que este mineral realiza dentro do organismo é pouco estudada em ruminantes. A espécie que se têm mais relatos são os ratos, os quais possuem absorção primária do cromo no intestino delgado (NIELSEN et al., 2009). Estes mesmos autores relataram que a taxa de absorção intestinal pode não estar



relacionada com a quantidade de Cr consumida, principalmente em situações em que os animais não estão submetidos a uma situação de estresse.

#### **2.4. Avaliação de cromo excretado**

A determinação da quantidade absorvida dos microminerais em ensaios experimentais é uma das grandes dificuldades encontradas na avaliação dos resultados dos mesmos. A escassez de estudos realizados com Cr, estimando o grau de absorção desse mineral é o principal fator de divergências entre os estudos existentes (DALLAGO, 2011). Este mesmo autor aventa a hipótese de que para se determinar corretamente os índices de absorção do Cr, é necessário que os animais estejam envolvidos em um processo de estresse.

O depósito de Cr nos tecidos orgânicos é mínimo, por este motivo o mesmo quando administrado, via dieta, necessita de análises específicas para sua determinação. O principal método utilizado para a determinação de excreção de Cr é a técnica de espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (MATTOS et al., 2007). Porém, mais recentemente outras técnicas foram elaboradas, mas o desconhecimento da eficácia das mesmas ainda são fatores que dificultam a realização das mesmas em ensaios experimentais (MULLICK et al., 2008). A avaliação de Cr excretado, assim como qualquer mineral traço necessita uma série de cuidados especiais como o cuidado para evitar a contaminação das amostras, higiene no laboratório, principalmente quando os mesmos são avaliados no sangue dos animais (MERTZ, 1993).

#### **2.5. Toxicidade do cromo**

As situações de toxicidade quando da utilização de Cr, está diretamente relacionada à forma como ele é suplementado, sendo que no estado  $\text{Cr}^{+3}$  são mínimas as chances de intoxicação (McDOWELL, 1992). Na forma orgânica hexavalente ( $\text{Cr}^{+6}$ ), apesar de apresentar a melhor taxa de absorção, há maior probabilidade de haver toxicidade desse mineral (ANDERSON e MERTZ, 1997). Em estudo realizado em ratos SOUDANI et al. (2011) observaram grande produção de radicais livres quando os animais foram expostos ao cromo em sua forma hexavalente.

Em intoxicações experimentais com cobaias submetidas a formas  $\text{Cr}^{+6}$  observou-se a ocorrência de lesões hepáticas, bem como comprometimento testicular, levantando a hipótese de que suplementações com quantidades elevadas de cromo por longos períodos podem interferir na reprodução dos animais (PEDRAZA-CHAVERRI et al., 2005).

Efeitos tóxicos relacionados a fontes de  $\text{Cr}^{+3}$  são bem menos relatados na literatura. Porém, alguns pesquisadores buscaram estudar a ação tóxica do cromo trivalente sobre ovários de ratas com consequente redução da eficiência reprodutiva (STEARNS et al., 1995). Em estudo recente realizado em suínos não foi identificado qualquer possível dano no organismo dos animais suplementado com  $\text{CrPic}$  (BI et al., 2008). Pensando basicamente em fontes orgânicas, existem poucos estudos avaliando sua ação tóxica, principalmente em humanos, animais domésticos e em ruminantes. Os trabalhos existentes são basicamente *in vitro* em roedores (STEARNS et al., 2002). A carência de estudos acerca do metabolismo do cromo orgânico dificulta uma adequada avaliação da suplementação desse mineral a curto e médio prazo, assim como possíveis quadros de toxicidade relacionados a ele (DALLAGO, 2011).

## **2.6. Cromo e parâmetros produtivos**

A utilização de microminerais em animais de produção é motivo de estudos de muitos pesquisadores que buscam uma ação nutracêutica dos mesmos, buscando melhorar os parâmetros produtivos. Os minerais estão diretamente relacionados com uma nutrição adequada e, conseqüentemente, interferem no ganho médio diário (GMD), consumo e desenvolvimento de animais de produção (SOLAİMAN et al., 2006).

Alguns estudos com diferentes espécies levantam a hipótese de que o cromo somente terá uma ação benéfica na produção quando estiver presente um fator estressante (KEGLEY et al., 1997; MOONSIE-SHAGEER e MOWAT, 1993). No entanto, a utilização de fontes de cromo cada vez mais faz parte da dieta em animais de produção. Estudos em bovinos adultos demonstraram aumento no ganho de peso final quando os animais foram suplementados com cromo orgânico (MOWATET al., 1997; ARAGON et al., 2001). Em pesquisa realizada com bezerros em engorda, foi verificado que a suplementação da levedura rica em cromo aumentou o ganho de peso diário e o consumo médio dos animais nos primeiros 33 dias após o início da oferta da dieta

(MOONSIE-SHAGEER e MOWAT, 1993). Em ovinos, a suplementação CrPic não alterou o ganho de peso em ovinos destinados ao abate (KITCHALONG et al., 1995).

## **2.7. Cromo e microbiota ruminal**

A nutrição de ruminantes busca cada vez mais alternativas que contribuam para uma melhor digestibilidade dos alimentos. A utilização de suplementos que possam auxiliar na manutenção do pH ruminal e manutenção dos microrganismos envolvidos é de vital importância para proporcionar um bom ambiente ruminal (ARCURI et al., 2006). Este ambiente é formado por uma série de microrganismos (bactérias, protozoários e fungos). Esses são responsáveis diretos pela digestão de partículas o que favorece a decomposição do alimento proporcionando uma melhora em diversos fatores ligados a produção animal (VIEIRA, 1986).

Diversas substâncias podem causar alterações no ambiente ruminal, porém pouco se sabe acerca da ação do cromo nos microrganismos encontrados no rúmen. Avaliando diferentes doses de CrPic em cordeiros de corte, DALLAGO (2008) identificou que cordeiros suplementados com 0,500 mg/kg dia apresentaram diminuição no número de protozoários do rúmen. Já o uso da levedura rica em cromo pode ser uma opção para a suplementação sem causar danos na fauna ruminal.

### **3. CAPÍTULO 2**

#### **MANUSCRITO**

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de manuscrito, com sua formatação de acordo com as normas da revista ao qual será submetido:

Small Ruminant Research

#### **Metabolism of organic chromium and its effect on the ruminal fauna of lambs**

J.F.X. Rocha<sup>a,\*</sup>, A.R. Aires<sup>a</sup>, M.A.G. Nunes<sup>b</sup>, E.M.M. Flores<sup>b</sup>, G.V. Kozloski<sup>c</sup>, M.L. Leal<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

<sup>b</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

<sup>c</sup> Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

\*Corresponding author at: Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: rocha\_vetrs@hotmail.com (J.F.X. Rocha)

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the metabolism of organic chromium and its effect on ruminal fauna. Four male four-month-old lambs of 28 kilos were used. The animals were allocated into metabolic cages for a period of 20 days (15 days of adaptation and 5 experimental days), in two experimental moments with inverted treatments. The mineral was administered by means of the infusion of a milligram of chromium-rich yeast (*Sacharomices cerevisae*), intraruminally, during the whole adaptive and experimental period. The dry material (DM) rates of the diet and the animal feces were evaluated to estimate consumption, digestibility and fecal production. During the experimental period, blood, feces and urine were collected every 24 hours to determine the levels of chromium. The collection of rumen juice was carried out in days zero, three and five of the experiment. There was no difference in the excretion of chromium in the urine and no mineral remnants were detected in the blood of the animals. The excretion was basically fecal. The lambs in the treated group presented a greater excretion of chromium in the feces in days zero and three, in relation to the animals of the control group. The use of organic chromium promoted an increase in the consumption of dry material in the treated animals in day zero ( $P < 0.05$ ). The production of fecal DM was greater in the treated lambs than in the animals of the control group in days 1, 2, 3 and 4 ( $P < 0.05$ ). There was no difference in the digestibility nor in the concentration of rumen protozoa between the groups, during the experimental period. The results obtained in this study show that organic chromium mixed with live yeasts is not absorbed by the organism, nor does it affect the concentration of rumen protozoa in lambs.

**Keywords:** Chromium, Metabolism, Protozoa, Rumen, Lambs

## INTRODUCTION

The world sheep production has in the last years gone through a series of paradigm changes to look for more efficient techniques to increase profit. Proof of this is the evolution of the world's sheep population, which today is around 1,084 billion heads, having the largest producers in Asian countries (FAO, 2011). In Brazil, the state of Rio Grande do Sul, which possesses 32.57 % of the national herd, is the state with the largest amount of animals (IBGE, 2012).

With the increase in the world's herd the use of microminerals has become a topic of study for many researchers that are looking for a supra-physiological ration to improve productive parameters. The adequate use of minerals in the diet is directly related with better development of animals in productive systems (Solaiman et al., 2006).

Chromium is an essential mineral for the organism. Its main function in ruminants is to help protein energy metabolism and preserve ketosis, as well as reduce fat rates in carcasses (Carvalho et al., 2003). It can also be beneficial to immune response in cattle (Giometti et al., 2006). Chromium acts directly by potentializing the action of insulin, and by improving collection of glucose by the cell (Mertz, 1993). The absorption of chromium by the tissues depends directly on the source used, chromium picolinate (CrPic) and organic-chrome rich yeast having the best absorption rates of this element (Anderson and Mertz, 1997). However, the administration of specific forms of chromium in ruminants, as well as the dose and the time of supplementation, are related to the reduction of protozoa in rumen, which could jeopardize digestibility of food (Dallago, 2008). There are different opinions with respect to the real action of chromium in the organism of animals. The lack of studies carried out with Cr and the lack of estimates of levels of absorption of this mineral, are the main factors which

make difficult the interpretation of results obtained from research studies (Dallago, 2011).

The evaluation of the general dynamics which this mineral carries out inside the organism has been little studied in ruminants. There are more reports about species of rodents, which present primary absorption of chromium in the small intestine (SI) (Kottwitz et al., 2009). After absorption in the SI, plasmatic chromium is utilized in various organic functions and it is later purified by the kidneys. However, some tissues have the capacity of stocking chromium for up to 85 days after supplementation. Inorganic chromium, on the other hand, is excreted by feces, having a mere 1 to 3% absorption, and thus it is rarely used in animal nutrition (Anderson and Kozlovsky, 1985; Rodríguez et al., 2006). The objective of this study was to study the metabolism of organic chromium in lambs, as well as to evaluate its effect over the general ruminal fauna.

## **Material and Methods**

### *Location of experiment and experimental animals*

The experiment was carried out in the Zootechnical sector of the Universidade Federal de Santa Maria – RS. Four lambs of the Texel breed were used, these being four months old and weighing an average of 28 kilos live.

### *Preparation of the animals*

Before initiating the experiment the animals were submitted to rumenotomy in order to fix the Folley probe, through an aseptic surgery and local anesthesia (Lidocaína 2%, 2 ml). In the post-operation period (seven days) the animals were medicated with three doses of Amoxicillin L.A. (15mg/kg, with interval of 48 hours), and three doses of

Flunixin Meglumine (2.2 mg/kg, every 24 hours). The cleansing of the surgical wound was carried out twice daily by using physiological solution (0.9%).

#### *Experimental delineation*

The animals were allocated into individual metabolic cages and went through an adaptation period of 15 days. A daily intraruminal infusion was carried out by Folley probe of one milligram of organic chromium, diluted in 10ml of water in the animals of the treated group (n = 4) and 10 ml of water in the control group (n = 4). Crossover delineation was used with two experimental periods of five days, interval of 10 days of rest, and another 15 days of adaptation with inverted treatments. The daily infusion was carried out in the adaptation periods and in the 5 experimental days, totaling 20 days of supplementation. The lambs' diet was based on alfafa hay (13 % PB); water was supplied *ad libitum*. The weighing of the diet supplied and of the leftovers was carried out during the adaptation period to determine the supply of hay during the experimental period. The source of organic chromium used was chromium rich yeast *Sacharomices cerevisae* (Altech, Brazil, lote A4242-2).

#### *Experimental period*

The period of collection occurred after 15 days of adaptation, the samples of feces, blood and urine being obtained every 24 hours during a period of five days. The collections of rumen juice were carried out in days zero, 3 and 5 of the experiment. This procedure used a suction pump attached to the Folley probe. To determine the concentration of protozoa in the ruminal liquid the Fuchs Rosenthal Camara was used (Rosenberger, 1993). All blood samples were frozen – 20°C until the time of analysis. The production of feces and urine was quantified twice daily to determine the total



produced in 24 hours. The amount of dry material in the diet of each animal as well as the feces were evaluated to estimate the consumption, the digestibility and the fecal production of DM. The levels of chromium in the diet and feces were used to determine the daily excretion rates of this mineral. From the total feces and urine produced in 24 hours, 100 grams and 30 ml of each, respectively, were set aside. In the period of rest the animals were removed from the metabolic cages and did not receive any supplementation. Samples of blood, of feces, of urine, as well as of the diet and the water supplied to the animals, were sent to the Laboratório de Química Orgânica of UFSM, to determine chromium levels. For this, the optical emission spectrophotometer technique was used, with inductively coupled plasma (ICP OES) in a spectrometer from Perkin Elmer (Optima 4300 DV). The experimental protocol was approved by the Ethical Committee on the Use of Animals of the Universidade Federal de Santa Maria (n° 088/2011).

#### *Statistical analysis*

The statistical analysis used to evaluate the concentration of protozoa and the consumption of dry material was the ANOVA, followed by the median comparison test of Duncan with 5% significance. The results were expressed in medians  $\pm$  standard deviations. The data was analyzed by the statistical program SAS, version 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## **Results and discussion**

#### *Excretion of chromium*

The results about the levels of chromium showed that the mineral was totally eliminated in the feces (Table 1). There were no detectable levels of chromium in the

blood ( $< 0.5 \text{ Cr } \mu/\text{g}$ ), nor in the urine of the supplemented animals ( $< 25.0 \text{ Cr } \mu/\text{L}$ ). However, in a study carried out to evaluate the bioavailability and toxicity of the organic chromium supplied in the form of picolinate, Dallago (2011) detected significant concentrations of this material in the plasma of lambs. According to this author, chromium is absorbed in the small intestine, and it is distributed by the plasma and eliminated through the urine. After being absorbed, the dietary chromium connects to  $\beta$ - globuline, such as transferrin, and albumin, and it is sent from the blood plasma to the organic tissues (Gallagher, 2008). Later, this chromium reaches the kidneys to be excreted by urine (Borel and Anderson, 1984). The presence of chromium in urine is the main evidence of absorption of this mineral (Di Silvestro, 2007). Despite having used a source of organic chromium, the results of this study indicate that this chromium was degraded in the rumen of the animals. Kottwitz et al. (2009) mention that the levels of intestinal absorption could not only be related to the quantity of chromium consumed, but also to the presence of stress situations, raising the hypothesis that the lack of this stress could affect the absorption of this element. However, when evaluating the supplementation of lambs with chromium picolinate, Dallago (2011) detected significant quantities of this mineral in the urine of healthy lambs destined to slaughter. On the other hand, Moonsie-Shageer and Mowat (1993) observed that chromium rich yeast reduced cortisol levels in animals submitted to the stress of transportation. These same authors suggest the hypothesis of the influence of the stress factor in the absorption of this mineral. With regards to the source used, Kottwitz et al. (2009) observed the excretion of chromium picolinate in rodents, 24 hours after their supplementation. Due to low absorption, inorganic sources of chromium are excreted through the feces (Rodríguez et al., 2006).

### *Chromium in the diet*

In relation to diet, there were no significant traces of chromium in the water supplied to the animals, but on the alfalfa hay the level of chromium was 4.92 µg/g of dry material. Bueno et al. (2007) also detected excretion of this mineral in the feces of Santa Inês lambs fed merely with alfalfa hay, indicating significant concentrations of inorganic chromium in this forage.

### *Concentration of diluted protozoa in ruminal liquid*

With respect to the values of the protozoa concentration of rumen, there was no difference between the groups (Table 1). The results obtained in this study were different than those observed by Dallago (2008), who observed that the supplementation of high doses of chromium picolinate, for a period of 120 days, caused deleterious effects to the ruminal fauna of lambs. This data could indicate that the time of use, as well as the source and the dose used, are factors that can influence the survival of rumen protozoa.

### *Consumption of DM*

The use of chromium rich yeast generated an increase in the consumption of DM by the animals on day zero ( $P < 0.05$ ) (Table 1). The animals of the treated group presented higher consumption of dry material only on day zero, in relation to the control group ( $P < 0.05$ ). Kitchalong et al. (1995) supplemented lambs with chromium picolinate and also did not observe an increase in the consumption of DM by the animals. On the other hand, in the bovine species, the supplementation of chromium rich yeast increased the average consumption of dry material in the first 33 days after the beginning of supplying chromium mixed to the diet (Moonsie-Shageer and Mowat, 1993). However,

the animals of this study were allocated into metabolic cages and thus this environment could have interfered in the consumption of DM. It is important to highlight that most ruminant studies are carried out with individuals supplemented in confined systems. It is possible that the higher consumption of dry material on day zero by the treated group is related to the yeast and not to the chromium.

#### *Fecal chromium*

Regarding fecal chromium, the animals of the treated group showed higher levels of this mineral on days zero and three of the experiment ( $P < 0.05$ ) (Figure 1). Numerically, the values of fecal chromium in the treated group were higher in all experimental moments. The chromium levels observed in the feces of animals of the control group came from the food supplied to the animals, since significant levels of chromium were detected in the alfalfa hay. Rodrigues et al. (2006), detected high levels of chromium in the feces of animals treated with inorganic chromium. In general, the excretion of chromium supplied in the diet and in the supplementation was 82% in the treated group and 64% in the control group.

#### *Production of urine and feces*

The daily production of urine did not differ in the two experimental groups (Table 1). The production of fecal dry material was higher in the animals of the treated group in days 1, 2, 3 and 4 ( $P < 0.05$ ). The higher production of feces can be related to the use of live yeasts as a source of chromium. The yeasts can improve as well as accelerate the degradation of the supplied food (Desnoyers et al., 2009). In a study with milk producing cows supplemented with chromium rich yeast, Bittencourt et al. (2008) observed greater digestibility of supplied food as well as a higher volume of feces. As

there is a correlation between digestibility and fecal production, the yeast used may also have an influence on both parameters (Bittencourt et al., 2008). The present study showed a significant positive correlation between digestibility and fecal production ( $r = 0.82$ ). However, it is important to highlight that the action of the yeast depends on the quantity administered, as well as on the supplementation mixed with concentrate (Desnoyers et al., 2009), which was not used in this study.

### **Conclusion**

The results obtained in this study show that organic chromium ( $1\mu\text{g}$ ) connected to yeast *Sacharomices cerevisae*, is not absorbed, and does not affect the concentration of ruminal protozoa in lambs.

### **References**

- Anderson, R.A., Kozlovsky, A.S., 1985. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 41, 1177-1183.
- Anderson, R.A., Mertz, W., 1997. Glucose tolerance factor: an essential dietary agent. *Trends Biochem. Sci.* 2, 277-279.
- Bitencourt, L.L., Pereira, M.N., Oliveira, B.M.L., Silva, J.R.M., Dias Júnior, G.S., Lopes, F., Melo, R.C.M., Siécola Junior, S., 2008. Response of lactating cows to the supplementation with live yeast. *J. Dairy Sci.* 91, Suppl.1, 264.
- Borel, J.S., Anderson, R.A., 1984. Chromium, in: Frieden, E. (Ed.) *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements*. Plenum Press., New York, pp. 175-199.

- Bueno, I.C.S., Vitti, D.M.S.S., Abdalla, A.L., Louvandini, H., 2007. Voluntary intake, apparent digestibility and digesta kinetics of three protein-level forages fed to sheep. *Cien. Anim. Bras.* 8, 713-722.
- Carvalho, F.A.N., Barbosa, F.A., McDowell, L.R., 2003. *Nutrição de Bovinos a Pasto*. Papelform, Belo Horizonte.
- Dallago, B.S.L., 2008. Efeitos da suplementação de cromo (Cr) sobre o desempenho produtivo, a população de protozoários e resposta imunitária em ovinos. M.S. thesis, Universidade de Brasília, 80 pp.
- Dallago, B.S.L., 2011. Blood parameters, cytotoxicity and biodistribution of CR in Crpic-supplemented lambs. PhD thesis, Universidade de Brasília, 118 pp.
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Anim. Sci.* 92, 1620-1632.
- Di Silvestro, R.A., Dy, E., 2007. Comparison of acute absorption of commercially available chromium supplements. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 21, 120-124.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United, 2011
- Gallagher, M.L., 2008. Micronutrientes: Minerals – Chromium, in: Mahan, L.K., Escott-Stump, S. (Eds). *Krause's Food & Nutrition Therapy*. Saunders Elsevier, pp. 132-33.
- Giometti, J., Chiacchio, S.B., Albas, A., Pardo, P.E., Bremer Neto, H., Giometti, A.I., Reis, L.S.L.S., 2006. Supplemental chromium enhances antirabies humoral immune response in bovines. *Arq. Inst. Biol.* 73, 421-427.

- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2012. Pecuária 2012 - Rebanho ovino. <http://www.ibge.gov.br> (accessed 05 February 2013).
- Kitchalong, L., Fernandez, J.M., Bunting, L.D., Southern, L.L., Bidner, T.D., 1995. Influence of chromium tripicolinate on glucose metabolism and nutrient partitioning in growing lambs. *J. Anim. Sci.* 73, 2694-2705.
- Kottwitz, K., Laschinsky, N., Fischer, R., Nielsen, P., 2009. Absorption, excretion and retention of  $^{51}\text{Cr}$  from labeled Cr – (III) – picolinate in rats. *Biometals.* 22, 289-295.
- Mertz, W., 1993. Chromium in human nutrition: a review. *J. Nut.* 123, 626-633.
- Moonsie-Shageer, S., Mowat, D.N., 1993. Effect of level supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. *J. Anim. Sci.* 71, 232-238.
- Kottwitz, K., Laschinsky, N., Fischer, R., Nielsen, P., 2009. Absorption, excretion and retention of  $^{51}\text{Cr}$  from labeled Cr – (III) – Picolinate in rats. *Bio Metals.* 22, 289-295.
- Rodríguez, N.M., Saliba, E.O.S., Guimarães Junior, R., 2006. Uso de indicadores para a estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: *Simpósio da 43ª Reunião anual da SBZ, João Pessoa, PB, 263-282.*
- Rosenberger, G., 1993. *Exame clínico dos bovinos, segunda ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.*

Solaiman, S.G., Shoemaker, C.E., D'Andreia, G.A., 2006. The effect of high dietary Cu on health, growth performance and Cu status in young goats. *Small Rumin. Res.* 66, 85-91.



**Figure 1.** Chrome excretion rates and production of fecal dry material.

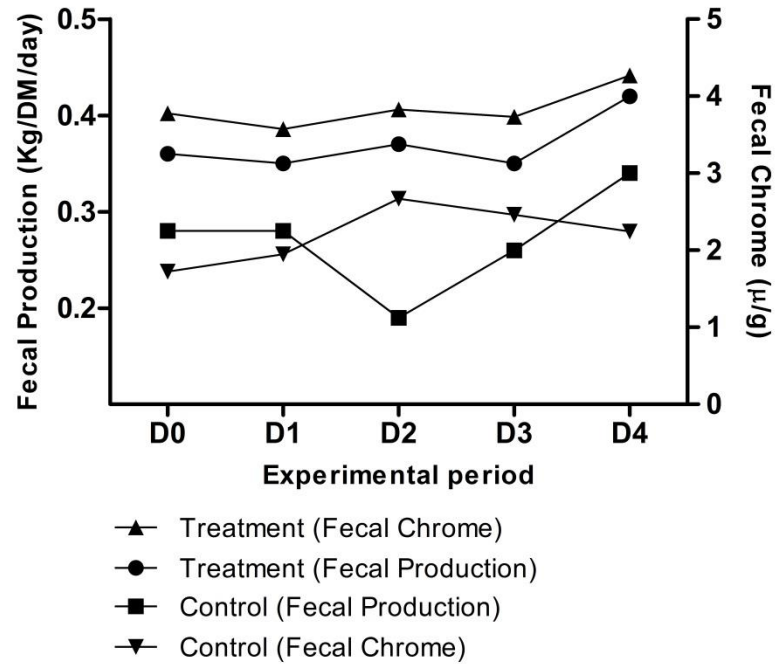


Table 1. Effect of chromium rich yeast supplementation on the concentration of ruminal protozoa, volume of urine, production of feces, digestibility and excretion of chromium in the feces.

Experimental Period							
Parameters	Groups	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Ruminal Protozoa (Concentration by mm <sup>3</sup> )	Treated	553.50 <sup>a</sup> ±	ND	ND	652.00 <sup>a</sup> ±		615.00 <sup>a</sup> ±
		174.47			74.61		194.00
	Control	517.50 <sup>a</sup> ±	ND	ND	536.00 <sup>a</sup> ±		680.00 <sup>a</sup> ±
		49.24			69.74		161.43
Production of urine (l/day)	Treated	1.44 <sup>a</sup> ±	1.51 ±	2.00 ±	1.44 ±	1.49 ±	
		0.34	0.46 <sup>a</sup>	0.44 <sup>a</sup>	0.41 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	
	Control	1.59 <sup>a</sup> ±	1.11 <sup>a</sup> ±	1.86 <sup>a</sup> ±	1.08 <sup>a</sup> ±	1.87 <sup>a</sup> ±	
		0.67	0.14	0.25	0.10	0.83	
Production of feces (kg/ DM / day)	Treated	0.36 <sup>a</sup> ± 0.02	0.35 <sup>a</sup> ±	0.37 <sup>a</sup> ±	0.35 <sup>a</sup> ±	0.42 <sup>a</sup> ±	
			0.02	0.01	0.03	0.03	
	Control	0.28 <sup>a</sup> ±	0.28 <sup>b</sup> ±	0.19 <sup>b</sup> ±	0.26 <sup>b</sup> ±	0.34 <sup>b</sup> ±	
		0.07	0.04	0.03	0.05	0.04	
Digestibility (% DM)	Treated	56.18 <sup>a</sup> ±	48.64 <sup>a</sup> ±	45.33 <sup>a</sup> ±	51.26 <sup>a</sup> ±	51.63 <sup>a</sup> ±	
		5.44	6.54	6.86	9.62	1.28	
	Control	50.52 <sup>a</sup> ±	40.02 <sup>a</sup> ±	25.55 <sup>b</sup> ±	39.64 <sup>a</sup> ±	49.70 <sup>a</sup> ±	
		12.40	5.65	6.75	5.72	11.18	
Excretion Cr in the feces	Treated	3.77 <sup>a</sup> ±	3.57 <sup>a</sup> ±	3.82 <sup>a</sup> ±	3.73 <sup>a</sup> ±	4.26 <sup>a</sup> ±	
		2.14	1.06	1.14	1.26	1.34	

<b>(Cr, <math>\mu</math>/g)</b>	<b>Control</b>	1.72 <sup>b</sup> $\pm$	1.94 <sup>a</sup> $\pm$	2.42 <sup>a</sup> $\pm$	2.46 <sup>b</sup> $\pm$	2.24 <sup>a</sup> $\pm$
		0.93	0.80	0.76	1.03	0.91
<b>Consumption (kg/DM/day)</b>	<b>Treated</b>	0,65 <sup>a</sup> $\pm$	0,73 <sup>a</sup> $\pm$	0,83 <sup>a</sup> $\pm$	0,70 <sup>a</sup> $\pm$	0,81 <sup>a</sup> $\pm$
		0,03	0,06	0,09	0,09	0,07
	<b>Control</b>	0,56 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	0,71 <sup>a</sup> $\pm$	0,79 <sup>a</sup> $\pm$	0,65 <sup>a</sup> $\pm$	0,70 <sup>a</sup> $\pm$
			0,08	0,07	0,05	0,07

Medians followed by different letters in the column denote difference between groups. Significance level of 5%. ND = not determined.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da nutrição na pecuária brasileira é de vital importância nos sistemas de criação adotados nas propriedades rurais. Na ovinocultura, principalmente por ser uma atividade cada vez mais relacionada a um grande número de animais, criados em um pequeno espaço de área, os produtores e técnicos são obrigados a criar alternativas que melhorem a dieta, consumo e aproveitamento dos nutrientes e minerais oferecidos. Mas para que estes pontos sejam efetuados com sucesso o melhor entendimento do metabolismo destes elementos é ferramenta importante em um manejo nutricional.

O conhecimento das carências e necessidades dos microminerais é uma das alternativas para melhorar o desempenho produtivo. Nos últimos anos essa área vem sendo alvo de pesquisadores que buscam avaliar as funções supra-fisiológicas dos minerais. O cromo não é um mineral que apresente carências em animais de produção, apesar de estar incluso em diversas formulações comerciais com um grande apelo para sua utilização. Dentro deste contexto o uso de fontes orgânicas deste mineral para ruminantes visa melhorar a absorção do mesmo, evitando sua degradação dentro do rúmen. No entanto, o presente estudo mostrou que apesar do cromo ligado a levedura ser considerado orgânico, e, portanto, ter maior taxa de absorção, o mesmo foi eliminado totalmente pelas fezes sem exercer nenhuma função no organismo animal.

A grande dificuldade enfrentada por pesquisadores que trabalham com nutrição em ruminantes é relacionada à ação da microflora ruminal nos suplementos utilizados por via oral, já que no ambiente ruminal ocorre uma série de interações e processos extremamente complexos que afetam a degradação de nutrientes, assim como sua absorção. Por estes motivos estudos relacionados ao metabolismo de microminerais, vitaminas e outros nutrientes para ruminantes, ofertados pela dieta, devem ser realizados criteriosamente antes de um produto ser lançado no mercado.

## 5. BIBLIOGRAFIA

ALBUQUERQUE, F.H.M.A.R.; BORGES, I.; NEIVA, J.N.M. **Exigências nutricionais e categorias de produção**. In: CAMPOS, A.C.M. (Ed.). Do campus para o campo: tecnologias para produção de ovinos e caprinos. Fortaleza, Gráfica Nacional, 2005, p. 165-172.

ANDERSON, R.A. Recent advances in the clinical and biochemical manifestation of chromium deficiency in human and animal nutrition. **J. Trace. Elem. Exp. Med.** v. 11, n. 2-3, p. 241-250, 1998.

ANDERSON, R.A. et al. Effects of supplemental chromium on patients with symptoms of reactive hypoglycemia. **Metabolism.** v. 36, n. 4, p. 351-355, 1987.

ANDERSON, R.A.; KOZLOVSKY, A.S. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 41, n. 6, p. 1177-1183, 1985.

ANDERSON, R.A.; MERTZ, W. Glucose tolerance factor: an essential dietary agent. **Trends Biochem. Sci.** v. 2, n. 12, p. 277-279, 1997.

ARAGON, V.E.F.; GRAÇA, D.S.; NORTE, A.L.; SANTIAGO, G.L.; PAULA, O.J. Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas zebu primíparas mantidas a pasto. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 53, n. 5, p. 624- 628, 2001.

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. **Microbiologia do rúmen**. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) Nutrição dos ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 111-140.

BI, J.M. et al. Study of oxidative damage in growing-finishing pigs with continuous excess dietary chromium picolinate intake. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 126, n. 1-3, p. 129-140, 2008.

BOREL, J.S.; ANDERSON, R.A. **Chromium**. In: FRIEDEN, E. (Ed.) Biochemistry of

the Essential Ultratrace Elements. New York: Plenum Press, 1984. p. 175-199.

BURTON, J.L.; MALLARD, B.A.; MOWAT, D.N. Effects of supplemental chromium on antibody responses of newly weaned feedlot calves to immunization with infections bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 virus. **Can. J. Vet. Res.** v. 58, n. 2, p. 148-151, 1994.

CARVALHO, F.A.N.; BARBOSA, F.A.; MCDOWELL, L.R. **Minerais**. In: CIUCHINI, A.; IRSARA, A.; PESTALOZZA, S. (Ed.) *Nutrição de Bovinos a Pasto*. Belo Horizonte: Papel Form, 2003. 425p.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA – CEPEA. **PIB do agronegócio brasileiro: dados de 1994 a 2011**. 2012. Acessado em 25 de julho de 2012. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/pib/>.

CHEN, N.S.C.; TSAY, A.; DYER, I.A. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. **J.Nutr.** v. 103, n. 8, p. 1182-1186, 1973.

DAVIS, M.L.; SEABORN, C.D.; STOECKER, B.J. Effects of over-the-counter drugs on <sup>51</sup>chromium retention and urinary excretion in rats. **Nutr. Res.** v. 15, n. 2, p. 202-210, 1995.

DALLAGO, B.S.L. **Efeitos da suplementação de cromo (Cr) sobre o desempenho produtivo, a população de protozoários e resposta imunitária em ovinos**. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

DALLAGO, B.S.L. **Parâmetros sanguíneos de citotoxicidade e de biodistribuição de Cr em ovinos suplementados com CrPic**. 118p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

GIOMETTI, J. et al. Influência da suplementação com cromo na resposta imune humoral anti-rábica em bovinos. **Arq. Inst. Biol.** v. 73, n. 4, p. 421-427, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pecuária 2011 - Rebanho ovino**. 2011. Acessado em 06 de fevereiro de 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>.

JOHNSON, B. Cromo: função na imunidade animal. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL NUTRON SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3, Goiânia, 2001. **Anais...**Goiânia, p. 1-8, 2001.

KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W.; BROWN JR, T.T. Effect of shipping and chromium supplementation on performance immune response and disease resistance of steers. **J. Anim. Sci.** v.75, n. 7, p. 1956-1964, 1997.

KERGER, B.D. et al. Absorption and elimination of trivalent and hexavalent chromium in humans following ingestion of a bolus dose in drinking water. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 141, n. 1, p. 145–158, 1996.

LAMB, G.C. et al. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in super ovulated Angus heifers. **Anim. Reprod. Sci.** v.106, n. 3-4, p. 221-231, 2008.

LYONS, P. A new era in animal production: the arrival of the scientifically proven natural alternatives. In: SYMPOSIUM BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 13., Nottingham, 1997. **Anais...** Nottingham: Proceedings of Alltech, p. 1-13, 1997.

McDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition.1ª ed. Academic Press, London.1992. 241p.

MATTOS, J.C.P. et al. Determinação de cromo em amostras orgânicas e inorgânicas empregando espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite e amostragem

direta de sólidos. In: 30° REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Águas de Lindóia, 2007. **Anais...** Águas de Lindóia: FAPESP,2007.

MERTZ, W. **Chromium as dietary essential for man**. Trace elements metabolism in animals. Baltimore: University Park Press, 1974. p. 185-198.

MERTZ, W. Chromium in human nutrition: a review. **J. Nut.** v. 123, n. 4, p. 626-633, 1993.

MORAIS, S.S. Importância da suplementação mineral para bovinos de corte. Campo Grande, Embrapa Gado de Corte, 2001, 26 p.

MOONSIE-SHAGEER, S.; MOWAT, D.N. Effect of level supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. **J. Anim. Sci.** v. 71, n. 1, p. 232-238, 1993.

MOWAT, D.N. Supplemental organic chromium reviewed for cattle. **Feedstuffs.** v. 6, n. 43, p. 12-19, 1997.

MULLICK, F.G. et al. Clinical and analytical toxicology of dietary supplements: A case study and a review of a literature. **Biol. Trace Elem. Res.** v.125, n. 1, p. 1-12, 2008.

NIELSEN, P. et al. Absorption, excretion and retention of <sup>51</sup>Cr from labeled Cr – (III) – Picolinate in rats. **Bio Metals.** v. 22, n. 2, p. 289-295, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle. 7<sup>a</sup> ed. National Academic Press, Washington. 1996. 90p.

O'DELL, B.L. Bioavailability of trace elements. **Nut. Review.** v. 42, n. 9, p. 301-308, 1984.



PEDRAZA-CHAVERRÍ, J. et al. Time course study of oxidative and nitrosative stress and antioxidants enzymes in  $K_2Cr_2O_7$  - induced nephrotoxicity. **BMC Nephrol.** v. 6, n. 4, p. 4, 2005.

RODRÍGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para a estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: SIMPÓSIO DA 43ª REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 43., João Pessoa, 2006. **Anais...** João Pessoa: SBZ, p. 263-282, 2006.

SOUZA, A.D. **Mercado interno e perspectiva para a carne ovina.** 2006. Acessado em 06 de janeiro de 2013. Disponível em: [www.farmpoint.com](http://www.farmpoint.com).

SOUDANI, N.; BEN AMARA, I.; SEFI, M.; BOUDAWARA, T.; ZEGHAL, N. Effects of selenium and Chromium (VI) – Induced hepatotoxicity in adults rats. **Exp. Toxicol. Pathol.** v. 63, n. 6, p. 541-548, 2011.

SOLAIMAN, S.G.; SHOEMAKER, C.E.; D'ANDRÉIA, G.A. The effect of high dietary Cu on health, growth performance and Cu status in young goats. **Small Rumin. Res.** v. 66, n. 1-3, p. 85-91, 2006.

STEARNS, D.M.; WISE, J.P.Sr.; PATIERNO, S.R.; WETTERHAHN, K.E. Chromium (III) picolinate produces chromosome damage Chinese hamster ovary cells. **Faseb J.** v. 9, p. 1643–1648, 1995.

STEARNS, D.M.; SILVEIRA, S.M.; WOLF, K.K.; LUKE, A.M. Chromium (III) tris (picolinate) is mutagenic at the hypoxanthine (guanine) phosphoribosyltransferase locus in Chinese hamster ovary cells. **Mutat. Res.** v. 513, n. 1, p. 135-142, 2002.

TEZUKA, M. et al. Protective effect of chromium (III) on acute lethal toxicity of carbon tetrachloride in rats and mice. **J. Inorg. Biochem.** v. 42, n. 1, p. 1-8, 1991.

VIEIRA, D.M. The role of ciliate protozoa in nutrition of the ruminant. **J. Anim. Sci.** v.63, n. 5, p.1547-1560, 1986.