



CINÉTICA E PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE RAÇÕES CONTENDO CO-PRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

Jéssica Santos Tigre

2017



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CINÉTICA E PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE
RAÇÕES CONTENDO CO-PRODUTOS AGROINDUSTRIAIS**

Autora: Jéssica Santos Tigre
Orientador: Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

ITAPETINGA

BAHIA-BRASIL
Março de 2017
JÉSSICA SANTOS TIGRE

**CINÉTICA E PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE
RAÇÕES CONTENDO CO-PRODUTOS AGROINDUSTRIAIS**

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

Co-orientadores: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva
Prof. Dr. Luis Gustavo Ribeiro Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Março de 2017

636.085 Tigre, Jéssica Santos.
T46e Cinética e produtos de fermentação ruminal de rações contendo co-produtos agroindustriais. / Jéssica Santos Tigre. – Itapetinga-BA: UESB, 2017.

53f.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Márcio dos Santos Pedreira e coorientação do Prof. D.Sc. Herymá Giovane Oliveira Silva e Prof. D.SC. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira.

1. Biocombustíveis – Co-produtos. 2. Co-produtos – Dendê – Glicerina - Mamona. 3. Fermentação ruminal. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Pedreira, Márcio dos Santos. III. Silva, Herymá Giovane Oliveira. IV. Pereira, Luiz Gustavo Ribeiro. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Biocombustíveis – Co-produtos
2. Co-produtos – Dendê – Glicerina - Mamona
3. Fermentação ruminal

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO


Título: “Cinética e produtos de fermentação ruminal in vitro de rações contendo co-
produtos agroindustriais”.

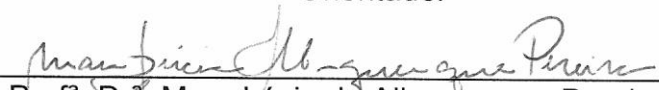
Autor (a): Jéssica Santos Tigre

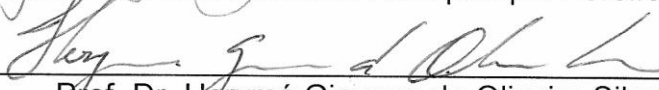
Orientador (a): Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira.

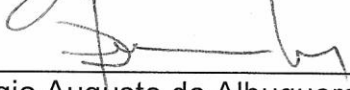
Co-orientador (a): Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva.


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:


Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira – UESB
Orientador


Prof.ª Dra. Mara Lúcia de Albuquerque Pereira - UESB


Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva - UESB


Prof. Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes – UESB


Prof. Dr. Paulo Valter Nunes Nascimento – UESB

Data de realização: 09 de março de 2017

“...viver ultrapassa qualquer entendimento”

Clarisse Lispector

Agradecimentos

Agradecimentos

*A Deus, pelo dom da vida e, sobretudo, por jamais me abandonar;
À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter me possibilitado desenvolver
este trabalho;*

*À Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, pelo apoio no experimento;
À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela
concessão
da bolsa de estudos;*

*Aos meus orientadores Márcio dos Santos Pedreira, Herymá Giovanne e Luis Gustavo
Ribeiro Pereira, pelo auxílio na caminhada;*

*Meu mais terno e eterno agradecimento àqueles que são meu maior
exemplo de ser humano: Manoel Tigre, Terezinha Tigre e Jackeline Tigre, por vocês,
sempre;*

*A David, pelo carinho e pela força nos momentos em que eu mais precisei, não teria
conseguido sem você!;*

Posso dizer apenas: Obrigada!

BIOGRAFIA

JÉSSICA SANTOS TIGRE, filha de Terezinha Santos Tigre e Manoel Tigre Alves, nasceu em Itapetinga, Bahia, no dia 15 de abril de 1985.

Em dezembro de 2009, concluiu o curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, iniciando em fevereiro do ano seguinte mestrado em Ciência Animal (área de concentração: Produção de Ruminantes), tendo como Orientador o Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevedo.

Em março de 2013, iniciou o programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção de Ruminantes, tendo como orientador o Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, realizando estudos na área de Cinética de Fermentação Ruminal in vitro, em experimento realizado na Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL

I-REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
1.1 Revisão de literatura.....	17
1.2 Indústria do Biodiesel.....	17
1.3 Glicerina Bruta na Nutrição de Ruminantes.....	18
1.4 Farelo de Mamona na Nutrição de Ruminantes.....	19
1.5 Torta de Dendê na Nutrição de Ruminantes.....	19
1.6 Parâmetros Avaliados na Cinética de Fermentação Ruminal <i>in vitro</i>	21
1.7 Referências bibliográficas.....	23
II-OBJETIVOS.....	26
2.1 Objetivo Geral.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	26
III Material e Métodos.....	27
3.1 Local e Preparo das amostras.....	27
3.2 Determinação de CH ₄ e CO ₂	31
3.3 Determinação do N-NH ₃	32
3.4 Determinação dos Ácidos Graxos.....	32
3.5 Determinação da Produção Cumulativa de Gases.....	33
IV-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1 Cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i>, avaliação de ácidos graxos, CO₂, CH₄, N-NH₃, pH, produção cumulativa de gases, carboidratos totais, carboidratos fibrosos e não fibrosos.....	34
4.2. <i>Glicerina Bruta</i>	34
4.3. <i>Farelo de Mamona</i>	39
4.4. <i>Torta de Dendê</i>	45
V-CONCLUSÕES.....	51
VI-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção de ingredientes e composição química das dietas contendo substituições parciais do capim <i>Brachária decumbens</i> por glicerina bruta.....	23
Tabela 2. Proporções dos ingredientes das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por farelo de mamona.....	23
Tabela 3. Proporções da composição química das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por farelo de mamona.....	24
Tabela 4. Proporções dos ingredientes das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por torta de dendê.....	24
Tabela 5. Proporções da composição química das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por torta de dendê.....	25
Tabela 6. Percentual dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em função dos níveis de substituição de glicerina bruta.....	29
Tabela 7. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de substituição de glicerina bruta.....	31
Tabela 8. Proporção dos parâmetros de produção de CO ₂ e CH ₄ em função dos níveis de substituição de glicerina bruta.....	32
Tabela 9. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH ₃ e pH em função dos níveis de substituição de glicerina bruta.....	33
Tabela 10. Proporção dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona.....	35
Tabela 11. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona.....	37
Tabela 12. Proporção dos parâmetros de produção de CO ₂ e CH ₄ em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona.....	38
Tabela 13. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH ₃ e pH em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona.....	39
Tabela 14. Percentual dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em função dos níveis de inclusão da torta de dendê.....	40

Tabela 15. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de inclusão da torta de dendê.....	43
Tabela 16. Proporção dos parâmetros de produção de CO ₂ e CH ₄ em função dos níveis de substituição de torta de dendê.....	44
Tabela 17. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH ₃ e pH em função dos níveis de Inclusão da torta de dendê.....	45

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função do tempo de incubação da glicerina bruta nos níveis de 0%; 3%; 7% e 9% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos CNF: carboidratos não fibrosos e CF: carboidratos fibrosos.....30
- Figura 2.** Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função do tempo de incubação do farelo de mamona nos níveis de 0%; 33%; 67% e 100% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos CNF: carboidratos não fibrosos e CF: carboidratos fibrosos.....36
- Figura 3.** . Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função dos tempos de incubação da torta de dendê nos valores de 0; 10%; 20% e 30% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos; CF: carboidratos fibrosos e CNF: carboidratos não fibrosos.....41

RESUMO

Tigre, Jéssica Santos. **Cinética e produtos de fermentação ruminal *in vitro* de rações contendo co-produtos agroindustriais**. Itapetinga, BA: UESB, 2017. 53p. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Objetivou-se avaliar rações contendo co-produtos da indústria dos biocombustíveis, através da cinética de fermentação ruminal *in vitro*. Foram usados nesta pesquisa a glicerina bruta nas concentrações de 3%, 7% e 9% de substituição, o farelo de mamona foi usado para substituir o farelo de soja nas concentrações de 33%, 67% e 100%, a torta de dendê substituiu o farelo de trigo nas concentrações de 10%, 20% e 30%. Durante esta pesquisa foram realizadas análises da produção cumulativa de gases, ácidos graxos voláteis, CH₄, CO₂ e N-NH₃. A glicerina bruta promoveu alteração da fermentação ruminal elevando a produção de metano, porém seu uso até 9% é justificado, por não comprometer a fermentação ruminal. O farelo de mamona por ser uma oleaginosa, também interferiu na digestibilidade da fibra, seu uso até 100% de substituição apresenta potencial para redução do metano entérico. A torta de dendê, assim como os outros ingredientes não alterou negativamente o padrão de fermentação ruminal, porém não conseguiu fornecer substratos suficientes para a redução do metano entérico, porém seu uso acima de 22% apresenta potencial para mitigação do metano entérico, sem, contudo, afetar o padrão de fermentação ruminal. Portanto, são necessários estudos *in vivo*, com a finalidade de determinar a viabilidade de co-produtos da indústria dos biocombustíveis, sem comprometer a microbiota ruminal.

Palavras-chave: biodiesel; dendê; glicerina; mamona

*Orientador: Márcio dos Santos Pedreira, DSc. UESB e Co-orientadores: Herymá Giovane Oliveira Silva, Dsc. UESB e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, DSc. Embrapa Gado de Leite.

ABSTRACT

Tigre, Jéssica Santos. **Kinetics and *in vitro* ruminal fermentation products of diets containing agroindustrial co-products.** UESB, 2017. 53p. (Thesis – Doctorate degree in Animal Science, Area of concentration in Production of Ruminants).*

The objective of this study was to evaluate the rations containing co-products from the biofuels industry, through *in vitro* ruminal fermentation kinetics. The crude glycerin at the 3%, 7% and 9% substitution concentrations was used in this research, castor bean meal was used to replace soybean meal at concentrations of 33%, 67% and 100%, the palm oil cake replaced The wheat bran in the concentrations of 10%, 20% and 30%. During this research were performed cumulative production of gases, volatile fatty acids, CH₄, CO₂ and N-NH₃. Crude glycerin promoted alteration of ruminal fermentation by increasing methane production, but its use up to 9% is justified, since it does not compromise ruminal fermentation. The castor bean meal as an oleaginous, also interfered in the digestibility of the fiber, its use up to 100% of substitution presents potential for the reduction of the enteric methane. The palm pie, as well as the other ingredients did not negatively alter the ruminal fermentation pattern, but could not provide sufficient substrates for the reduction of enteric methane, but its use above 22% presents potential for enteric methane mitigation, without, however, , Affect the ruminal fermentation pattern. Therefore, *in vivo* studies are needed to determine the viability of co-products from the biofuels industry, without compromising the ruminal microbiota.

Key words: biodiesel; palm kernel cake; crude glicerina; castor mea

*Adviser: Márcio dos Santos Pedreira, DSc. UESB and Co-adviser: Herymá Giovane Oliveira Silva, Dsc. UESB e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, DSc. Embrapa Gado de Leite.

INTRODUÇÃO GERAL

Devido à escassez de alimentos para produção animal a pasto, vê-se a necessidade do uso de alimentos alternativos que permitam a continuidade da produção animal ao longo do ano. O uso de co-produtos agroindustriais vem despertando o interesse dos produtores e incentivado pela indústria e órgãos governamentais devido a questões ambientais e fatores econômicos.

Dentre os co-produtos de interesse para uso na suplementação, surgem como opção a glicerina, o farelo de mamona e a torta de dendê. Para a utilização de ingredientes é necessária uma avaliação das possíveis modificações da fermentação ruminal.

Para se conseguir dados de degradação e utilização de alimentos de forma rápida e precisa, usa-se o método de avaliação *in vitro*, pela cinética de fermentação ruminal. Esta técnica analisa a taxa e a extensão de degradação, bem como, produtos finais da fermentação de partes solúveis e insolúveis de substratos como carboidratos fibrosos e não fibrosos e gases como CO₂ e CH₄, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal.

Animais ruminantes apresentam alta capacidade em digerir e aproveitar alimentos fibrosos de baixa qualidade como os agroindustriais. No Brasil a produção desses co-produtos são promissoras devido a produção do biodiesel que libera este excedente por não apresentarem valor comercial para a indústria, mas de grande importância na alimentação animal. Além disso, estes produtos apresentam fibras de alta digestibilidade que favorecem a manutenção do pH, otimizando a fermentação ruminal e a síntese microbiana (PEREIRA, 2007).

Atualmente a valorização e produção de biodiesel vem aumentando a oferta de glicerina no mercado brasileiro, que pode ser obtida pela reação de transesterificação catalítica dos triacilglicerois de diferentes oleaginosas, assim como de óleo utilizado em frituras e de gordura animal, na presença de metanol ou etanol, que agem como catalizadores, durante a produção do biodiesel; este é o principal coproduto gerado na produção, aproximadamente, 10% do volume total de biodiesel produzido correspondem à glicerina (DASARI et al., 2005).

No nordeste brasileiro, a escassez de chuvas faz com que a alimentação seja um dos principais fatores limitantes para um elevado índice de produtividade durante o ano. Várias

pesquisas têm sido realizadas objetivando a substituição total ou parcial de concentrados na dieta por co-produtos da agroindústria. Dentre esses co-produtos destaca-se o farelo de mamona por apresentar um elevado valor nutritivo, não interferindo na fermentação ruminal, além de apresentar potencial para mitigação do metano entérico (CARVALHO et al, 2005).

Outro coproduto viável na ração de ruminantes é a torta de dendê que pode ser usada para substituir tanto volumosos quanto concentrados, e, de acordo com Chanjula (2010), não provoca qualquer efeito adverso na digestibilidade por manter os padrões fermentativos do rúmen, garantindo a produção de ácidos graxos que serão aproveitados pela população microbiana garantindo crescimento e colonização.

Os co-produtos agroindustriais apresentam características nutricionais adequadas para inclusão na dieta de ruminantes, porém alguns critérios devem ser estabelecidos como o estudo da composição química e sua ação na microbiota ruminal devido a presença de metabólitos bioativos.

2.1 Referências Bibliográficas

CARVALHO, G.G.P. et al. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas compostas de silagem de capim-elefante amonizada ou não e subprodutos agroindustriais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.4, p.-1805-1812, 2006. Suplemento.

CHANJULA, P. et al. Effects of dietary inclusion of palm kernel cake on nutrient utilization, rumen fermentation characteristics and microbial populations of goats fed *Paspalum plicatulum* hay-based diet. **Journal of Science and Technology**. v.32, n.6, p.527-536, 2010.

DASARI, M.A. et al, Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, EUA, v. 281, n.1, p. 225-231, jan. 2005.

PEREIRA, E.M. et al. Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.1, 2007.

I -REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Revisão de literatura

1.2 Indústria do Biodiesel

O biodiesel é um combustível produzido a partir de óleos vegetais ou da gordura animal. Dezenas de espécies vegetais presentes no Brasil podem ser usadas na produção, entre elas a soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso. Os co-produtos resultantes após a retirada do óleo das oleaginosas apresenta potencial para ser usado na ração de animais ruminantes (ABDALLA et al., 2008).

Devido a sua competitividade em relação ao óleo diesel, a partir de 2010, o Conselho Nacional de Política Energética e o Ministério de Minas e Energia, passaram a exigir um percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao diesel de petróleo (CNPE, 2015).

Segundo o Ministério de Minas e Energia o Brasil, a capacidade brasileira para produzir 5,8 bilhões de litros de biodiesel por ano proporcionou o aumento da produção de co-produtos de baixo interesse para indústria, porém de grande importância para a produção animal, principalmente a glicerina bruta. Em 2010 foram produzidos 257,9 38 mil m³ na produção total de biodiesel no País (MME, 2016).

Para se tornar compatível com os motores a diesel, o óleo vegetal precisa passar por um processo químico chamado transesterificação, realizado em instalações produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP. Desse processo, independente da matéria prima escolhida, resulta a glicerina bruta (ANP, 2009).

A glicerina provém do processo de transesterificação que ocorre quando os triacilgliceróis de origem animal reagem com o metanol, na presença de catalizadores como hidróxidos, alcóxidos de sódio ou potássio e o ácido sulfúrico, produzindo glicerina (subproduto) e o éster metílico de ácido graxo (biodiesel) (BARAKOS et al., 2008).

Este processo é vantajoso, porque a cada 100 kg de óleo que reagem com 10 kg de álcool gera-se 100 kg de biodiesel e 10 kg de glicerina (FERREIRA et al., 2009).

A glicerina bruta resultado deste processo contém, em média, 75 a 80% de glicerol, sendo o restante composto por água, ácidos graxos (7 a 13%) e minerais oriundos dos catalisadores (2 a 3%). Ela pode ser usada na alimentação animal por ser um produto rico em energia (4.320 kcal de energia bruta por kg para o glicerol puro. (MERTENS et al., 2002; MACHE et al., 2009).

Além da glicerina, outros co-produtos da cadeia do biodiesel podem ser usados na alimentação animal. Dentre eles, destaca-se o farelo de mamona e a torta de dendê, que tem como principal característica seu alto valor proteico (34-43 - farelo de mamona; 14-16 - torta de dendê), e, por apresentar alta digestibilidade e baixo custo de produção, são viáveis para serem usadas na alimentação animal (ABDALLA et al., 2008).

1.3 Glicerina Bruta na Nutrição de Ruminantes

Donkin et al. (2008), através da análise *in vitro*, observaram que a glicerina, no rúmen, é convertida em ácidos graxos voláteis (AGV), principalmente, propionato e acetato. No rúmen, os microrganismos se adaptam facilmente à alimentação a base de glicerina bruta, por fornecer energia, além de diminuir o impacto ambiental causado por acúmulo de resíduos na natureza.

Ao analisarem o uso da glicerina, Roger et al. (2008), perceberam que esta promoveu crescimento dos *Ruminococcus flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes*. Estes microrganismos associam-se às fibras dos alimentos e degradam os componentes da parede celular dos vegetais, particularmente a celulose e a hemicelulose, produzindo acetato, propionato, butirato, succinato, formato, CO₂, e H₂, além de promover a hidrólise da celulose através de complexos enzimáticos denominados celulases.

O glicerol, um dos componentes da glicerina, é um componente estrutural dos triglicerídeos e fosfolipídios, precursor do gliceraldeído 3-fosfato, intermediário na lipogênese e responsável por fornecer o esqueleto de carbono para a gliconeogênese, processo responsável pelo fornecimento de energia para os ruminantes (MUNIZ et al., 2011).

O glicerol é absorvido diretamente pelo epitélio ruminal, sendo convertido em glicose no fígado pela enzima glicerol quinase que converte glicerol e ATP a glicerol-3-fosfato e ADP ao nível de triose fosfato, direcionando o glicerol para a gliconeogênese (LAGE et al., 2010).

Villalba et al. (2014), ao avaliarem a cinética de fermentação ruminal *in vitro* de rações com 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 g/kg de matéria seca de glicerina bruta, observaram que o volume máximo de gases produzidos pelas frações solúveis e insolúveis, a taxa de produção de gás pela degradação da fração solúvel, degradação da fração insolúvel, a latência, o pH ruminal, a produção de amônia e de proteína microbiana não diferiram estatisticamente dentre os teores de glicerina.

1.4 Farelo de Mamona na Nutrição de Ruminantes

A torta, o farelo e a casca de mamona são amplamente utilizados como alimentos alternativos na nutrição animal, porém, deve-se reduzir ou eliminar alguns componentes tóxicos que permanecem após a extração do óleo. O uso de tortas oleaginosas na ração de ruminantes é viável por servir como fonte de proteína e apresentar potencial para mitigação do metano entérico, possibilitando efetiva degradabilidade ruminal, permitindo colonização e crescimento dos microrganismos ruminais (OLIVEIRA et al., 2010a).

Com o intuito de estudar a substituição da torta de mamona na dieta de ruminantes, visando a mitigação de metano, através de ensaios *in vitro*, na proporção de 25%, 50%, 75% e 100% de substituição do farelo de soja, Abdalla et al. (2008), observaram que houve menor produção total de gases e possibilidade de mitigação de metano, quando a torta de mamona foi incluída em proporções acima de 50%.

Avaliando características de ovinos alimentados com farelo de mamona nas concentrações de 0%, 33%, 67% e 100%, Gomes et al. (2012) e Pompeu et al. (2013), destacaram que conforme aumentam os níveis de substituição da torta ocorre também o aumento na quantidade de extrato etéreo da ração, inibindo o crescimento microbiano e consequentemente a atividade celulolítica.

Já Menezes et al. (2012), substituindo o farelo de soja pelo farelo de mamona nas concentrações de 15%, 30% e 45%, observaram que conforme se aumentam os níveis, ocorre aumento linear crescente na quantidade de N-NH₃ e pH, este fator pode ser explicado pela possível degradação da fração proteica das dietas, pelas bactérias ruminais, para obtenção de nitrogênio amoniacal e energia.

1.5 Torta de Dendê na Nutrição de Ruminantes

Existem diversas vantagens do uso da torta de dendê na alimentação animal, dentre elas destaca-se o alto teor de energia e fibras. A torta de dendê apresenta altas quantidades de extrato etéreo que, ao substituir alimentos tradicionais, podem interferir na atividade da microbiota ruminal alterando o processo de fermentação.

Avaliando os componentes químicos da torta de dendê, Silva et al. (2016), encontrou em sua composição 88,38% de matéria seca; 14,51% de proteína bruta; 7,19 de extrato etéreo; 81,85% de fibra em detergente neutro e 1,53 de carboidratos não fibrosos, do mesmo modo, Oliveira et al. (2011) e Valadares et al. (2017), apresentaram valores semelhantes, 95,29% de

matéria seca; 16,64% de proteína bruta; 9,25% para o extrato etéreo; 70,04% de fibra em detergente neutro, não foram encontrados valores expressivos na quantificação de carboidratos não fibrosos.

A torta de dendê por apresentar altos valores de extrato etéreo e FDN, deve ser precisamente avaliada quanto ao seu uso na alimentação animal, para não interferir na digestibilidade alterando o padrão de fermentação ruminal.

Correia et al. (2011), chamam atenção para o uso de tortas oriundas da produção de biodiesel na alimentação animal, pois estas apresentam em sua composição significativas concentrações de proteína, sendo esta importante para a manutenção e o desempenho produtivo de ruminantes, porém, estas tortas possuem elevado teor de extrato etéreo que pode interferir no consumo e digestibilidade de nutrientes, alterando a atividade da microbiota ruminal, impedindo o acesso dos microrganismos as frações solúveis dos alimentos.

Avaliando as características físico-químicas do farelo de cacau ou torta de dendê, Silva et al. (2006), observaram que estes resíduos apresentam em sua composição proteína bruta na forma insolúvel ocasionando menor suprimento de nitrogênio ou aminoácidos para a síntese proteica afetando a degradabilidade ruminal.

Analisando diversos produtos provenientes da indústria do biodiesel, através de ensaios *in vitro* (produção de gases totais e metano) usando a torta de dendê nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100%, Abdalla et al. (2008), perceberam que nas proporções acima de 50% ocorreu menor produção de gases totais, inclusive do metano, concluindo que a substituição de tortas com elevado teor de gordura apresentam capacidade para mitigação de metano entérico, por afetar negativamente a população de *Fibrobacter succinogenes*, reduzindo a quantidade de CO₂ e H₂ que estaria disponível, além do efeito tóxico dos ácidos graxos para as metanogênicas e protozoários.

De acordo com Correia et al. (2011), a torta de dendê apresenta capacidade de manter a densidade energética da dieta garantindo a atividade ruminal devido a manutenção dos valores de pH, entre 6,7 a 7,3, que, encontram-se acima da faixa que inibe o crescimento dos microrganismos celulolíticos, a qual varia de 5,0 a 5,5.

Bringel et al. (2011), em relação a digestibilidade da torta de dendê, chamaram atenção para a grande quantidade de FDN e lignina, e, por esta ser a fração menos digestível, interfere na digestão de outros componentes da parede celular, além de impedir os

microrganismos ruminais o acesso aos nutrientes e, conseqüentemente, diminuição da eficiência do processo fermentativo responsável pela produção dos ácidos graxos voláteis.

1.6 Parâmetros Analisados na Cinética de Fermentação *in vitro*

A técnica de degradação *in vitro* foi desenvolvida por Tilley & Terry (1963), esta técnica simula os processos de digestão que ocorrem no rúmen, e tem sido muito utilizada por apresentarem valores de digestibilidade condizentes com as análises *in vivo*.

A avaliação da digestibilidade de nutrientes pela técnica *in vitro* de produção de gases é feita em tempos definidos, gerando uma curva sigmoide. Para se obter esta curva, este processo segue por três fases: inicialmente uma fase lenta, sem produção de gás, ocorrendo hidratação, fixação e colonização do substrato pelos microrganismos, seguindo na segunda fase, rápida produção de gás (fase exponencial) e a última fase que consiste na redução da taxa de produção de gás (fase assintótica) (THEODOROU et al., 1994).

A cinética de fermentação ruminal consiste no estudo do desaparecimento da amostra incubada (quantidade do início da incubação – quantidade no final da incubação) e quantificação dos produtos finais da fermentação pela atividade microbiana, fornecendo dados sobre a taxa e a extensão de degradação das forrageiras, bem como estimar produtos da fermentação de partes solúveis e insolúveis de substratos.

Do mesmo modo, permite analisar vários substratos por experimento, apresentando alta precisão nas medições, simplicidade no manuseio de equipamentos e baixo custo na implantação e por amostra analisada, definindo a taxa e a extensão da degradação das forrageiras, bem como medir produtos da fermentação de partes solúveis e insolúveis do substrato, tempo de colonização, permitindo verificar a quantidade N-NH₃ e gases como CO₂ e CH₄ (MAURICIO et al., 1999).

No entanto, Di Marco et al. (2005), observaram algumas limitações para análise da digestibilidade através da técnica *in vitro*, pois esta não permite estimar o tempo que o material ingerido é retido no rúmen, além de não fornecer informações sobre a cinética da digestão de forragem, por avaliar apenas o resultado final da digestão.

A principal desvantagem do método *in vitro*, de acordo com Malafaia et al. (1998), se deve a não reproduzir o ambiente ruminal podendo haver discrepâncias entre os métodos *in vitro* e *in vivo*. Não estimando de forma precisa a extensão da degradabilidade dos substratos analisados.

Já para Muniz et al. (2011), o método *in vitro* pode apresentar falhas pelo uso inadequado ou contaminação do inóculo, tampões ou equipamentos, alterando o pH. Além da dificuldade para a manutenção da anaerobiose, biomassa microbiana e falta de nutrientes essenciais para nutrição da mesma durante o período de incubação, podendo apresentar resultados controversos.

A técnica *in vitro* se baseia na produção cumulativa de gases, permitindo a quantificação do volume final e taxas de degradação de carboidratos fibrosos e não fibrosos, estimando a facilidade ou dificuldade de degradação dos microrganismos sobre o substrato durante um período que o material estiver incubado, além da quantificação de açúcares solúveis, amido e pectina (Fração A e B1 dos carboidratos), volumes e as taxas dos carboidratos fibrosos, fração lenta e indigestível (fração B2 e C) (CABRAL et al., 2000; idem, 2002).

Estes parâmetros estão relacionados com a atividade microbiana, crescimento e produção de proteína que servirá como fonte de aminoácidos ao hospedeiro. Permitindo avaliação das características nutricionais dos alimentos (DETMANN et al., 2005).

Outro parâmetro verificado na cinética de fermentação que permite estimar a eficiência da síntese microbiana é o tempo de colonização que está diretamente relacionada à degradação potencial e efetiva de determinado alimento (SILVA et al., 2012). Isto permite o conhecimento de informações sobre acessibilidade dos microrganismos aos nutrientes e a degradabilidade da fração solúvel num determinado período de tempo.

Quanto menor a acessibilidade dos microrganismos, maior será a quantidade de componentes de degradação lenta comprometendo o suprimento adequado de nutrientes para o metabolismo microbiano alterando os parâmetros ruminiais (CAMPOS et al., 2000).

1.7 Referências Bibliográficas

ABDALLA, A.L. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 37, p. 260-268, 2008.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2009. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=60127&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=193&cachebust=1337207996415>> Acesso em: 25 de janeiro de 2017.

BARAKOS, N. et al. Transesterification of triglycerides in high and low quality oil feeds over an HT2 hydrotalcite catalyst. **Bioresource Technology**. v. 99, n. 11, p. 5037–5042, 2008.

BRINGEL, L.M.L. et al. Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em borregos alimentados com torta de dendê em substituição à silagem de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.40, n.9, p.1975-1983, 2011.

CABRAL, L.S. et al. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.6, n. 29, p. 2087-2098, 2000 (Suplemento 1)

CABRAL, L.S. et al. Cinética ruminal das frações de carboidratos, produção de gás, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e NDT estimado da silagem de milho com diferentes proporções de grãos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.6, p.2332-2339, 2002.

CAMPOS, F. P. et al. Comparação do Sistema de Monitoramento Computadorizado de Digestão In Vitro com os Métodos In Vivo e In Situ. 2. Uso do Resíduo da Matéria Seca de Forragens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.531-536, 2000.

CORREIA, B.R. et al. Consumo, digestibilidade e pH ruminal de novilhos submetidos a dietas com tortas oriundas da produção do biodiesel em substituição ao farelo de soja. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 63, n. 2, p.356-363, 2011.

CNPE- Conselho Nacional de Política Energética/Minas e Energia, 2015. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/web/guest/conselhos-e-comites/cnpe>. Acesso em: 16 de janeiro de 2017.

DETMAN, E. et al. Simulação e validação de parâmetros da cinética digestiva em novilhos mestiços suplementados a pasto, por intermédio do sistema in vitro de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.6, p. 2112-2122, 2005.

DI MARCO, O. N.; ALLEO, M. S.; ARIAS, A. Digestibility and ruminal digestion kinetics of corn silage. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.57, n.2, p.223-228, 2005.

DONKIN, S.S.; DOANE, P.H. Glycerol from Biodiesel Production: The New Corn for Dairy Cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, suplemento especial p.280-286, 2008.

FERREIRA, M.A. et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.322-329, 2009.

GOMES, F.H.T. et al. Características de carcaça em ovinos alimentados com rações contendo torta de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.13, n.1, p.283-295, 2012.

LAGE, J.F. et al. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 45, n. 9, p. 1012-1020, 2010.

MACHE, N. et al. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**. v. 87, p. 632-638, 2009.

MENEZES, D.R.. et al. Parâmetros sanguíneos, hepáticos e ruminais de ovinos alimentados com dietas com farelo de mamona destoxificado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.47, n.1, p.103-110, 2012.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucible: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MALAFAIA, P.A.M. et al. Cinética Ruminal de Alguns Alimentos Investigada por Técnicas Gravimétricas e Metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.27, n.2, p.370-380, 1998.

MAURICIO, R.M. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, n. 4, v. 79, p. 321-330, 1999.

MME– **Ministério de Minas e Energia**, 2016. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/web/guest/secretarias/petroleo-gas-natural-e-combustiveis-renovaveis>. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

MUNIZ, E.B. et al. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 32, n. 3, p. 1191-1200, 2011.

OLIVEIRA, A.S. et al. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castor seed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.15-28, 2010a.

OLIVEIRA, R.L. et al. Biodiesel industry by-products used for ruminant feed. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. v. 25, p. 625-638, 2011.

POMPEU, R.C.F.F. et al. Características da carcaça e dos componentes não-carcaça de ovinos alimentados com dietas contendo casca de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.14, n.3, 2013.

ROGER, V. et al. Effects of Glycerol on the Growth, Adhesion, and Cellulolytic Activity of Rumen Cellulolytic Bacteria and Anaerobic Fungi. **Current Microbiology**. v. 25, p. 197-201, 2008.

SILVA, V.L. et al. Efeito do tratamento químico sobre a digestibilidade de volumosos ou subprodutos agroindustriais. **Acta Kariri Pesquisa e Desenvolvimento**. v.1, n.1, p.29-37, 2016.

SILVA, C.F.P.G. et al. Cinética e parâmetros de fermentação ruminal in vitro de silagens de parte aérea e raízes de mandioca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.64, n.6, p.1639-1648, 2012.

THEODOROU, M. K. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, n.48, v.3-4, p.185-197, 1994.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal British of Grassland Society**. v.18, p.104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S.C. et al. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos**. Disponível em www.ufv.br/cqbal. Acesso em: 21 de janeiro de 2017.

VILLALBA, V. et al. Cinética ruminal de rações com diferentes níveis de glicerina bruta. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 6, n. 35, p. 3331-3344, 2014.

II-OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito dos co-produtos agroindustriais (glicerina, farelo de mamona e torta de dendê), por meio da técnica de produção de gases *in vitro*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro*;
- Avaliar a produção de metano, dióxido de carbono, nitrogênio amoniacal, ácidos graxos voláteis e pH de co-produtos agroindustriais.

III-MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Preparo das Amostras

O experimento foi conduzido Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As amostras foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 60°C, por 72 horas, para posterior moagem em peneira de 1mm. As análises laboratoriais consistiram na determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN). As análises de PB, EE, e MM foram realizadas seguindo os procedimentos do AOAC (1990) as análises de FDN e FDA conforme Van Soest et al. (1991) (Tabelas 1, 3 e 5).

Os carboidratos totais foram calculados a partir da equação $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$; e os carboidratos não-fibrosos (CNF), pela equação $CNF = 100 - (\%PB + \%FDNcp + \%EE + \%MM)$, de acordo com Sniffen (1988).

Para análise *in vitro* os frascos foram vedados com rolhas de borracha, sendo posteriormente mantidos a 39°C. As amostras usadas foram adicionadas em cada frasco individualmente de acordo com os níveis de substituição, glicerina (0%, 3%, 7% e 9%), farelo de mamona (0%, 33%, 67% e 100%) e torta de dendê (0%, 10%, 20% e 30%). As incubações foram feitas em triplicata. Os brancos, contendo apenas o inoculo, foram utilizados para correção da fermentação de resíduos.

As soluções utilizadas foram: solução tampão, contendo, Bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3), Bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$); macromineral, Fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), Sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$); Resazurina (indicador redox) e solução micromineral (Cloreto de cálcio diidratado ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$), Cloreto de manganês diidratado ($MnCl_2 \cdot 2H_2O$), Cloreto de cobalto hexaidratado ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$), Cloreto férrico ($FeCl_3$), descritas por Lowe et al. (1985).

As soluções foram preparadas duas horas antes da incubação, sendo aquecida a 39°C com aferição contínua da temperatura utilizando um termômetro imerso na solução, sob gaseificação contínua por CO_2 , e homogeneizada por um agitador magnético. O pH da solução foi monitorado constantemente até atingir valor de 6,8. O líquido ruminal foi obtido de três bovinos machos, fistulados no rúmen, mantidos em pasto de *Brachiária decumbens*, consumindo 2,0 kg de concentrado por dia.

A coleta foi realizada às 6 horas da manhã, utilizando um funil envolto com uma fralda de algodão em que o líquido ruminal foi filtrado e direcionado a uma garrafa térmica pré aquecida a 39°C e imediatamente levada ao laboratório para a incubação nos frascos. O líquido ruminal foi filtrado através de duas camadas de gazes de algodão sob injeção contínua de CO₂ e mantido aquecido a 39°C.

Tabela 1. Proporção de ingredientes e composição química das dietas contendo substituições parciais do capim *Brachiária decumbens* por glicerina bruta.

Composição Ingredientes (%MS)	Nível de substituição (%)			
	0	3	7	9
<i>Brachiária decumbens</i>	100	99,5	98,8	98,5
Glicerina bruta	-	0,5	1,2	1,5
Química (%MS)				
Matéria seca ¹	91,8	91,9	92,1	92,1
Matéria mineral ²	11,6	11,6	11,6	11,7
Proteína bruta ²	12,6	12,8	12,9	12,9
Extrato etéreo ²	1,6	2,3	3,6	4,9
FDN ²	68,0	68,1	68,7	68,3
FDA ²	39,8	39,9	39,9	39,9
Carboidratos totais	78,8	79,3	79,5	79,7
Carboidratos não fibrosos	10,1	9,1	7,7	6,3

Em que: 1 %; 2 % na matéria seca; FDN: fibra em detergente neutro e FDA: fibra em detergente ácido

Tabela 2. Proporções dos ingredientes das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por farelo de mamona

Item	Nível de substituição (%)			
	0	33	67	100
Milho moído	46,8	50,6	58,0	65,6
Farelo de trigo	28,0	24,0	16,0	8,0
Farelo de soja	20,0	13,4	6,6	-
Farelo de mamona ¹	-	6,6	13,4	20,0
Ureia	1,2	1,4	2,0	2,4
Mistura mineral ²	4,0	4,0	4,0	4,0

² Tratado com Hidróxido de Sódio (60g/kg). Composição química (%): MS: 87.7; PB: 25.6; PIDN: 42.5; PIDA: 39.4; EE: 0.04%; FDN: 64.3; FDNcp: 42.1; FDA: 51; LIG: 26.1; MM: 22.4; FDNi: 36.

³ Composição: Ca (máx.): 150g; Ca (min.): 135g; fósforo: 65g; Na: 107g; S: 107g; Mg: 6.000mg; Co: 175mg; Cobre: 100g; Iodo: 175mg; Mn: 1.440mg; Se: 27mg; Zn: 6.000; F: 1000mg; Fluor: 650mg; PB: 30g

Tabela 3. Proporções da composição química das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por farelo de mamona

Item (%)	Nível de substituição (%)			
	0	33	67	100
Matéria seca	88,9	89,0	88,8	88,6
Matéria orgânica	91,2	90,5	90,0	88,8
Proteína bruta	18,8	18,2	18,3	17,9
EE	3,3	3,0	2,4	1,6
CHOT	68,9	69,3	69,3	69,2
CNF	38,8	39,9	39,9	38,8
FDN	38,7	38,2	39,4	41,8
FDNcp	31,9	31,4	32,3	33,9
FDA	16,5	18,6	19,1	23,9
Lignina	3,3	5,3	6,8	10,2

Em que: EE: extrato etéreo; CHOT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; FDN: fibra em detergente neutro; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA: fibra em detergente ácido

Tabela 4. Proporções dos ingredientes das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por torta de dendê

Item	Nível de substituição (%)			
	0	10	20	30
Farelo de milho	41,5	38,3	39	26,7
Farelo de trigo	36,0	27,3	17,5	20,8
Torta de dendê	-	10,0	20,0	30,0
Farelo de soja	17,1	19,0	18,1	17,1
Ureia	1,8	1,8	1,8	1,8
Mistura mineral ¹	3,6	3,6	3,6	3,6

¹ Mistura mineral específica para ovinos Composição: Ca (máx.): 150g; Ca (min.): 135g; fósforo: 65g; Na: 107g; S: 12g; Mg: 6.000mg; Co: 175mg; Cu: 100g; I: 175mg; Mn: 1.440mg; Se: 27mg; Zn: 6.000; F: 1000mg; F: 650mg; PB: 30g; NDT: 100g

Tabela 5. Proporções da composição química das dietas contendo substituições parciais do farelo de soja por torta de dendê

Item (%)	Nível de substituição (%)			
	0	10	20	30
Matéria seca	91,9	91,8	92,1	92,6
Matéria orgânica	91,8	91,9	93,0	91,3
Proteína bruta	20,5	21,5	21,2	21,9
EE	4,0	4,7	5,1	6,0
CHOT	67,3	65,7	66,6	63,4
CNF	39,3	34,6	32,3	23,8
FDN	34,1	37,4	40,8	46,8
FDNcp	30,6	33,7	37,0	42,3
FDA	9,9	15,3	20,0	27,8
Lignina	2,5	3,7	5,4	7,6
Cinzas	7,3	7,0	6,9	7,7

Em que: EE: extrato etéreo; CHOT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; FDN: fibra em detergente neutro; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA: fibra em detergente ácido

A pressão originada dos gases acumulados na parte superior dos frascos foi medida por um leitor digital, nos tempos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 20, 24, 28, 34, 48, 72 e 96 horas após a incubação. A equação de regressão utilizada para a conversão de pressão (P), pressão dada por libra por polegada ou pound square inch (PSI), para volume (V) = $-0,0171 \text{ pressão}^2 + 3,0926 \text{ pressão} + 0,0078$; $R^2 = 0,9877$, segundo metodologia proposta por Maurício et al. (2003).

As variáveis da cinética dos carboidratos fibrosos (CF) e não-fibrosos (CNF) foram estimadas pelo modelo bicompartimental, ajustado às curvas de produção cumulativa dos gases (SCHOFIELD et al., 1994):

$$V = [VFCNF / (1 + \exp(2 - 4 \cdot KDCNF \cdot (T - L)))] + [VFCF / (1 + \exp(2 - 4 \cdot KDCF \cdot (T - L)))]$$

Em que: VFCNF equivale ao volume máximo dos gases da fração dos CNF; KDCNF, à taxa de fermentação (h⁻¹) desta mesma fração (CNF); VFCF, ao volume máximo de gás da fração dos CF; KDCF, à taxa de fermentação (h⁻¹) dos CF; e T e L, aos tempos de incubação (horas) e à latência (horas), respectivamente.

Após estimativa das variáveis da cinética de produção de gases dos carboidratos, foram construídas as curvas de fermentação dos carboidratos em função dos tempos de incubação. Para a degradação potencial e efetiva foram usados os seguintes cálculos segundo Waldo e Smith (1972), conforme citado por Medeiros e Marino (2015).

$Pd = VFCNF + KDCNF$; $Ed = KDCNF + KDCNF * T / (T + 0.03)$. Em que: Pd: degradação potencial; Ed: degradação efetiva; VFCNF: volume final dos carboidratos não fibrosos; KDCNF: taxa de degradação dos carboidratos não fibrosos e T: tempo de colonização.

3.2 Determinação do CH₄ e CO₂

As concentrações de metano e dióxido de carbono foram realizadas na Embrapa Gado de leite em Minas Gerais. A proporção de metano no gás produzido pela fermentação das amostras foi mensurada para os tempos 12 e 24 horas de incubação. Foi utilizada a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases, segundo Maurício et al. (1999). A medição dos gases foi realizada com transdutor de pressão e a conversão dos valores de libra por polegada quadrada (PSI) em volume foi realizada a partir da equação $\text{Volume} = -0,0171\text{pressão}^2 + 3,0926\text{pressão} + 0,0078$; $R^2 = 0,9877$, estabelecida para as condições locais do laboratório. Nos tempos de 12 e 24 horas foram coletadas amostras dos gases em exetaineres para a determinação da concentração de metano em cromatógrafo a gás.

No equipamento foram utilizadas duas válvulas de seis vias, sendo uma para o sistema amostrador interligada a um loop de 0,5mL. A outra, como seletora, permitindo aos constituintes passarem ou não pela segunda coluna. O Injetor tipo split-splitless foi utilizado no modo split a 50:1 a uma temperatura de 120°C. O sistema de separação é constituído de duas colunas: uma HPPlot/Q 30m x 0,530 mm x 40,0 µm; a outra HP-Molesieve 30m x 0,530mm x 25,0 µm, utilizando H₂ como gás de arraste a um fluxo de 7mL/min.

O sistema de detecção foi constituído por: Detector TCD – condições: 200°C aquecimento; 25mL/min fluxo de referência; 3mL/min fluxo de complementação(H₂); 10mL/min coluna+complementação constante. Detector FID – Condições: 300°C aquecimento; 10mL/min fluxo H₂; 400mL/min fluxo ar sintético; 20mL/min fluxo complementação. Metanador a 375°C aquecimento.

A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 4,5 minutos tempo necessário para a eluição dos constituintes desejados. Pós análise, iniciou-se uma rampa de aquecimento a 60°C/min. até 250°C. Pós corrida a temperatura foi mantida a 250°C por 2 minutos. A calibração do cromatógrafo foi realizada com padrões de referência, certificados pela Linde nas concentrações CH₄ : 5,05; 10,2; 14,7; 20,1 e CO₂: 20,2; 39,7; 58,3; 79,9.

3.3 Determinação do Nitrogênio Amoniacal

A determinação do N-NH₃ foi realizada na Embrapa Gado de Leite em Minas Gerais. Na determinação de N-NH₃liq (%), 5mL do meio de cultura a partir de cada frasco da incubação foram transferidos para frascos de coleta para análises laboratorial, acrescido de 6 gotas de ácido sulfúrico 50% (H₂SO₄). Destes, 1,6 mL a partir de cada frasco foi transferido para tubos de 2 mL de micro-centrifugação e centrifugada a 14.000 xg durante 10 min a 4° C (Spectrafuse 16M , National Labnet Co. , Edison, NJ, EUA) para obtenção de partículas em suspensão e precipitado de proteínas. O sobrenadante foi transferido para tubos de 2 mL de micro-centrifugação e analisado para o N-NH₃liq.

3.4 Determinação dos Ácidos Graxos

A análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foi realizada na Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais. Esta análise foi realizada com 5mL do líquido utilizado na incubação acrescido de 1mL de ácido metafosfórico (HPO₃) a 20%, uma sub-amostra de 1,5 mL foi recolhida, e centrifugada como anteriormente descrito para a análise N-NH₃liq. O sobrenadante foi congelado a -20° C até serem analisadas para as concentrações de AGCC (HOLTSHAUSEN et al., 2009).

A determinação dos ácidos acéticos, butírico e propiônico foi realizada por meio de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) Waters 2695 equipado com Detector PAD 2998 (Photodiode Array Detector), com sistema de Labnet Co. , Edison, NJ, EUA) para obtenção de partículas em suspensão e precipitado de proteínas. O sobrenadante foi transferido para tubos de 2 mL de micro-centrifugação e analisado para o N-NH₃liq. separação constituído de pré-coluna e coluna de fase reversa ambas C18 ODS80A (150 x 4,6 mm x 5 µm).

As condições de análise foram: Fase móvel com mistura isocrática constituída de 90% de solução aquosa ácida pH 2,45-2,55 e 10 % de metanol, temperatura do forno de 30°C, volume de injeção de amostra de 20 microlitros, corrida com 12 minutos e detector com comprimento de onda de excitação em 210nm. Para estimativa de pH, houve medição às 12 e 24 horas após a incubação utilizando potenciômetro digital.

3.5 Determinação da Produção Cumulativa de Gases

As curvas de produção acumulativa de gases observadas *in vitro* foram utilizadas para ajustar o modelo logístico bicompartimental (SCHOFIELD et al., 1994), dado por:

$$V = \frac{VFCF1}{1 + e^{[2-4K1(t-\lambda)]}} + \frac{VFCF2}{1 + e^{[2-4K2(t-\lambda)]}} + \varepsilon$$

Em que, V = volume total de gases (mL g⁻¹ MO degradada) no tempo t; VFCF1= volume máximo de gases produzidos pela degradação da fração solúvel de rápida digestão; VFCF2 = volume máximo de gases produzidos pela degradação da fração insolúvel potencialmente degradável de lenta digestão; k1= taxa específica de produção de gases pela degradação da fração solúvel de rápida digestão; k2= taxa específica de produção de gases pela degradação da fração insolúvel potencialmente degradável de lenta digestão; t = tempo de incubação; e = exponencial; λ = fase de latência (*lag time*); ε= erro experimental associado a cada observação, suposto ~ NIID (0; σ²) experimental

Os parâmetros ajustados no modelo logístico bicompartimental foram estimados pelo procedimento NLIN do aplicativo SAS® com o método de Marquardt.

Para análise dos fatores que influenciaram o valor dos parâmetros foi utilizada a análise de medidas repetidas através da metodologia de modelos mistos por meio do procedimento PROC MIXED do SAS e a máxima verossimilhança restrita (REML) como o método de estimativa.

Para a modelagem da matriz de variância e covariância, observou-se a estrutura de R adequada para cada parâmetro considerando o menor valor do Critério de Informação de Akaike Corrigido (AICC).

Após definida a melhor estrutura da matriz R, o resultado do teste de efeito fixo obtido com esta matriz foi usado como critério decisório acerca da significância do efeito de tratamento (α=0,05). Nos casos em que o efeito de tratamento foi considerado significativo, os parâmetros foram submetidos à análise de regressão das estimativas dos parâmetros em função dos tratamentos pelo programa SAS®.

IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cinética de fermentação ruminal *in vitro*, avaliação de ácidos graxos, CO₂, CH₄, N-NH₃, pH, produção cumulativa de gases, carboidratos totais, carboidratos fibrosos e não fibrosos.

4.2. Glicerina Bruta

A cinética de fermentação ruminal *in vitro* foi alterada pelo uso da glicerina bruta. Comparando o controle com os demais níveis de inclusão foram observados menores valores para o volume final de gases provenientes dos carboidratos não fibrosos (VFCNF), no entanto a taxa de degradação dos carboidratos não fibrosos (KDCNF) aumentou, bem como o tempo de colonização (L), o volume final e a taxa de degradação de gases provenientes dos carboidratos fibrosos (VFCF e KDCF), resultou em menores valores para a degradação potencial (Pd) (Tabela 6).

Tabela 6. Percentual dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* em função dos níveis de substituição de glicerina bruta

Item	Glicerina Bruta (%)				0% vs todos ¹	3% vs (7% + 9%) ¹	7% vs 9% ¹
	0	3	7	9			
VFCNF (mL)	99,1	61,7	81,9	84,3	< 0,0001	< 0,0001	0,532
KDCNF (mLh ⁻¹)	0,05	0,11	0,10	0,09	< 0,0001	< 0,0001	0,0001
L (L, h)	6,2	6,1	6,3	6,7	< 0,0001	0,0006	0,0084
VFCF (mL)	92,1	132,7	122,7	135,6	< 0,0001	0,4146	0,0103
KDCF (mLh ⁻¹)	0,014	0,019	0,019	0,020	< 0,0001	0,0913	0,0249
Pd	99,6	61,8	82	85,1	< 0,0001	< 0,0001	0,5344

Em que: VFCNF: volume final de carboidratos não fibrosos; KDCNF: taxa de degradação de carboidratos não fibrosos; L: tempo de colonização; VFCF: volume final dos carboidratos fibrosos; KDCF: taxa de degradação dos carboidratos fibrosos; Pd: degradabilidade potencial

$V = [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 \cdot KDCNF \cdot (T-L))})] + [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 \cdot KDCF \cdot (T-L))})]$, ¹ valor de P

Comparando 3% de inclusão com 7% e 9% e 7% com 9%, observou-se maiores valores para o VFCNF, entretanto, decresceu os valores da KDCNF. Houve aumento do tempo de colonização conforme se incluiu a glicerina, assim como o VFCF, KDCF e Pd (Tabela 6).

De acordo com a figura 1, observa-se que o aumento no volume total de gases de acordo com o tempo de incubação foi proporcional à inclusão da glicerina. O volume de gases

provenientes da degradação dos carboidratos totais também aumentou de acordo com a inclusão da glicerina.

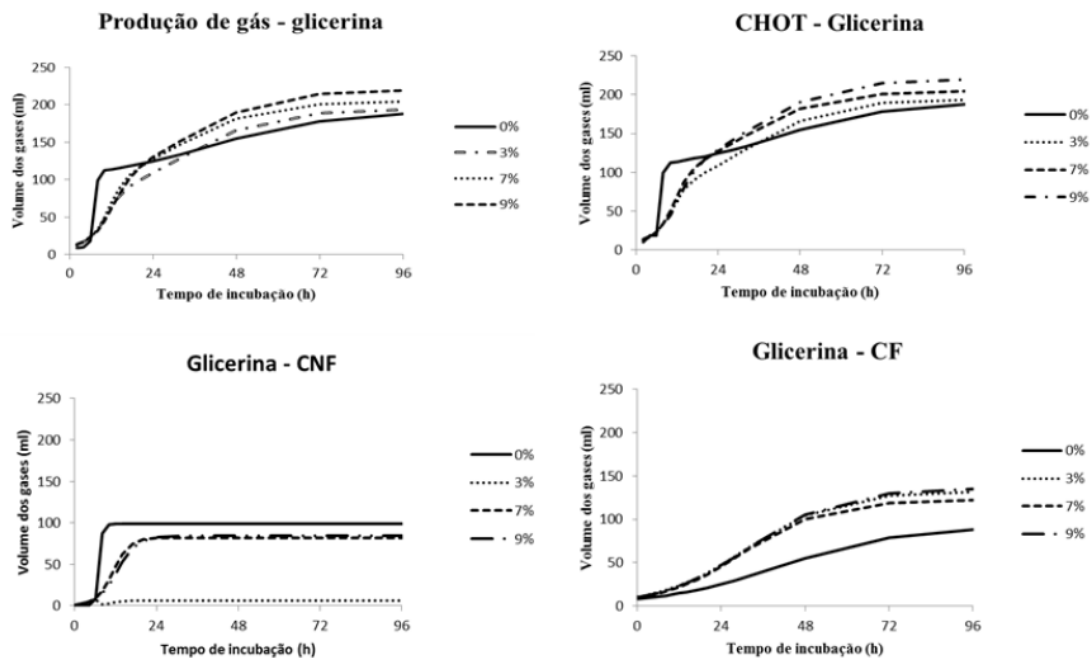


Figura 1. Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função do tempo de incubação da glicerina bruta nos níveis de 0%; 3%; 7% e 9% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos CNF: carboidratos não fibrosos e CF: carboidratos fibrosos

As taxas de degradação estão diretamente relacionadas com a solubilidade do substrato, crescimento e colonização dos microrganismos, além disso, as espécies de bactérias que degradam carboidratos não fibrosos (CNF) apresentam menor crescimento e eficiência em relação às espécies que degradam carboidratos fibrosos (CF).

A concentração de determinados nutrientes na dieta, principalmente o extrato etéreo e a proteína bruta, impediram ou dificultaram a ação dos microrganismos ao substrato. Visto que, conforme houve substituição da glicerina, a porcentagem CNF foi reduzida.

Assim como observados por Hess et al. (2008), os CNF, por serem mais facilmente fermentados liberam energia de forma rápida permitindo aproveitamento pela microflora ruminal, sendo os ácidos graxos voláteis oriundos desta fermentação destinados em grande parte para a via da gliconeogênese. Do mesmo modo, em ensaios *in vitro* a substituição até 15% de glicerina bruta não afetou a digestibilidade da fibra.

Os CNF não representam a principal fonte de energia para a população microbiana, aqueles que fazem parte da parede celular das plantas, basicamente representados pela celulose, hemicelulose e pectina (CF), são a principal fonte de energia, por isso, os impactos negativos influenciados pela presença da glicerina, de acordo com Oliveira Filho et al. (2014) são pouco significativos, porque permitem adesão ao substrato garantindo acessibilidade aos nutrientes e crescimento da micropopulação ruminal.

O tempo de colonização e a curva cumulativa dos gases foram elevados. Este processo pode ser explicado pela produção de gases por hora que foi alta, provavelmente o excesso de gases oriundos da fermentação diminuiu a atividade microbiana.

A produção de gases aumenta proporcionalmente a substituição da glicerina, embora a atividade microbiana seja diminuída. O tempo de colonização aumentou com a substituição da glicerina, indicando retardo na adesão e penetração dos microrganismos sobre o substrato, provavelmente pelo aumento da FDN. Em pesquisa semelhante, Lage et al. (2010), associam este processo a inibição do crescimento de bactérias, especialmente as celulolíticas e protozoários, dificultando a ação dos microrganismos sobre o substrato.

O tempo de colonização permite estimar o início da ação microbiana sobre o substrato, o seu valor está diretamente ligado à quantidade de nutrientes fermentescíveis e as propriedades do substrato que dificultam ou estimulam a atividade microbiana (SILVA et al., 2012).

O volume de gases provenientes da produção de ácidos graxos voláteis foi alterada, visto que, houve aumento da produção de acordo com a inclusão da glicerina bruta. Os ácidos acético e butírico apresentaram comportamento quadrático, enquanto a produção do ácido propiônico aumentou de forma linear conforme houve inclusão da glicerina bruta (Tabela 7).

Tabela 7. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de substituição de glicerina bruta

Item	Glicerina Bruta (%)				L	Q
	0	3	7	9		
Acético ¹	6,6	13,8	16,1	14,4	< 0,0001	0,0002
Propiônico ¹	1,6	8,6	12,7	12,9	< 0,0001	0,0852
Butírico ¹	1,4	3,5	4,4	4,1	< 0,0001	0,0003

Em que: 1Mol/mL; 2Valor de P. Equações: Ácido acético: $6,6074 \pm 0,5067^* + 3,1324 \pm 0,7794X^{**} - 0,2524 \pm 0,09370X^{2*}$; Ácido propiônico: $1,6439 \pm 0,1467 + 1,4646 \pm 0,1338X^*$; Ácido butírico: $1,4000 \pm 0,1664 + 0,8792 \pm 0,2370X^* - 0,006417 \pm 0,2957X^{2***}$

Na avaliação da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄), observou-se aumento na produção dos dois gases. Nota-se aumento linear positivo na produção de CO₂ e quadrático para a produção de CH₄ (Tabela 8).

Tabela 8. Proporção dos parâmetros de produção de CO₂ e CH₄ em função dos níveis de substituição de glicerina bruta

Item	Glicerina Bruta (%)				L	Q
	0	3	7	9		
CO ₂ (ml/g MS)	27,2	52,8	53,6	54,5	<0,0001	<0,0001
CH ₄ (ml/g MS)	2,9	29,6	32,1	31,3	0,0001	0,0029

CO₂= $27,5098 \pm 1,1581^* + 10,0688 \pm 1,0435X^* - 0,7917 \pm 0,1138X^{2**}$; CH₄= $3,0899 \pm 1,8596 \text{ ns} + 10,8481 \pm 1,9352X^* - 0,8823 \pm 0,2338X^{2**}$

A glicerina, segundo López et al. (2009), favorece a produção de ácidos graxos que serão utilizados pelos microrganismos do rúmen para produção de energia e proteína microbiana, permitindo quantidade adequada de nutrientes disponíveis para a degradação através do processo da fermentação ruminal.

A degradação dos carboidratos fibrosos durante o processo de fermentação fornece glicose aos microrganismos e liberam para o meio ruminal os ácidos graxos voláteis como o acético, propiônico e em menor concentração o butírico. O presente estudo, mostra que, à medida que se aumenta o nível de substituição da glicerina bruta a razão acético:propiônico aumenta em detrimento ao butírico, favorecendo a produção de metano, provavelmente a produção do ácido propiônico não reduziu a disponibilidade do H₂ circulante, favorecendo as metanogênicas.

Diferente dos dados do presente estudo, Machado et al. (2011) e Demarch et al. (2016), obtiveram uma razão diferenciada acetato:butirato com a substituição da glicerina, afirmando que esta produção favorece a metanogênese, já o propionato reduz a disponibilidade de H₂ que seria destinada para a produção de metano.

A presença da glicerina permitiu quantidade de substrato suficiente para o crescimento e adesão bacteriana, bem como atividade metanogênica. Este processo pode ser explicado pela liberação de H₂ no rúmen através da redução de co-fatores NADH₂, NADPH₂ e FADH₂

para NAD, NADP e FAD, o hidrogênio disponível, de acordo com Astals et al. (2011), promoveria inibição dos microrganismos do rúmen inviabilizando em parte a fermentação ruminal.

A substituição da glicerina acima de 6,2% inibe a produção dos ácidos acético e butírico, sem, contudo, reduzir a produção do ácido propiônico que aumenta em 1,46 mol/ml para cada unidade de glicerina. Isso pode justificar menor produção de gás na fração carboidrato não fibrosos, que por serem de rápida degradação, favorecem a produção de ácidos graxos, porém o glicerol, componente da glicerina, favorece a produção do propionato, explicando a redução do acetato no presente estudo (SILVA et al., 2015).

De acordo com a produção de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), observa-se maior produção conforme houve inclusão da glicerina bruta, apresentando crescimento quadrático, já o pH manteve-se constante conforme houve inclusão da glicerina bruta (Tabela 9).

De acordo com observações feitas por Abo El-nor et al. (2010) e Chanjula et al. (2014), a presença da glicerina bruta promove mudança na fermentação dos carboidratos reduzindo a produção de acetato e aumento do propionato e conseqüentemente menor produção de metano pela menor quantidade de H₂ disponível.

A substituição da glicerina bruta interferiu nos parâmetros da cinética de fermentação ruminal, aumentando a produção de CH₄ e CO₂. No entanto, melhora o aproveitamento dos carboidratos não fibrosos, favorecendo a produção do ácido propiônico.

No presente estudo a presença da glicerina não reduziu a produção de acetato em detrimento do propionato e butirato, liberando H₂ e CO₂, favorecendo a produção de CH₄ que aumentou à medida que se incluiu glicerina. Do mesmo modo Hess et al. (2008), obtiveram resultados opostos, em que a presença da glicerina bruta não afetou a produção de AGV, embora o propionato seja o principal ácido graxo encontrado, seguido do butirato e acetato.

Tabela 9. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH₃ e pH em função dos níveis de substituição de glicerina bruta

Item	Glicerina Bruta (%)				L	Q
	0	3	7	9		
N-NH ₃ (ml/g MS)	24,8	23,8	24,6	24,6	0,9802	0,6191
pH	6,9	6,9	6,9	6,9	-	-

Em estudo semelhante Abo El-Nor et al. (2010), observaram que a disponibilidade de nutrientes para a síntese proteica, está ligada a atividade microbiana, quantidade adequada de AGV, pH não superior a 7 e presença de N-NH₃, garantindo ambiente ruminal adequado para o desenvolvimento dos microrganismos, bem como, para os processos de degradação.

Nota-se que os valores de N-NH₃ foram proporcionais aos níveis de substituição da glicerina, fornecendo nutrientes suficientes para manutenção do ecossistema ruminal e balanço energético positivo, permitindo crescimento e desenvolvimento dos microrganismos. A faixa de variação de valores entre 6,5 a 6,9 de pH verificados, permite aos microrganismos a degradação dos carboidratos para o fornecimento de energia. Do mesmo modo Medeiros e Marino (2015), afirmam que o valor do pH ruminal está ligado a taxa de degradação da fibra, pois quanto menor o valor de pH (abaixo de 6,2), menor será a sobrevivência e crescimento microbiano, o que comprometerá as taxas de degradação e produção de AGV.

Entretanto, são necessários estudos *in vivo* para estimar o uso ideal da glicerina bruta, sem interferir nos parâmetros ruminais.

4.3. Farelo de Mamona

O uso do farelo de mamona alterou a fermentação ruminal *in vitro*. Comparando o controle com os demais níveis observa-se redução no VFCNF conforme houve a inclusão do farelo de mamona. Já analisando a produção dos gases provenientes da degradação dos KDCNF, L, VFCE e KDCF, observou-se maiores valores conforme houve a inclusão do farelo de mamona. Houve redução da Pd de acordo com a inclusão do farelo de mamona (Tabela 10).

Tabela 10. Proporção dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona

Item	Farelo de mamona (%)				0% vs todos ¹	33% vs (67% e 100%) ¹	67% vs 100% ¹
	0	33	67	100			
VFCNF(mL)	99,1	53,1	65,4	83,6	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
KDCNF (mlh ⁻¹)	0,055	0,074	0,100	0,124	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
L (L, h)	6,2	11,1	7,9	7,2	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0792
VFCF (mL)	92,1	117,6	125,2	126,1	< 0,0001	0,119	0,8814
KDCF (mlh ⁻¹)	0,014	0,012	0,023	0,025	< 0,0001	< 0,0001	0,0009
Pd	99,2	53,1	65,5	83,7	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Em que: VFCNF: volume final de carboidratos não fibrosos; KDCNF: taxa de degradação de carboidratos não fibrosos; L: tempo de colonização; VFCF: volume final dos carboidratos fibrosos; KDCF: taxa de degradação dos carboidratos fibrosos; Pd: degradabilidade potencial e Ed: degradabilidade efetiva. $V = [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 \cdot KDCNF \cdot (T-L))})] + [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 \cdot KDCF \cdot (T-L))})]$. ¹ Valor de P

Comparando 33% com 67% e 100% e 67% com 100%, observa-se que o VFCNF e KDCNF aumentaram conforme houve inclusão do farelo de mamona, já para o tempo de colonização, houve menores valores. O VFCF, KDCF e a Pd, apresentaram maiores valores conforme houve a inclusão do farelo de mamona (Tabela 10).

Analisando a produção do volume de gases provenientes da degradação dos carboidratos, nota-se que no nível de 33% desta produção foi rápida, regredindo ao longo do período de incubação. Já na inclusão de 33% com 67% observa-se maior produção do volume desses gases ao longo do processo de incubação (Figura 2).

O volume de gases produzidos ao longo do período de incubação pela degradação dos CNF regrediu conforme houve inclusão do farelo de mamona, já a produção dos gases provenientes da degradação dos CF aumentou conforme incluiu-se o farelo de mamona (67% e 100%) (Figura 2).

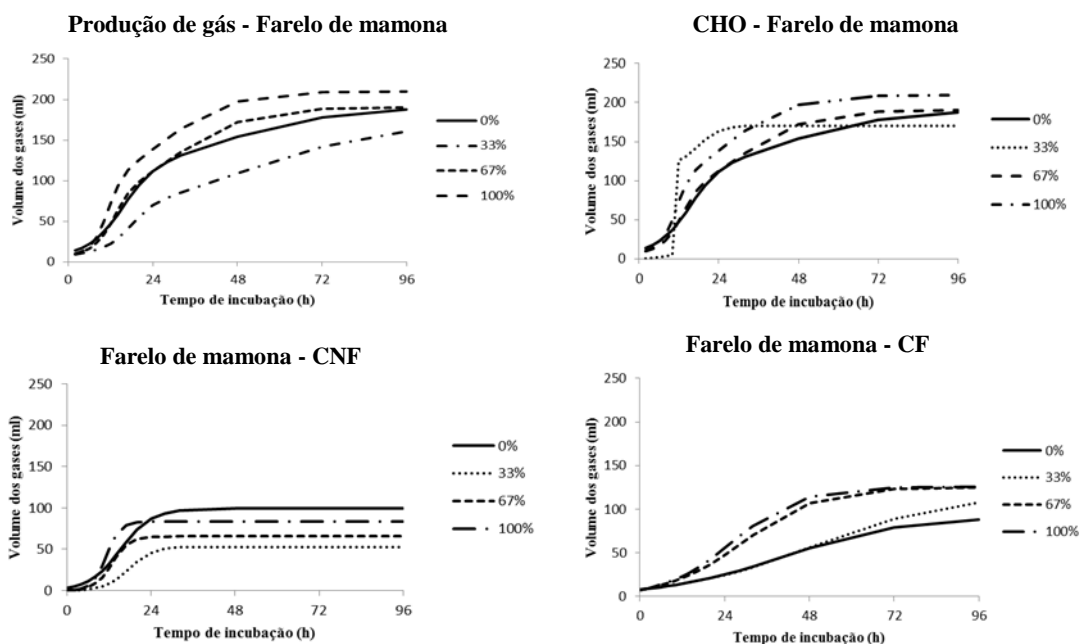


Figura 2. Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função do tempo de incubação do farelo de mamona nos níveis de 0%; 33%; 67% e 100% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos CNF: carboidratos não fibrosos e CF: carboidratos fibrosos

No presente estudo, o volume final dos carboidratos não fibrosos foi maior quando não havia a presença do farelo de mamona, mesmo apresentando na composição bromatológica quantidades elevadas deste carboidrato. Provavelmente os microrganismos tiveram acesso restrito aos componentes digestíveis ou estavam em menor concentração, visto que, compostos nitrogenados favorecem o crescimento de microrganismos que degradam carboidratos fibrosos.

Quando houve a substituição total do farelo de mamona (100%), as taxas de degradação tanto dos carboidratos fibrosos e não fibrosos eram maiores, indicando que a degradação dos componentes dos carboidratos, seguido pelo processo de fermentação, mesmo tendo ação microbiana lenta (alto tempo de colonização) sobre o substrato conforme se incluía o farelo de mamona. Diferente dos dados de Silva et al. (2010), avaliando a degradação ruminal, afirmaram que o farelo de mamona não interfere no metabolismo ruminal.

Os valores de degradação potencial e efetiva foram maiores quando não havia a presença do farelo de mamona, indicando menor ação dos microrganismos às frações dos alimentos, reduzindo a disponibilidade de nutrientes.

A taxa de colonização e a curva cumulativa de gases foram altas, que pode ser explicado pela produção de gases alta de gases por hora devido à facilidade de acesso dos microrganismos aos carboidratos, porém o excesso de produtos finais da fermentação e o menor aporte de N inibiu a ação fermentativa ao longo do período de incubação diminuindo a atividade microbiana.

Em estudo semelhante Silva et al. (2012), afirmaram que o tempo de colonização permite estimar o início da ação microbiana sobre o substrato, o seu valor está diretamente ligado à quantidade de nutrientes fermentescíveis e as propriedades do substrato que dificultam ou estimulam a atividade microbiana.

Do mesmo modo Menezes et al. (2015), observaram que com o incremento do Farelo de Mamona, ocorre aumento nos teores de carboidratos de fermentação mais lenta, retardando o tempo de colonização.

Os ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico), produzidos durante o processo de fermentação in vitro, apresentaram crescimento quadrático conforme houve a inclusão do farelo de mamona (Tabela 11).

Tabela 11. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona

Item	Farelo de mamona (%)				L	Q
	0	33	67	100		
Acético ¹	6,6	9,1	14,7	13,0	<0,0001	0,0753
Propiônico ¹	1,6	38,8	9,4	8,2	0,2515	<0,0001
Butírico ¹	1,4	2,1	4,7	3,5	<0,0001	0,0027

Em que: ¹Mol/mL; ² valor de P. Equações: Ácido acético: $6,6633 \pm 0,4966 + 0,07450 \pm 0,01445X^*$; Ácido propiônico: $1,6267 \pm 0,1470^* + 0,2416 \pm 0,06556x^* - 0,00178 \pm 0,000718X^{2***}$; Ácido butírico: $1,4110 \pm 0,1603 + 0,02226 \pm 0,003617X^*$

Assim como aos observados por Kumar et al. (2007), a degradação dos carboidratos fornece glicose que permite aos microrganismos do rúmen a produção de ácidos graxos, principalmente os ácidos acético, propiônico e em menor concentração o butírico. Estes compostos tem como principal função fornecer energia na forma de ATP. Altas concentrações de ácido acético favorecem a produção de metano, já a formação do propionato retira o excesso de hidrogênio do meio ruminal reduzindo a atividade das metanogênicas.

Em pesquisa semelhante, Silva et al. (2015), observaram que quantidade de proteína bruta presente no farelo de mamona, favorece a produção dos ácido acético e butírico e menor

produção do ácido propiônico, este processo disponibiliza H₂ e CO₂, favorecendo a produção de metano.

Analisando a produção de gases provenientes do processo de fermentação observa-se que tanto CO₂ quanto CH₄, aumentaram conforme houve a inclusão do farelo de mamona. O CO₂ apresentou comportamento linear, já a produção do gás metano apresentou comportamento quadrático (Tabela 12).

Tabela 12. Proporção dos parâmetros de produção de CO₂ e CH₄ em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona

Item	Farelo de mamona (%)				L	Q
	0	33	67	100		
CO ₂ (ml/g MS)	27,2	51,4	57,9	59,0	<0,0001	<0,0001
CH ₄ (ml/g MS)	2,9	10,8	51,3	42,9	<0,0001	0,0030

CO₂=27,6456±1,1504* + 0,8645±0,06317X* - 0,00558±0,000625X²*; CH₄=2,6725±1,8668ns + 0,1689±0,07903X*** + 0,002422±0,00077X²; ¹ valor de P

As *Archeas metanogênicas* utilizam o H₂ para reduzir CO₂ a CH₄. O excesso de H₂ no rúmen promoveria inibição dos microrganismos inviabilizando a continuidade da fermentação ruminal, desta forma, as *Archeas metanogênicas* utilizam o H₂ livre para reduzir CO₂ a CH₄, permitindo continuidade no processo de fermentação.

Do mesmo modo, Abdalla et al. (2008), Astals et al. (2011) e Morsy et al. (2015), avaliando a produção de metano entérico associaram a sua redução ao uso de tortas com alto teor de gordura que favorece a mitigação por reduzir a matéria orgânica fermentável no rúmen. Os lipídios não são fonte de energia para as bactérias ruminais, reduzindo a atividade das metanogênicas pela presença de ácidos graxos de cadeia média, menor produção de H₂ e efeito tóxico.

A produção de N-NH₃ foi reduzida de forma quadrática conforme houve a inclusão do farelo de mamona, já o pH manteve-se constante ao longo do período de incubação conforme houve a inclusão do farelo de mamona (Tabela 13).

Tabela 13. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH₃ e pH em função dos níveis de inclusão do farelo de mamona

Item	Farelo de mamona (%)				L	Q
	0	33	67	100		
N-NH ₃ (ml/g MS)	24,8	20,4	19,4	20,0	0,0272	0,1046
pH	6,9	6,9	6,9	6,9	-	-

N-NH₃= 24,1853±0,9584* - 0,06705±0,0182X***¹ valor de P

O nitrogênio amoniacal está ligado ao crescimento microbiano pela formação de amônia que será usada na produção de proteína microbiana. No presente estudo, sua produção foi acordo com a quantidade de proteína estabelecida em cada nível de substituição. Em pesquisa semelhante, Diniz et al. (2011), associa a atividade microbiana aos valores de N-NH₃ e pH, que estão relacionados a degradação potencial, efetiva e produção de ácidos graxos, afirmando que a presença do N-NH₃ forneceu nutrientes suficientes para manutenção do ecossistema ruminal e balanço energético positivo, permitindo o crescimento e o desenvolvimento dos microrganismos.

Observando parâmetros nutricionais no uso do farelo de mamona, Diniz et al. (2011), encontrou valores de N-NH₃ e pH semelhantes ao presente estudo, indicando que mesmo com a presença do nitrogênio não proteico presente no farelo de mamona para o ajuste proteico da dieta com a ureia, não houve interferência no crescimento e atividade microbiana.

Os valores de pH são importantes para a manutenção da microbiota ruminal que está ligado a taxa de degradação dos CNF. Quanto menor o pH, menor será a sobrevivência e crescimento microbiano, comprometendo as taxas de degradação e produção de AGV. Assim, como ao observado por Correia et al. (2011), no presente estudo os valores de pH beneficiaram a ação dos microrganismos sobre a fração fibrosa.

A substituição de 100% do farelo de soja pelo farelo de mamona, não afetaria negativamente a degradação ruminal, entretanto, o uso desta oleaginosa não favoreceu a mitigação do metano entérico.

Co-produtos provenientes de compostos com altos teores de óleo como a mamona apresentam capacidade de mitigação do metano entérico, sem comprometer a biomassa bacteriana, entretanto, são necessários estudos *in vivo* para determinar a viabilidade do uso do farelo de mamona.

4.4. Torta de Dendê

Houve modificações na cinética de fermentação ruminal *in vitro* conforme se incluiu a torta de dendê. Nota-se comportamento semelhante para a produção de gases na comparação do controle com os outros níveis e na comparação de 10% com 20% e 30% de substituição. Em que há redução na produção dos gases provenientes do VFCNF, já para KDCNF, L, VFCF e KDCF apresentam maiores valores de acordo com o nível de inclusão. A degradação potencial (Pd) apresentou menores valores nas duas comparações (0% vs todos e 10% vs 20% e 30%) (Tabela 14).

Tabela 14. Percentual dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* em função dos níveis de inclusão da torta de dendê

Item	Torta de dendê (%)				0% vs todos ¹	10% vs (20% + 30%) ¹	20% vs 30% ¹
	0	10	20	30			
VFCNF(mL)	99,1	111,5	75,9	95,4	0,1000	< 0,0001	< 0,0001
KDCNF (mlh ⁻¹)	0,055	0,055	0,099	0,068	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
L (L, h)	6,2	6,3	6,5	6,7	0,0124	0,0657	0,4674
VFCF (mL)	92,1	94,3	112	116,6	< 0,0001	< 0,0001	0,3697
KDCF (mlh ⁻¹)	0,014	0,015	0,017	0,024	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Pd	99,2	111,5	76	95,5	0,0695	< 0,0001	< 0,0001

Em que: VFCNF: volume final de carboidratos não fibrosos; KDCNF: taxa de degradação de carboidratos não fibrosos; L: tempo de colonização; VFCF: volume final dos carboidratos fibrosos; KDCF: taxa de degradação dos carboidratos fibrosos; Pd: degradabilidade potencial e Ed: degradabilidade efetiva. $V = [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 * KDCNF * (T-L))})] + [VFCF / (1 + \exp^{(2+4 * KDCF * (T-L))})]$. ¹ Valor de P

Na comparação de 20% com 30% de substituição do farelo de soja pela torta de dendê, o VFCNF apresentou maiores valores, ocorrendo o oposto com a KDCNF. Maiores valores foram encontrados nos demais parâmetros analisados (L, VFCF, KDCF e Pd) (vide Tabela 14).

De acordo com o volume de gases produzidos durante o período de incubação observa-se maior produção conforme houve a inclusão da torta de dendê, bem como a produção de gases provenientes da degradação dos carboidratos totais (Figura 3).

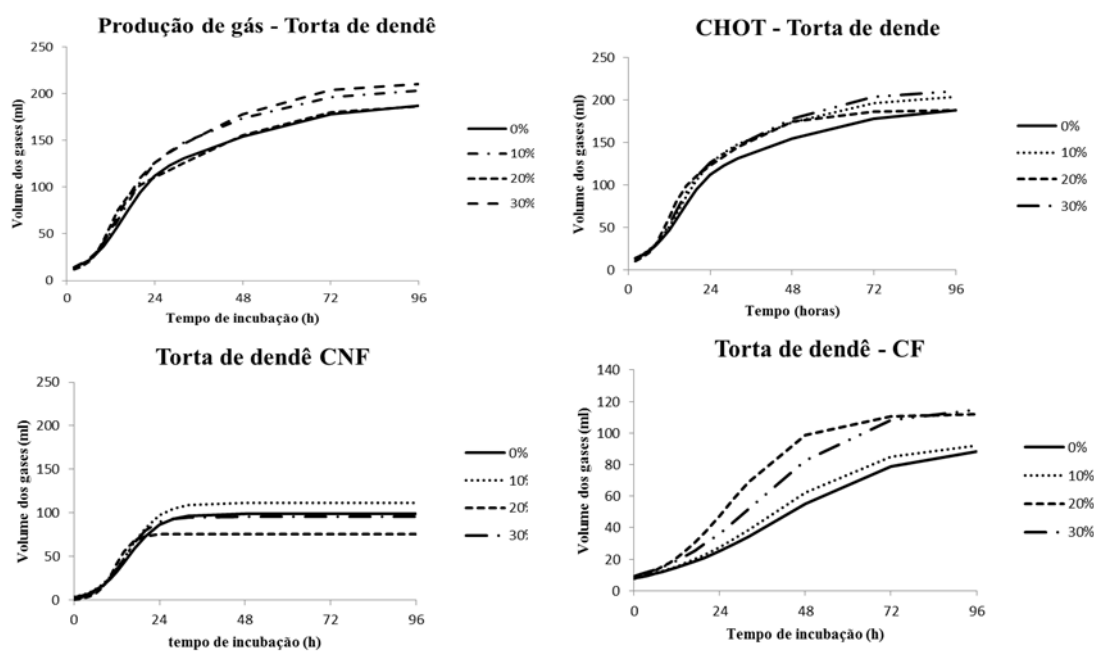


Figura 3. Produção de gases da fermentação ruminal *in vitro* em função dos tempos de incubação da torta de dendê nos valores de 0; 10%; 20% e 30% de inclusão. Em que: CHO: carboidratos; CF: carboidratos fibrosos e CNF: carboidratos não fibrosos

A produção de gases provenientes da degradação dos CNF foi maior durante o período de incubação apenas quando a inclusão foi de 10% de inclusão da torta de dendê, já o volume de gases provenientes da degradação dos CF foi maior quando a inclusão da torta de dendê foi de 20% (Figura 3).

Nota-se degradação lenta dos carboidratos não fibrosos, provavelmente pela não adaptação dos microrganismos aos componentes da torta de dendê, menor acesso aos componentes digestíveis ou porque os microrganismos que degradam este tipo de carboidrato estavam em menor concentração. O volume final dos carboidratos não fibrosos foi baixo, mesmo apresentando quantidades elevadas de CNF nos níveis de substituição da torta de dendê nas dietas.

Provavelmente, o farelo de trigo contribuiu com maiores teores de CNF do que a torta de dendê devido à redução da porcentagem de matéria seca conforme houve a inclusão da torta de dendê, visto que, com o aumento dos níveis de substituição da torta, a proporção deste ingrediente diminuiu e, conseqüentemente, reduziu a quantidade CNF. Embora, a presença de compostos nitrogenados favoreça o crescimento de microrganismos que degradam carboidratos fibrosos.

Assim como aos observados por Oliveira et al. (2015), a substituição da torta de dendê na dieta, aumenta os teores de carboidratos de fermentação mais lenta, levando a multiplicação de microrganismos com características de tempo de colonização tardio.

Os valores de degradação potencial e efetiva foram semelhantes quando não havia a presença da torta de dendê, indicando ação dos microrganismos às frações dos alimentos e disponibilidade de nutrientes, porém, efeito oposto ocorreu conforme a substituição da torta aumentava, indicando menor atividade microbiana, que pode estar associada à presença de altas concentrações de FDN, EE e lignina, por retardar o crescimento e a fermentação microbiana, pela redução da ação desses microrganismos na fibra.

Do mesmo modo Maciel et al. (2012), associaram a baixa degradabilidade à presença de conteúdo lignificado, assim como o aumento dos valores do extrato etéreo com a substituição da torta de dendê, que possivelmente recobriu as fibras e reduziu a disponibilidade dos compostos nitrogenados para os microrganismos do rúmen.

Já a curva cumulativa de gases e o tempo de colonização foram elevados. Este processo pode ser explicado pela produção de gases por hora que foi alta devido à facilidade de acesso dos microrganismos aos carboidratos, porém, o excesso de produtos finais da fermentação e o menor aporte de N inibiu a ação fermentativa diminuindo a atividade microbiana.

De acordo com Silva et al. (2012), o tempo de colonização permite estimar o início da ação microbiana sobre o substrato, o seu valor está diretamente ligado à quantidade de nutrientes fermentescíveis e as propriedades do substrato que dificultam ou estimulam a atividade microbiana.

Assim como aos observado por Correia et al. (2011), o aumento na produção total de gases é causado pela presença de microrganismos que degradam CF que produzem maior quantidade de gases por grama de material degradado, quando comparados àqueles que degradam CNF.

A degradação dos carboidratos fornece glicose que permite aos microrganismos do rúmen a produção de ácidos graxos, principalmente os ácidos acético, propiônico e em menor concentração o butírico. Estes compostos têm como principal função fornecer energia na forma de ATP.

Analisando a produção de ácidos graxos voláteis durante o processo de degradação *in vitro* das dietas contendo níveis crescentes de torta de dendê, observa-se maior produção de

forma linear conforme aumentou os níveis de inclusão para a produção dos ácidos acético, butírico e propiônico (Tabela 15).

Tabela 15. Proporção dos parâmetros de produção de ácidos graxos voláteis em função dos níveis de inclusão da torta de dendê

Item	Torta de dendê (%)				L	Q
	0	10	20	30		
Acético ¹	6,6	12,6	13,3	14,3	<0,0001	0,0340
Propiônico ¹	1,6	7,4	7,5	7,8	0,0304	0,1611
Butírico ¹	1,4	3,7	3,7	4,2	<0,0001	0,0043

Em que: ¹Mol/mL. ² valor de P. Ácido acético: $6,7471 \pm 0,5014 + 0,2949 \pm 0,05609X^*$; Ácido propiônico: $1,6287 \pm 0,1469 + 0,6198 \pm 0,1492X^* - 0,01410 \pm 0,005554X^{2***}$; Ácido butírico: $1,4583 \pm 0,1648 + 0,1071 \pm 0,01753X^*$

Nota-se aumento da produção de AGV conforme houve substituição da torta de dendê. Este fator pode ser explicado pelo aumento da proteína bruta e FDN, que, provavelmente foram fermentados de forma rápida, favorecendo os microrganismos ruminais.

De acordo com os dados da produção de AGV, o presente estudo foi semelhante aos observados por Goularte et al. (2011), em que houve aumento na produção de AGV conforme se incluiu a torta de dendê, associando este fator à presença da PB, FDN e pH acima de 6,2, estes fatores contribuíram para o crescimento e atividade microbiana.

Ao estimar os pontos de mínima e de máxima, nota-se que a substituição de 22% favorece a produção do ácido propiônico, limitando os ácidos acético e butírico. A produção do ácido propiônico reduz a quantidade de H₂ que estaria disponível para a produção de metano, favorecendo a mitigação do metano entérico.

Os lipídios presentes nas oleaginosas favorecem a produção de acetato e butirato, liberando CO₂ e H₂, que estariam livres para a produção de metano. No presente estudo, houve aumento na produção dos três ácidos, a produção do propionato provavelmente retirou do meio o excesso de H₂ que estaria disponível para as metanogênicas.

Analisando o percentual de produção dos gases CO₂ e CH₄, nota-se aumento de forma quadrática conforme houve a inclusão da torta de dendê (Tabela 16).

Tabela 16. Proporção dos parâmetros de produção de CO₂ e CH₄ em função dos níveis de substituição de torta de dendê

Item	Torta de dendê (%)				L	Q
	0	10	20	30		
CO ₂ (ml/g MS)	27,3	59,3	57,0	55,6	<0,0001	<0,0001
CH ₄ (ml/g MS)	2,9	43,1	39,1	53,5	<0,0001	0,0022

$$CO_2=27,4882\pm 1,1594^* + 4,2086\pm 0,2242X^* - 0,1098\pm 0,007104X^2^*; CH_4=3,5382\pm 1,8524^{ns} + 1,7555\pm 0,1382X^*$$

Segundo Morais et al. (2006), o baixo teor de carboidrato não fibroso da torta de dendê favorece o crescimento de bactérias Gram-negativas amilolíticas produtoras de ácido succínico e por fermentar ácido láctico e utilizar o H₂ para produção de ácido propiônico, auxilia na manutenção dos valores de pH no rúmen.

Kumar et al. (2007), afirmaram que o ácido acético favorece a formação de metano entérico pela presença de H₂ disponível no rúmen, entretanto para a formação do propionato há necessidade do uso de H₂, retirando o excesso de hidrogênio do meio ruminal reduzindo a atividade das metanogênicas.

No presente estudo observou-se altas concentrações de CH₄. Provavelmente, o aumento da quantidade de extrato etéreo conforme houve a substituição da torta de dendê, permitiu a produção de ácidos graxos insaturados e triglicerídeos, que, de acordo com Fávoro et al. (2016), pode colaborar para a produção de metano, devido a liberação de H₂.

Diferentes dados do presente estudo foram encontrados por Abdalla et al. (2008), Berchielli et al. (2012) e Morsy et al. (2015), ao observarem redução da produção de metano com o uso de tortas com alto teor de gordura, associando a este processo a redução da matéria orgânica fermentável no rúmen. Os lipídios não são fonte de energia para os microrrorganismos ruminais e sua presença promoveria redução na atividade das metanogênicas pela presença de ácidos graxos de cadeia média, menor produção de H₂ e efeito tóxico.

Segundo Pereira et al. (2015), algumas estratégias podem ser adotadas para a mitigação do metano entérico, como a redução da produção de H₂ sem prejudicar a digestão dos alimentos, assim como, inibição das *Archeas metanogênicas* através do estímulo de vias que consomem H₂ para evitar os efeitos negativos do aumento da pressão parcial de H₂ no rúmen.

De acordo com os parâmetros de produção de N-NH₃ observa-se redução de forma quadrática conforme houve a inclusão da torta dendê, já o pH, manteve-se constante (Tabela 17).

Tabela 17. Proporção dos parâmetros de produção de N-NH₃ e pH em função dos níveis de inclusão da torta de dendê

Item	Torta de dendê (%)				L	Q
	0	10	20	30		
N-NH ₃ (ml/g MS)	24,9	18,3	29,5	23,6	0,3658	0,8712
pH	6,9	6,9	6,9	6,9	-	-

A produção de N-NH₃ foi alta justamente quando os valores da Pd e Ed foram menores. Cabral et al. (2008), alegaram que o nitrogênio amoniacal está ligado ao crescimento microbiano pela formação de amônia que será usada na produção de aminoácidos para produção de proteína microbiana.

No presente estudo houve maior produção do N-NH₃ quando não havia torta de dendê e quando a substituição foi de 20%, voltando a regredir com 30% de substituição. Isto ocorre quando há menor produção de energia, em que os microrganismos passam a utilizar os peptídeos e aminoácidos como fonte de energia, ocorrendo o acúmulo de N-NH₃ no meio, sendo dependente da degradabilidade da fonte protéica, disponibilidade de carboidratos e do equilíbrio entre sua produção e utilização pelos microrganismos.

Em se tratando do pH, sabe-se que, quanto menor, a sobrevivência e o crescimento microbiano serão comprometidos. No presente estudo observou-se valores entre 6,5 a 6,9, provavelmente estes valores não interferiram na ação dos microrganismos, permitindo a degradação dos carboidratos e disponibilidade de energia. Estes dados assemelham-se aos valores de pH encontrados por Correia et al. (2011), vinculando aos valores de pH a fermentação e a produção de AGV, por permitirem atividade celulolítica e crescimento microbiano não comprometendo a fermentação ruminal.

Sendo assim, a substituição da torta de dendê a partir de 22%, não causaria maiores danos aos microrganismos do rúmen.

Co-produtos provenientes de compostos com altos teores de óleo apresentam capacidade de mitigação do metano entérico, porém podem comprometer a biomassa bacteriana. Portanto, são necessários estudos *in vivo* para determinar a viabilidade do uso da torta de dendê sem comprometer a disponibilidade de nutrientes e a fermentação ruminal.

V-CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a glicerina bruta valores a partir de 6,2%, 100% do farelo de mamona e 22% da torta de dendê, são viáveis, pois permitem um bom aproveitamento pela microbiota ruminal, não alterando de forma negativa o padrão de fermentação. São necessários estudos *in vivo* para definir de forma concreta a viabilidade de co-produtos agroindustriais nas dietas de ruminantes, bem como sua capacidade de mitigação do metano entérico.

VI -REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A.L. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.37, suplemento especial, p.260-258, 2008.
- ABO EL-NOR, S. et al. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bactéria. **Animal Feed Science and Technology**. n. 162, p. 99–105, 2010.
- ASTALS, S. et al. Co-digestion of pig manure and glycerine: Experimental and modelling study. **Journal of Environmental Management**. n.92, p. 1091e1096, 2011.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington. 1990.
- BERCHIELLI, T.T. et al. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.13, n.4, p.954-968, 2012.
- CABRAL, L.S.C. et al. Eficiência microbiana e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas à base de volumosos tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.37, n.5, p.919-925, 2008.
- CORREIA, B.R. et al. Consumo, digestibilidade e pH ruminal de novilhos submetidos a dietas com tortas oriundas da produção do biodiesel em substituição ao farelo de soja. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.63, n.2, p.356-363, 2011.
- CHANJULA, P. et al. Effects of Dietary Crude Glycerin Supplementation on Nutrient Digestibility, Ruminal Fermentation, Blood Metabolites, and Nitrogen Balance of Goats. **Asian Australian Journal of Animal Science**. v. 27, n. 3, p. 365-374, 2014.
- DEMARCHI, J.J.A.A.. et al. Effect of Seasons on Enteric Methane Emissions from Cattle Grazing *Urochloa brizantha*. **Journal of Agricultural Science**. v. 8, n. 4, p. 106-115, 2016.
- DINIZ, L.L. et al. Castor bean meal for cattle finishing: Nutritional parameters. **Livestock Science**. v. 135, p.153–167, 2011.
- FAVARO, V. R. et al. Carcass traits and meat quality of Nellore cattle fed different non-fiber carbohydrates sources associated with crude glycerin. **Cambridge Journals**. v. 1, p. 1-7, 2016.
- GOULARTE, S. R. et al. Comportamento ingestivo e digestibilidade de nutrientes em vacas submetidas a diferentes níveis de concentrado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, n. 63, v. 2, p. 414-422, 2011.
- HESS, B.W. et al. Using glycerin as a supplement for forage-fed ruminants. **Journal of Animal Science**, v.86, p.392 (E-Suppl.2), 2008.
- HOLTSHAUSEN, L. et al. Feeding saponincontaining *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. **Journal Dairy Science**. v. 92, p. 2809-2821, 2009.

KUMAR, R. et al. *In vitro* Methanogenesis and Fermentation of Feeds Containing Oil Seed Cakes with Rumen Liquor of Buffalo. The Asian Australian. **Journal of Animal Science**. v. 20, n. 8, p. 1196 – 1200, 2007.

LAGE, J.F. et al. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.45, n.9, p.1012-1020, 2010.

LÓPEZ, J.A.S. et al. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**. n. 100, p. 5609–5615, 2009.

LOWE, S.E. et al. Growth of anaerobic rumen fungi on defined and semi-defined media lacking rumen fluid. **Journal of General Microbiology**. n. 131, p. 2225-2229, 1985.

MACIEL, R.P. et al. Consumo, digestibilidade e desempenho de novilhas leiteiras alimentadas com dietas contendo torta de dendê. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa v.41, n.3, p.698-706, 2012.

MACHADO, F.S. et al. Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação. **Embrapa gado de leite (Documentos 147)**, Juiz de Fora, MG, 2011.

MAURICIO, R.M. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, n. 4, v. 79, p. 321-330, 1999.

_____ Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 2, n. 55, p. 216-219, 2003.

MEDEIROS, S.R.; MARINO, C.T. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. In: Carboidratos na nutrição de gado de corte. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 18 p.

MENEZES, D.R. et al. Cinética ruminal de dietas contendo farelo de mamona destoxificado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 67, n.2, p.636-641, 2015.

MORAIS, J.A.S. et al. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p.539-570. 2006.

MOREIRA, M.N. et al. Effect of replacement of sugarcane by oilseed press cakes in greenhouse gases and volatile fatty acids production *in vitro*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 38, n. 3, p. 293-300, 2016.

MORSY, A.S. et al. Comparison of the *in vitro* efficiency of supplementary bee propolis extracts of different origin in enhancing the ruminal degradability of organic matter and mitigating the formation of methane. **Animal Feed Science and Technology**. v. 199, p. 51–60, 2015.

OLIVEIRA FILHO, C.A.A. et al. Glicerina bruta associada à silagem de sorgo em dietas para cordeiros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Viçosa, n. 2, v. 67, p. 474-482, 2014.

OLIVEIRA, M. V. et al. Consumo e digestibilidade de nutrientes da torta de dendê na dieta de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**. v.16, n.2, p.179-192, 2015.

PEREIRA, L.G.R. et al. Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. n. 28, p. 124-143, 2015.

SAS. **Statistical Analysis System**. Software, version 9.2. Cary: SAS Institute, 2008.

SILVA, D.C. et al. Metabolismo dos compostos nitrogenados em ovinos alimentados com dietas contendo farelo de mamona destoxificado. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 32, n. 2, p. 219-224, 2010.

SILVA, C.F.P.G. et al. Cinética e parâmetros de fermentação ruminal in vitro de silagens de parte aérea e raízes de mandioca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.64, n.6, p.1639-1648, 2012.

SILVA, L.S. et al. In vitro degradation and gas production of glycerin generated in the biodiesel production chain. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 37, n. 3, p. 265-272, 2015.

SNIFFEN, C.J. Balancing rations for carbohydrates for dairy cattle. In: Feed Dealer Seminars, New York. **Proceedings...** Cornell: Cornell Cooperative Extension. n. 112, p. 9-19, 1988.

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetic of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v. 11, n. 72, p. 2980-2991, 1994.

VAN SOEST, P.J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.