



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADA EM ZOOTECNIA NOS
TRÓPICOS (PPGIZT)

HYDA MAGNA FERREIRA MARTINS

LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) E
ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN*
***VITRO* DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES**
VOLUMOSO:CONCENTRADO

ARAGUAÍNA - (TO)

2023

HYDA MAGNA FERREIRA MARTINS

LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) E ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos (PPGIZT) como requisito parcial a obtenção do grau de MESTRA EM ZOOTECNIA.

Área de Concentração: Ciências Agrárias.

Orientador: Dr. Luciano Fernandes Sousa

Coorientadora: Dr^a. Elis Regina de Queiroz Vieira

ARAGUAÍNA - (TO)

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

M3861 MARTINS, HYDA MAGNA FERREIRA.
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) E ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL IN VITRO DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO. / HYDA MAGNA FERREIRA MARTINS. – Araguaína, TO, 2023.

108 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência Animal Tropical, 2023.

Orientador: LUCIANO FERNANDES SOUSA

Coorientadora : ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA

1. ADITIVO NATURAL. 2. DEGRADABILIDADE. 3. METANO. 4. PRODUÇÃO DE GASES. I. Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

HYDA MAGNA FERREIRA MARTINS

LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) E ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Integrada em zootecnia nos trópicos (PPGIZT) foi avaliada para obtenção do título de MESTRA EM ZOOTECNIA e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de Aprovação: 06/11/2023

Banca examinadora:

Presidente da banca de defesa e avaliadora: Prof.^a Dr.^a Deborah Ferreira Alves, UFNT



Documento assinado digitalmente
ELIS REGINA DE QUEIROZ VIEIRA
Data: 22/12/2023 07:43:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Elis Regina de Queiroz Vieira, UFNT

Avaliador: Prof. Dr. André Guimarães Maciel e Silva, UFPA

Avaliador: Prof. Dr. Robert Emílio Mora Luna, UC/CHILE

Dedico este trabalho aos meu orientador Prof. Dr. Luciano Fernandes Sousa (*in memoriam*), que acreditou que isso tudo seria possível e aos meus pais, José de Aquiles Rodrigues Martins e Thelma Ferreira Martins, pelo apoio de sempre.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradecer a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse na minha vida, por ter me dado saúde, força e perseverança para superar as dificuldades e desafios.

A Universidade Federal do Norte do Tocantins e ao Programa de Pós-Graduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos pela oportunidade de fazer o curso de mestrado nesta instituição.

Ao meu querido orientador professor Dr. Luciano Fernandes Sousa, que não se encontra mais entre nós, obrigada por acreditar que isso tudo seria possível, obrigada pelo suporte, correções, incentivo e confiança.

A minha co-orientadora, professora Dr.^a Elis Regina de Queiroz Vieira, que foi a minha maior incentivadora e amiga, que sem medir esforços, me ajudou em tudo para que esse trabalho fosse concluído.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudos, que foi de grande aporte financeiro para que eu pudesse continuar.

Ao secretário do PPGIZT, Jeekysson, por ser essa pessoa gentil e estar sempre à disposição para tirar nossas dúvidas e não medir esforços para ajudar e apoiar em qualquer situação.

Aos técnicos, Josimar e Adriano do Laboratório de Nutrição Animal, por ajudar nas análises, elaboração dos dados para esse trabalho, e acima de tudo, pela amizade.

Agradeço a todos os professores do programa de pós-graduação, em especial aos que tive a honra e oportunidade de obter conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação e pesquisa no processo da minha formação profissional, por terem não somente ensinado, mas por terem me feito aprender.

Agradeço a banca examinadora Prof.^a Dr.^a Deborah, Prof.^a Dr.^a Elis Regina, Prof. Dr. Robert e Prof. Dr. André, que disponibilizaram seu tempo compartilhando seus conhecimentos e experiências.

Ao Murilo Exaltação, Dayan, Tays Feitosa, Laysa, Lívia, Thays Matias e a todos que participaram da pesquisa, através de seu apoio, disposição e colaboração, tornando possível a realização deste trabalho.

Agradeço a minha mãe, Thelma Ferreira Martins por todo o apoio, pelas palavras de incentivo nas horas difíceis, de desânimo, cansaço, por sempre acreditar que eu conseguiria chegar até aqui e ao meu pai José de Aquiles R. Martins, que me fortaleceu, aconselhou e

incentivou, isso para mim foi e é muito importante. Amo vocês incondicionalmente, minha base.

Aos meus irmãos, Valéria Martins, André Martins e Cristianni Martins, cunhados Heyder, Geane, Raphael e Geovane, meus sobrinhos, Luarah e José de Aquiles Neto, que mesmo de longe nunca deixaram de estar presente em minha vida me apoiando, incentivando, descontraído, que souberam compreender, nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Agradeço ao meu namorado, companheiro, confidente, cúmplice Wallysson Lopes, pelo apoio, por ser paciente nos meus estresses e dores, não me deixar desanimar nos momentos de dificuldades e por sempre me incentivar a continuar quando pensei em desistir, você foi o meu forte durante esse período.

Aos meus mestres de Jiu-Jitsu e Muay-Thai, Luan Santos e Fernando Godoi, por me apresentarem esse mundo da luta, por ensinar que tudo o que fizermos na vida é preciso ter disciplina, respeito e humildade, por mostrar por meio dos seus exemplos de vida que é preciso perseverança para chegar no objetivo e por sempre reconhecer, entender e me incentivar, com vocês entendi o verdadeiro significado de trabalho em equipe e nos tornar uma família.

As minhas amigas Gleicy, Therles, Renata e Roberta, sei que com vocês posso contar para qualquer coisa, obrigada pela amizade e carinho, por serem pessoas que vieram para somar, conversar e compreender.

A todos, obrigada por contribuir nessa etapa da minha vida, sou grata!

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar as potencialidades do Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCCC) e óleo de mamona em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado como modulador da fermentação ruminal com foco no esclarecimento da capacidade mitigadora das emissões de metano provenientes da fermentação *in vitro* do substrato pela microbiota ruminal de bovinos. Foram feitos três experimentos. No experimento I, os tratamentos consistiram em quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:00, 67:33, 33:67 e 00:100) e adição de três níveis de LCCC (0%, 1% e 2%). No experimento II, utilizando a dieta do experimento I, com adição de três níveis do óleo de mamona (0%, 1% e 2%), e no experimento III, foi utilizada mistura comercial (Essential[®]) de LCCC-O-mamona (50:50) e adição de três níveis (0%, 1% e 2%), utilizando a dieta do experimento I. Pela técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* foram avaliados a produção de gases acumulada, a degradabilidade, a proporção dos principais ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos durante a fermentação ruminal e a produção de metano. Os resultados foram analisados separadamente. Os ensaios foram conduzidos em um delineamento de blocos casualizados, em que os tratamentos, doze ao total, consistiram de um esquema fatorial 4x3 sendo quatro dietas e adição de três níveis de óleo. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias dos fatores foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro tipo I. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa SAS 9.3. No experimento I, foi verificado que a inclusão do LCCC resultou em efeito significativo para as variáveis degradabilidade da matéria seca (DMS), metano e proporção de propionato e efeito não significativo para degradabilidade da matéria orgânica (DMO), proporções de acetato, butirato e relação acetato:propionato. No experimento II, foi verificado que a inclusão do óleo de mamona resultou em efeito significativo para as variáveis degradabilidade da matéria seca (DMS) e metano e efeito não significativo para degradabilidade da matéria orgânica (DMO) e as proporções de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). No experimento III, a inclusão da mistura comercial (Essential[®]) apresentou efeito significativo apenas para DMS e metano e não houve efeito significativo nas proporções de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Os dados demonstraram que maiores proporções de concentrado na dieta dos três experimentos melhora a degradabilidade do alimento, contribuindo para redução da proporção de acetato, aumento da proporção propionato e menor relação acetato:propionato, por outro lado, a inclusão de qualquer óleo funcional apesar de reduzir a degradabilidade, não altera o perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), porém foi verificado que a inclusão de 1% em dieta com maiores proporções de concentrado resulta em menor produção de metano.

Palavras-chave: Aditivo natural; Degradabilidade; Metano; Produção de gases

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the potential of Cashew Nut Shell Liquid (CFCL) and castor oil in diets with different volume:concentrate ratios as a modulator of rumen fermentation, with a focus on clarifying the ability to mitigate methane emissions from the *in vitro* fermentation of the substrate by the rumen microbiota of cattle. Three experiments were carried out. In experiment I, the treatments consisted of four diets with different volume:concentrate ratios (100:00, 67:33, 33:67 and 00:100) and the addition of three levels of LCCC (0%, 1% and 2%). In experiment II, the diet from experiment I was used, with the addition of three levels of castor oil (0%, 1% and 2%), and in experiment III, a commercial mixture (Essential®) of LCCC-Omamona (50:50) was used, with the addition of three levels (0%, 1% and 2%), using the diet from experiment I. Using the semi-automatic *in vitro* gas production technique, the accumulated gas production, degradability, the proportion of the main short-chain fatty acids (SCFA) produced during rumen fermentation and methane production were evaluated. The results were analyzed separately. The trials were conducted in a randomized block design in which the treatments, twelve in total, consisted of a 4x3 factorial scheme with four diets and the addition of three levels of oil. The results were submitted to analysis of variance and the means of the factors were compared using the Tukey test at 5% probability of type I error. The statistical analysis was carried out using the SAS 9.3 program. In experiment I, it was found that the inclusion of LCCC had a significant effect on the variables dry matter degradability (DMD), methane and propionate ratio and a non-significant effect on organic matter degradability (OMD), acetate and butyrate ratios and acetate:propionate ratio. In experiment II, it was found that the inclusion of castor oil had a significant effect on the variables dry matter degradability (DMD) and methane and a non-significant effect on organic matter degradability (OMD) and the proportions of short-chain fatty acids (SCFA). In experiment III, the inclusion of the commercial blend (Essential®) only had a significant effect on DMS and methane and there was no significant effect on the proportions of short-chain fatty acids (SCFA). The data showed that higher proportions of concentrate in the diet of the three experiments improved the degradability of the feed, contributing to a reduction in the proportion of acetate, an increase in the proportion of propionate and a lower acetate:propionate ratio. On the other hand, the inclusion of any functional oil, despite reducing degradability, did not alter the profile of short-chain fatty acids (SCFA), but it was found that the inclusion of 1% in a diet with higher proportions of concentrate resulted in lower methane production.

Key-words: Natural additive; Degradability; Methane; Gas production

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquematização dos mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana..	25
Figura 2 - Principais produtos obtidos da industrialização do caju.	27
Figura 3 - Principais métodos de extração do LCCC	28
Figura 4 - Principais constituintes do LCCC	28
Figura 5 - Processo de descarboxilação do ácido anacárdico.	29
Figura 6 - Estrutura química do ácido ricinoléico	31
Figura 7 - Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona	32
Figura 8 - Curva da produção acumulativa de gases em função dos tempos de incubação com líquido da casca da castanha de caju.	54
Figura 9 - Curva da produção acumulativa de gases em função dos tempos de incubação com a inclusão óleo de mamona	76
Figura 10 - Curva da produção cumulativa de gases em função dos níveis de inclusão da mistura comercial	99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas.....	48
Tabela 2 - Efeito da adição dos níveis do LCCC sobre a cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva	52
Tabela 3 - Equações da produção cumulativa de gases (PCA), em ml/g de MS de dietas com diferentes relações de volumoso:concentrado e adição de três níveis de LCCC	55
Tabela 4 - Degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO) em função da relação volumoso:concentrado e inclusão de LCCC.....	56
Tabela..... 5 - Produção de metano <i>in vitro</i> (CH ₄) em diferentes relações de volumoso:concentrado e inclusão de LCCC.....	57
Tabela 6 - Proporções de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de bovinos em diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão de LCCC	58

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas.....	70
Tabela 2 - Efeito da adição dos níveis de óleo de mamona sobre a cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva.....	74
Tabela 3 - Equações da produção cumulativa de gases (PCA), em ml/g ⁻¹ de MS de dietas com diferentes relações de volumoso:concentrado e inclusão de óleo de mamona	76
Tabela 4 - Degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO) em função da relação volumoso:concentrado e inclusão do óleo de mamona.....	78
Tabela 5 - Produção de metano <i>in vitro</i> (CH ₄) com diferentes proporções de volumoso:concentrado e inclusão do óleo de mamona.....	80
Tabela 6 - Proporções de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de bovinos em diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão de óleo de mamona	82

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas.....	93
Tabela 2 - Efeito da inclusão dos níveis da mistura comercial (Essential®) sobre a cinética de fermentação ruminal <i>in vitro</i> em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva.....	97
Tabela 3 - Equações da produção cumulativa de gases (PCA), em ml/g ⁻¹ de MS em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado e inclusão da mistura comercial (Essential®)	99
Tabela 4 - Degradabilidade da matéria seca (DMS) na relação volumoso:concentrado e inclusão dos níveis da mistura comercial (Essential®).....	100
Tabela 5 - Produção de metano ruminal <i>in vitro</i> (CH ₄) em diferentes relações volumoso:concentrado e inclusão da mistura comercial (Essential®).....	101
Tabela 6 - Proporções de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de bovinos em função das diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão da mistura comercial (Essential®).....	103

LISTA DE SIGLAS

CH ₄	Metano
CO ₂	Gás carbônico
DMO	Degradabilidade da matéria orgânica
DMS	Degradabilidade da matéria seca
EE	Extrato etéreo
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
GEE	Gases do efeito estufa
LCCC	Líquido da casca da castanha de caju
mL	Mililitros
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
N ₂ O	Óxido nitroso
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDN	Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
OE	Óleo essencial
OF	Óleo funcional
PB	Proteína bruta
V:C	Volumoso:Concentrado

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	17
1. INTRODUÇÃO GERAL	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivos gerais	19
2.2 Objetivos específicos	19
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 Metabolismo ruminal	21
3.2 Lipídeos.....	22
3.3 Óleos essenciais.....	23
3.4 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	24
3.5 Líquido da Casca da Castanha de Caju (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	26
3.6 Óleo de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.).....	29
3.7 Produção de metano nos ruminantes	33
3.8 Avaliação de alimentos utilizando técnicas <i>in vitro</i>	34
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO II: LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (<i>Anacardium occidentale</i> L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i> DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO	44
RESUMO	44
CHAPTER II: CASHEW NUT SHELL LIQUID (<i>Anacardium occidentale</i> L.) IN <i>IN VITRO</i> RUMINAL FERMENTATION OF DIETS WITH DIFFERENT VOLUME:CONCENTRATE RATIO	45
ABSTRACT	45
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Local Experimental	47
2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos.....	47
2.3 Bioensaio <i>in vitro</i> da produção de gases	48
2.4 Determinação da produção de metano	50
2.5 Análises Bromatológicas	50
2.6 Determinação de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	50
2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)	51
2.8 Análises estatísticas	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	52

3.1 Cinética da fermentação ruminal <i>in vitro</i>	52
3.2 Equações da produção acumulativa de gases	54
3.3 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)	55
3.4 Produção de metano <i>in vitro</i> (CH ₄)	56
3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC).....	58
4. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO III: ÓLEO DE MAMONA (<i>Ricinus communis</i> L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i> EM DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO	65
RESUMO	65
CHAPTER III: CASTOR OIL (<i>Ricinus communis</i> L.) IN THE <i>IN VITRO</i> RUMINAL FERMENTATION IN DIETS WITH DIFFERENT RELATIONS VOLUMINOUS:CONCENTRATED	66
ABSTRACT	66
1. INTRODUÇÃO	67
2. MATERIAL E MÉTODOS	68
2.1 Local Experimental	68
2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos.....	68
2.3 Bioensaio <i>in vitro</i> da produção de gases	69
2.4 Determinação da produção de metano	71
2.5 Análises Bromatológicas	71
2.6 Determinação de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	71
2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)	72
2.8 Análises estatísticas	72
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	73
3.1 Cinética da fermentação ruminal <i>in vitro</i>	73
3.2 Equações da produção acumulativa de gases	74
3.3 Degradabilidade da Matéria Seca (DMS) e Matéria Orgânica (DMO).....	76
3.4 Produção de metano <i>in vitro</i> (CH ₄)	79
3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta.....	80
4. CONCLUSÃO	84
REFERÊNCIAS	85
CAPÍTULO IV: MISTURA COMERCIAL (ESSENTIALS®) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i> EM DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO	88
RESUMO	88

CHAPTER IV: COMMERCIAL MIXTURE (ESSENTIALS®) IN THE <i>IN VITRO</i> RUMINAL FERMENTATION IN DIETS WITH DIFFERENT RELATIONS VOLUMINOUS:CONCETRATED	89
ABSTRACT	89
1. INTRODUÇÃO	90
2. MATERIAL E MÉTODOS	91
2.1 Local Experimental	91
2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos	91
2.3 Ensaio <i>in vitro</i> da produção de gases	92
2.4 Determinação da produção de metano	94
2.5 Análises bromatológicas	94
2.6 Determinação de ácidos graxos de cadeia curta	94
2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS)	95
2.8 Análises estatísticas	95
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	96
3.1 Cinética da fermentação ruminal <i>in vitro</i>	96
3.2 Equações da produção acumulativa de gases	97
3.3 Degradabilidade da Matéria Seca (DMS)	99
3.4 Produção de metano <i>in vitro</i> (CH ₄)	100
3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta	102
4. CONCLUSÃO	105
CONSIDERAÇÕES FINAIS	106
REFERÊNCIAS	107

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária brasileira tem passado por mudanças ao longo dos anos e está em constante desenvolvimento, pois encontra-se entre umas das atividades que proporciona alternativas para o aumento de renda da população residente de zona rural.

Visto à crescente demanda por garantir padronização e qualidade dos alimentos de origem animal para o Brasil e o mundo, a bovinocultura de corte tem utilizado técnicas e biotecnologias disponíveis para maior eficiência da cadeia, tais como nutrição, manejo, sanidade e reprodução. Com isso, a redefinição das tecnologias pré-existentes e a descoberta de novas ferramentas serão fundamentais para melhorar a produtividade no futuro (BENETEL, 2018).

Nesse contexto, o Brasil se destaca por possuir o maior efetivo bovino comercial do mundo com 234,4 milhões de cabeças de gado, um crescimento de 4,3% em 2022 em relação a 2021 segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2023). Diante disso, a pecuária tem se tornado o foco das discussões ambientais sendo duramente criticada por desmatamentos de florestas para áreas de pastagens e responsável direto pela emissão de grandes quantidades de gases de efeito estufa (MOMBACH et al., 2016).

Os principais gases de efeito estufa (GEE) ligados a produção de ruminantes são o dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O), decorrente da deposição de dejetos dos animais (BERCHIELLI et al., 2012). No entanto, a produção desses gases faz parte do processo digestivo dos herbívoros ruminantes e ocorre no rúmen, sendo essa fonte passível de ser manipulada via estratégia alimentar (RIVERA et al., 2010).

Segundo dados de estudos referente à emissão de metano no setor da agropecuária no ano de 2016, constatou-se que a principal fonte foi proveniente da fermentação entérica dos ruminantes contribuindo com 19,0% do total de emissões nacionais e 56,5% do total de emissões do setor, sendo grande parte (97%) proveniente de bovinos (86% dos bovinos de corte e 11% das vacas leiteiras) enquanto que outros setores da agropecuária, como cultivo de arroz, queima dos resíduos agrícolas da cana-de-açúcar e manejo de dejetos dos animais contribuíram apenas com 7,5% das emissões (MCTI, 2020).

Em dados mais recentes de acordo o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI, 2022) as emissões totais de GEE em 2020 foram 13,7% maiores quando comparadas às emissões de 2016. Alguns setores representativos como o setor de Processos Industriais e

Uso de Produtos (IPPU, na sigla em inglês), setor Uso da Terra, Mudança do Uso da Terra e Florestas (LULUCF, na sigla em inglês) e o setor de Resíduos, observou-se um acréscimo de 8,8% devido a aumentos nas emissões da produção metalúrgica e na produção de cimento, 56,8% das emissões líquidas e 10,0% de aumento das emissões pela disposição de resíduos sólidos, respectivamente.

Em contrapartida, setores importantes para o país como a Agropecuária e o setor de Energia, recuaram no ano de 2020 e obtiveram uma diminuição em suas emissões em relação a 2016 de 1,9% principalmente da produção de gado bovino e 8,3% de emissões em energia, respectivamente, durante a pandemia COVID-19 (MCTI, 2022).

O setor Agropecuário para o país exerce um papel essencial economicamente, uma vez que é dele que advêm os alimentos e boa parte das matérias-primas utilizadas na indústria. O setor vem sofrendo reduções desde 2019, de acordo com dados da CEPEA (2021), a produção pecuária diminuiu 2,2%, sendo observada queda de 6,2% para a produção de bovinos, estagnação na produção de frango e redução de 2% para a produção de leite (CEPEA, 2021).

Diante disso, estratégias nutricionais são importantes para manter a saúde, qualidade, bem-estar e potencializar o desempenho dos animais. Portanto, a manipulação da fermentação ruminal com o uso de aditivos, é um dos meios de se conseguir maior estabilidade ruminal, redução dos riscos de acidose e possibilitar melhoria do desempenho animal (TORRES et al., 2021).

Os Ionóforos, são aditivos alimentares amplamente utilizados para melhorar a saúde ruminal, favorecem a fermentação sendo uma estratégia de reduzir a produção de CH₄ pelos ruminantes (BENETEL, 2018).

Porém, a utilização dessa alternativa vem sendo criticada por ser à base de antibióticos e como consequência, pode deixar resíduos nos dejetos, nos produtos de origem animal e aumentar a resistência das bactérias patogênicas ao princípio ativo, com isso resultou no desenvolvimento de pesquisas com manipulação da dieta usando alternativas com possível menor risco à saúde humana, animal e ambiental (MOURÃO et al., 2012).

Apoiada no princípio da precaução, alguns países da União Europeia (UE), proibiram o uso de antibióticos promotores de crescimento, por exemplo a monensina sódica, desde 2006 (artigo nº 11 do regulamento 1831/2003) devido à possíveis transferências de resistência antimicrobiana dos animais para os seres humanos, impactando diretamente na saúde pública (FERRO, 2016).

Dentre as formas de se manipular a dieta de ruminantes, destacam-se a utilização de óleos essenciais, que são compostos secundários de plantas, com diversos componentes ativos

que surgem com grande expectativa de uso (OLIVEIRA, 2013), bem como leveduras, ácidos orgânicos probióticos, entre outros dificultando um possível aparecimento de resistência bacteriana (FERRO, 2016).

Os óleos essenciais são potenciais moduladores da fermentação ruminal, dentre eles destaca-se o líquido da casca da castanha de caju (LCCC) e óleo de mamona que tem ações antimicrobianas e são pesquisados como potenciais aditivos fitoterápicos e substitutos naturais de ionóforos na dieta de ruminantes (SILVA, 2014; SOUSA et al., 2014).

O efeito anti-sárnico e bactericida do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) foi reportado por Malheiro (1950) em cães com sarna demodécica e infecções secundárias. Enquanto o efeito antibiótico do óleo de mamona (*Ricinus communis* L.) também é conhecido na área endodôntica (FERREIRA et al., 2002).

O ácido anacárdico encontra-se em altas concentrações no líquido da casca da castanha de caju (LCCC), e a sua utilização em dietas para ruminantes tem gerado mais ácido propiônico e diminuído a produção de metano em incubação ruminal *in vitro* (VAN NEVEL et al., 1971), e o uso do ácido ricinoléico contido no óleo de mamona produziu o mesmo efeito (RAMOS MORALES et al., 2012).

O uso do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) quando misturado com óleo de mamona tem melhorado o ganho médio diário em bovinos a pastejo no período seco do ano (SOUZA et al., 2014) e em confinamento (VALERO et al., 2014).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

1) Avaliar o efeito da adição do líquido da casca da castanha de caju (LCCC), óleo de mamona e a mistura comercial (Essential[®]), na fermentação ruminal *in vitro* de dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a produção de metano, degradabilidade dos alimentos e proporção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

2.2 Objetivos Específicos:

- 1) Avaliar o efeito da adição do líquido da casca da castanha de caju (LCCC), sobre a degradação ruminal *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado;
- 2) Avaliar o efeito da adição do óleo de mamona sobre a degradação ruminal *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado;
- 3) Avaliar o efeito da adição da mistura comercial (Essential[®]) sobre a degradação ruminal *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Metabolismo ruminal

Os ruminantes em geral, caracterizam-se essencialmente por apresentar um sistema específico no processo de digestão e desenvolveram um pré-estômago, o rúmen, classificado como o principal órgão digestório dos ruminantes, que permite a digestão microbiana parcial dos alimentos antes de entrar no estômago verdadeiro, sendo capaz de digerir quase todos os diferentes tipos de forragens graças a evolutiva interação benéfica que desenvolveram entre microrganismos e hospedeiro (LI et al., 2016).

O rúmen fornece um ambiente rico e denso de microrganismos anaeróbicos que cumprem um papel metabólico muito importante. Esses microrganismos são capazes de fermentar o alimento, tendo como produtos a formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e proteína microbiana (PMC), que são as principais fontes de nutrientes para o animal, fornecendo quase 80% das necessidades de energia do hospedeiro e 60-85% das necessidades de proteína (HENDERSON et al., 2015).

O tipo de dieta fornecida é o fator mais importante, pois influencia no tipo de substrato utilizado pelas bactérias, que representam a maior parte da biomassa microbiana ruminal (60 a 90%), e conseqüentemente, na quantidade de produtos da fermentação, de modo que qualquer mudança na dieta do animal, advém um período de transição e adaptação da microbiota, o que pode demorar dias ou semanas (TORRES, 2016).

A população microbiana do rúmen é composta por bactérias anaeróbicas, *archaeas*, fungos anaeróbicos e protozoários ciliados (TAPIO et al., 2017), que podem ser classificadas em fermentadoras de carboidratos fibrosos e não-fibrosos, proteolíticas, lácticas, pectinolíticas, lipolíticas, ureolíticas e metanógenas e o grupo protozoários, estes desenvolvem-se em pH ruminal superior a 6,0 e são considerados benéficos ao moderar a fermentação amilolítica, permitindo o controle do pH e degradação da matéria seca (SOLORZANO, 2012).

A produção de AGCC se dá por meio da degradação de celulose, hemicelulose, pectina, amidos e açúcares provenientes da dieta. Os alimentos digeridos são fermentados pela atividade microbiana na cavidade retículo-rúmen a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), predominantemente ácido acético, propiônico e butírico, que são absorvidos através da parede do rúmen e utilizados como fonte de energia pelo animal, contribuindo de forma significativa na produtividade dos ruminantes. Outros produtos da fermentação como H₂, CO₂,

grupos metila são utilizados por arqueobactérias para a produção de ATP, reduzindo o CO₂ a metano (HENDERSON et al., 2015).

A concentração molar de acetato:propionato:butirato pode variar entre 75:15:10 para dietas mais fibrosas a 40:40:20 para dietas mais concentradas, sendo que sua proporção é influenciada pela população microbiana que se desenvolve em função da relação volumoso:concentrado (GOULARTE et al., 2011; VALDARES FILHO; PINA, 2011).

Com o intuito de reduzir os impactos ambientais e melhorar a produtividade dos animais, o rúmen e suas características se tornou objeto de estudo onde têm-se buscado modificar esse ambiente e melhorar o aproveitamento dos alimentos pelos ruminantes (SIPPERT, 2019).

Nesse sentido, a utilização de fontes lipídicas na dieta é indicada para maximizar a ingestão de energia sem influenciar a relação volumoso:concentrado, pois além de alterar os produtos da fermentação ruminal, melhora a eficiência alimentar, reduz a produção de metano favorecendo assim não só o metabolismo energético dos animais como favorece também o meio ambiente (SANTAROSA, 2011; COSTA, 2018).

3.2 Lipídeos

Diante da possibilidade de aumentar o valor energético da dieta e contribuir positivamente em algumas funções orgânicas, diversas pesquisas têm impulsionado a inclusão de lipídeos como estratégia de suplementação em ruminantes, pois são fontes de alta concentração de energia prontamente disponível, uma vez que são constituídos de grande proporção de ácidos graxos, os quais possuem 2,25 vezes mais energia que os carboidratos (BASSI et al., 2012).

Nutricionalmente, podem ser agrupados em lipídeos de reserva, proveniente da extração das sementes, bem como de outras partes da planta, estes geralmente são mais simples nominado de triacilglicerol, resultante da combinação de três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos são classificados em insaturados com ligações duplas na cadeia de carbono e ácidos graxos saturados com somente ligações simples na cadeia de carbono (KOZLOSKI, 2011).

Os ácidos graxos essenciais, não são produzidos bioquimicamente pelo organismo e, portanto, precisam ser ingeridos, estes melhoram a eficiência energética das dietas e estão envolvidos em muitos processos regulatórios da bioquímica animal (MEDEIROS et al., 2015).

Os óleos são, na maioria, de origem vegetal, e considerados altamente insaturados (líquidos na temperatura ambiente), as fontes mais comuns são: milho, algodão, soja, oliva, girassol, canola, amendoim e arroz, bem como também, a amêndoa, o amendoim, a avelã, a castanha de caju, a castanha do Pará, a macadâmia e as nozes que são ricos em gorduras mono e poliinsaturadas (FONTELES et al., 2016).

A inclusão de óleos vegetais na alimentação de ruminantes tem limitações, devendo estar entre 3% e 6% da MS, para não interferir na fermentação ruminal e conseqüentemente acarretar uma redução na digestibilidade dos nutrientes, nesse caso a fibra, de modo que se torna o principal motivo de influência negativa do óleo (KOZLOSKI, 2011).

Devido ao excesso de ácidos graxos insaturados e triglicerídeos causar alteração negativas na fermentação ruminal e acarretar supressão das atividades de bactérias celulolíticas e metanogênicas, o uso de elevadas quantidades de lipídeos na dieta de ruminantes pode prejudicar o consumo, podendo causar queda na digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes (BASSI et al., 2012).

3.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis e insolúveis em água, responsáveis pelo cheiro das plantas, encontradas na casca, folhas, frutos e sementes extraídos a partir de diferentes técnicas, tal como a destilação. As propriedades desses óleos têm sido avaliadas quanto a sua eficácia e constituem um dos mais importantes grupos de matérias primas para as indústrias de alimentos, farmacêutica, perfumaria e afins, devido à sua atividade antioxidante e antimicrobiana (EVERTON et al., 2020).

São obtidos mediante um processo de prensagem, processo térmico-mecânico ou extração por solventes. Podem ser chamados de óleos voláteis ou óleos etéreos, por serem de aparência oleosa à temperatura ambiente (OLIVEIRA e IGARASI, 2013).

O adjetivo “essencial” utilizado ao se referir a esses óleos, não significa serem “essenciais” ao metabolismo, como por exemplo alguns aminoácidos ou ácidos graxos que precisam ser adicionados as dietas porque o organismo não consegue produzir o suficiente, mas por terem o cheiro característico ou “essência” da planta da qual foram obtidos (TORRENT, 2012).

Esses óleos podem conter substâncias que são utilizadas ou não como fontes de energia, portanto, tem funções, ou seja, são definidas como “óleos funcionais”. Desse modo, dependendo do intuito da classificação, seja por função ou estrutura química, existem

inúmeros tipos de óleos funcionais (OF). Em conclusão, todos os OE são OF, mas nem todos os OF são OE (TORRENT, 2012; VIEIRA, 2022).

A utilização desses óleos na nutrição animal, especificamente sobre a microbiota, pode melhorar a eficiência da fermentação ruminal e mitigação das emissões de metano, que é um dos metabólitos secundários da digestão ruminal, liberado devido as características do ambiente ruminal ser anaeróbico com poucos receptores de elétrons se beneficiar de H^+ e CO_2 , produzidos durante a fermentação (TAWAB et al., 2021).

O mecanismo de atuação dos OE sobre a microbiota ruminal é estudado alguns anos, em que estes aditivos naturais são testados por meio de metodologias de simulações *in vitro*, método esse mais viável em primeiro momento do que o uso de animais, mais barato e prático devido a grande quantidade de óleo essencial e possibilidades de combinações, estimando os possíveis efeitos na fermentação ruminal (FERRO et al., 2016).

O líquido da casca da castanha de caju (LCCC) e o óleo da semente de mamona são exemplos pesquisados como moduladores da fermentação ruminal neste estudo.

Alguns trabalhos testando a combinação destes óleos em ruminantes foram realizados (RENÓ et al., 2016, SILVA et al., 2019), com o intuito de tornar a modulação da fermentação ruminal mais eficiente e assim se tornar uma alternativa de substituição aos antibióticos ionóforos, uma vez que alguns países proíbem o uso destes.

Porém, pouco se sabe ainda a respeito da quantidade ideal de LCCC e óleo de mamona a ser fornecido aos animais. Os poucos dados referentes à utilização na alimentação animal, se referem a respostas obtidas com o fornecimento de uma mistura comercial (Essential®) (GALLARRETA, 2020).

3.4 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

Dentre as várias utilidades dos óleos essenciais, os seus componentes e a sua capacidade antimicrobiana tem sido uma das mais estudadas (SOUZA, 2015), pois são reconhecidos pela sua promissora aplicabilidade como antimicrobianos naturais contra uma grande variedade de microrganismos (FERRO et al., 2016).

O modo de ação antimicrobiano dos extratos vegetais tem sido atribuído a vários compostos fenólicos, como carvacrol, eugenol, timol, vanilina, cardol, cardanol e ácidos anacárdico e ricinoléico. Nesse caso, eles atuam como agentes fenólicos, alterando a força de prótons, o fluxo de elétrons, o transporte ativo e a coagulação do conteúdo celular (BURT, 2004; MATOS et al., 2021).

Nesse contexto, o mecanismo mais aceito como responsável pela ação antibacteriana, está relacionado principalmente a capacidade do OE afetar tanto o envelope externo da célula causando danos estruturais e funcionais desnaturando e coagulando proteínas quanto o citoplasma (BENCHAAR et al., 2008; SOUZA, 2015).

A alteração na permeabilidade da membrana inclui modificações químicas que podem decompor completamente a conformação da célula microbiana, provocando o vazamento do conteúdo celular, a fuga de íons e outros componentes citoplasmáticos, causa diminuição na síntese de ATP, além de reduzir o gradiente iônico transmembranar, conduzindo à degradação dos processos essenciais da célula como: transporte de elétrons, translocação de proteínas, fosforilação e reações dependentes de enzimas, dessa forma podendo conduzir à morte da célula (BURT, 2004; NAZZARO et al., 2013).

A figura 1 descreve alguns potenciais mecanismos de ação dos óleos essenciais e apresenta os possíveis alvos celulares da sua atividade antimicrobiana (NAZZARO et al., 2013).

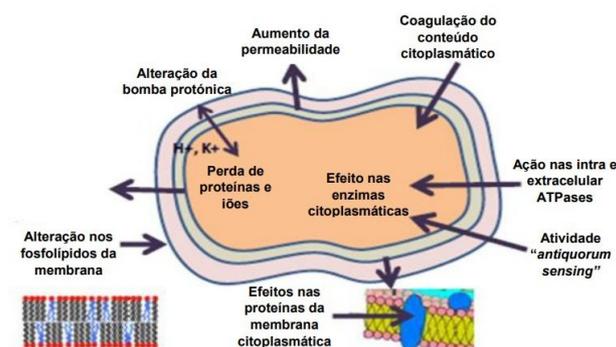


Figura 1- Esquemática dos mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana. (Adaptado de NAZZARO et al., 2013).

Antes de observar os efeitos dos óleos essenciais nas bactérias é importante analisar as diferentes estruturas das paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas presentes no ambiente ruminal. As bactérias gram-positivas apresentam uma membrana externa mais simples e menos complexa, sendo esta composta por uma camada glicopeptídica, tornando menos resistentes aos óleos essenciais permitindo que as moléculas hidrofóbicas penetrem nas células agindo tanto na parede celular quanto dentro do citoplasma (NIKAIDO, 2003; KOZLOSKI, 2011; SILVA, 2022). Já as gram-negativas apresentam dupla membrana externa, as quais são conectadas por uma camada de glicopeptídeos, são

relativamente resistentes a compostos hidrofóbicos de plantas, antibióticos ou ionóforos em relação às gram-positivas, mas não são imunes a eles (SILVA, 2022).

3.5 Líquido da Casca da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale* L.)

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma árvore tropical perene nativa do Nordeste Brasileiro, cresce até 12 metros de altura, com consideráveis características adaptativas a solos de baixa fertilidade, temperaturas elevadas e estresse hídrico. Com isso, o cajueiro se tornou uma importante fonte de renda para os estados do Nordeste, gerando empregos tanto no campo quanto nas indústrias, tendo em vista a demanda de mercados internacionais pelos diversos tipos de castanha (SERRANO e PESSOA, 2016).

O caju é formado pela castanha ou fruto e pelo pedúnculo, nominado de falso fruto, a qual corresponde à polpa comestível. O pseudofruto apresenta grande valor nutricional, com altos teores de vitamina C, niacina e ferro, sendo utilizados para a fabricação de sucos, vinhos, doces e compotas, além disso, é aproveitado na alimentação animal e pode ser encontrado na natureza em três diferentes cores: vermelho, amarelo e laranja. (FAO, 2001; RODRIGUES et al., 2011).

O fruto propriamente dito é a castanha de caju, formada por um epicarpo fino que corresponde com a camada externa de cor marrom escuro. No interior da castanha encontra-se a amêndoa, principal produto, rica em tanino (AMORATI et al., 2001; MAZZETTO et al., 2009).

Da casca, obtém-se o líquido, que contém alto teor de um óleo cáustico, cor marrom escuro, que constitui aproximadamente, 25% do peso total da castanha, considerado fonte natural de lipídeos fenólicos, conhecido como líquido da casca da castanha de caju (LCCC) (AMORATI et al., 2001; MAZZETTO et al., 2009).

O líquido da casca de castanha de caju (LCCC), ainda apresenta diversas aplicações industriais, como na obtenção de tintas, lubrificantes, curtidores, aditivos, fungicidas,

inseticidas, entre outros e o resíduo da casca ainda pode ser utilizado como fonte de energia nas indústrias, por meio de sua queima em fornalhas (WALLACE, 2004; MASIGLIO, 2012). Na Figura 2 apresenta os principais produtos obtidos da industrialização do caju.

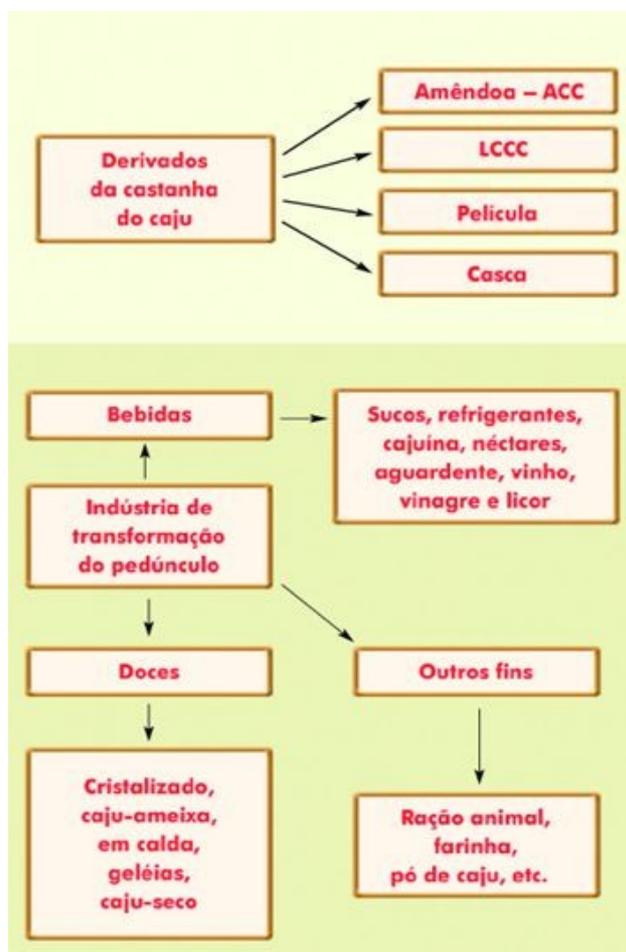


Figura 2 - Principais produtos obtidos da industrialização do caju. (Adaptado de PAIVA et al., 2003).

O líquido da casca da castanha do caju (LCCC) é o co-produto do processamento da castanha e pode ser obtido a frio (prensas), extração por solvente que tem a finalidade de retirar o CO₂ ou a quente, um processo térmico-mecânico em que o LCCC é aquecido a uma temperatura de 180-200 °C, em que aquecendo-se a castanha, a casca externa se rompe liberando alquifenois presente no mesocarpo e a casca interna é então retirada obtendo-se a amêndoa, que tem um elevado valor econômico para o Brasil (MAZZETTO et al. 2009; MARSIGLIO, 2012). Na figura 3, estão apresentados os principais métodos de extração do LCCC.

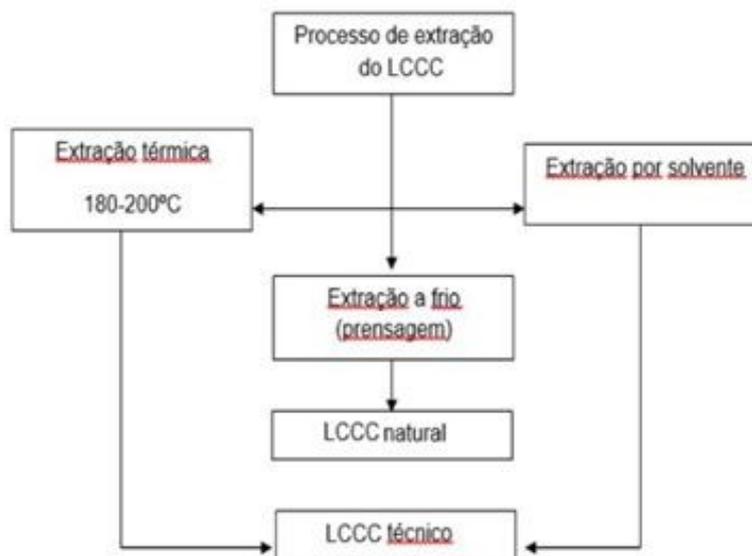


Figura 3 - Principais métodos de extração do LCCC. (Adaptado de DIAZ et al., 2015).

De acordo com Andrade et al. (2011), os principais componentes do LCCC são o ácido anacárdico (60-65%), o cardanol (10%) e o cardol (15-20%) e tem o acetato como precursor metabólico (figura 4). O ácido anacárdico é um composto fenólico biossintético a partir de ácidos graxos e constituem cerca de 70 a 90% do líquido que é extraído da casca da castanha de caju e se apresenta como o lipídeo que tem atividade antimicrobiana na sua composição, capaz de inibir seletivamente as bactérias Gram-positivas do rúmen.

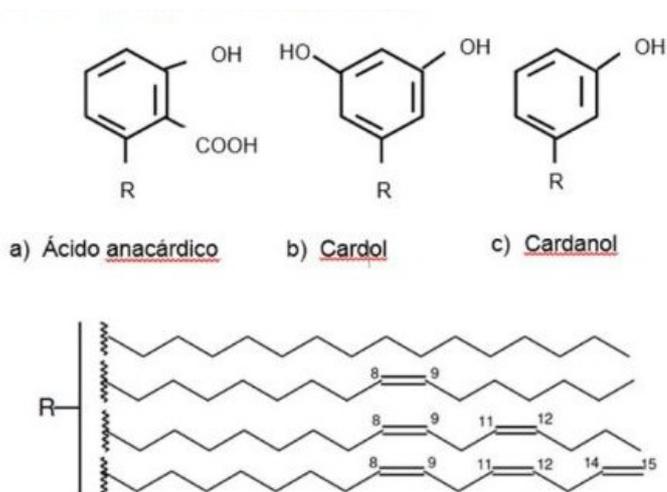


Figura 4 - Principais constituintes do LCCC. (Adaptado de OLIVEIRA et al., 2011).

Principais constituintes

O LCCC técnico obtido por tratamento térmico em que o líquido, rico em ácido anacárdico é exposto a altas temperaturas, favorecendo a descarboxilação resultando em

cardanol (Figura 5) que possui como características principais o poder antioxidante e antimicrobiana (MAZZETTO et al., 2009; DIAZ et al., 2015).

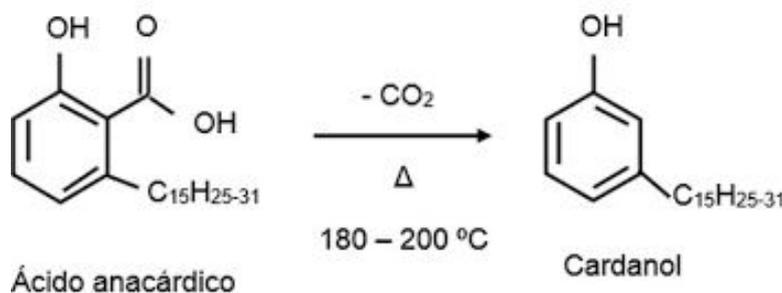


Figura 5 - Processo de descarboxilação do ácido anacárdico. (Adaptado de MAZZETTO et al., 2009).

De acordo com Parasa et al. (2011) em um ensaio *in vitro*, avaliaram a atividade antimicrobiana do LCCC contra bactérias Gram-positivas (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*), em que essas bactérias apresentaram sensibilidade aos componentes do LCCC, enquanto as Gram-negativas se apresentaram mais resistentes.

Watanabe et al. (2010) observaram que principalmente bactérias Gram-positivas (*Streptococcus bovis*, *Eubacterium ruminantium*, *Lactobacillus ruminis*) presentes no rúmen, que produzem hidrogênio, formato e butirato, foram altamente sensíveis ao LCCC. Com a redução na quantidade de bactérias Gram-positivas, favoreceu o crescimento das Gram-negativas (*Succinivibrio dextrinosolvens*, *Selenomonas ruminantium*, e *Megasphaera elsdenii*) que são mais tolerantes ao LCCC, estão envolvidas na produção de propionato e, desse modo, constataram que este produto apresenta potencial uso na dieta de ruminantes, podendo atuar como modulador da fermentação ruminal.

Segundo Osmari et al. (2015), ainda são limitados os dados a respeito da quantidade ideal de LCCC a ser fornecida aos animais, por essa razão, é preciso mais estudos do comportamento dos óleos essenciais para animais ruminantes.

3.5 Óleo de mamona (*Ricinus communis* L.)

A mamona ou rícino (*Ricinus communis* L.), é uma espécie de origem tropical cultivada principalmente na região Nordeste, contém características de adaptabilidade em diferentes ecossistemas apresentando-se como importante alternativa para cultivo em safra (MILANI, 2014).

Originada da Europa e trazida pelos portugueses ao Brasil, era basicamente utilizada para iluminação, lubrificação de carroças e moinhos de engenho. Atualmente a planta é muito cultivada, podendo até ser confundida como planta nativa. Tem como principal produto, o óleo que corresponde cerca de 48,6% do peso total extraído das suas sementes (REIS, 2013).

O óleo de mamona ou óleo de rícino, como também é conhecido, tem como características uma coloração de incolor a amarelo-dourado, espesso, oleoso, inodoro e insolúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos (CRESPÃO et al., 2021). Comparado a outros óleos, possui uma vida útil mais alta e não se torna rançoso, ao menos que seja exposto a um superaquecimento no seu processo de extração (REIS, 2013).

O modo de ação do óleo de mamona ocorre na estrutura da parede celular da bactéria, desnaturando e coagulando as proteínas, com a acumulação de hidrogênio e potássio na membrana, fazendo com que a célula bacteriana tenha uma dificuldade na sobrevivência, altera o processo de ações enzimáticas e resulta no descontrole quimiosmótico da célula e, por conseguinte, a morte bacteriana (CRESPÃO et al., 2021).

Esse mecanismo de ação tem efeito na parede celular das bactérias Gram-positivas, por ser composta de uma simples camada de peptídeoglicanos, em que os ésteres presentes no óleo de mamona têm capacidade de romper as ligações glicosídicas dos peptídeoglicanos na parede celular dessas bactérias, resultando na morte celular. Por outro lado, a ação bacteriana do óleo de mamona parece não ter a capacidade de agir na parede celular das bactérias Gram-negativas que possuem dupla camada de lipossacarídeos hidrofílica, criando uma barreira aos óleos funcionais, o que dá resistência a esse tipo de bactéria aos óleos (WATANABE et al., 2013).

De acordo com Laurentino et al. (2018) o óleo de mamona contém sua maior composição de ácido ricinoléico (90%) um ácido graxo altamente hidroxilado com baixa frequência nos óleos vegetais, contém em menor grau ácido oleico (4%) e ácido linoleico (3%), tornando-se um óleo incomum quando comparado com a maioria dos óleos vegetais e isso confere ao óleo de mamona diversas características químicas interessantes, não libera toxicidade, não queima com facilidade podendo ser utilizado nas indústrias médicas, farmacêuticas, cosméticas e atualmente na nutrição animal (Figura 6).

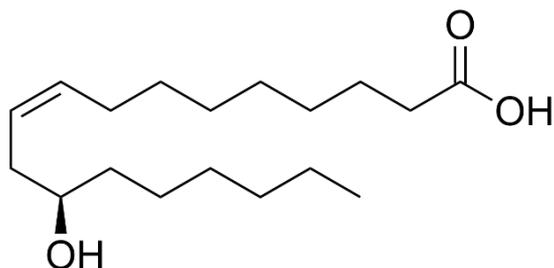


Figura 6 - Estrutura química do ácido ricinoléico. (Adaptado FERREIRA, 2012).

No Brasil, o óleo de mamona é um aditivo aprovado para utilização na alimentação animal (MAPA, 2020). O seu uso tem gerado modificações na fermentação ruminal, pelo seu efeito antibiótico (RAMOS MORALES et al., 2012).

O óleo de mamona é extraído da baga e como todos outros óleos vegetais, possui diferentes propriedades físico-químicas aos quais variam, pois de acordo o processo de extração obtém-se o produto e o subproduto final. Os procedimentos utilizados para extrair o óleo pode ser por prensagem, a frio ou a quente, onde o subproduto é a torta de mamona que contém a maior parte proteica e com alto teor residual de óleo (50%) ou por solvente em que é obtido o farelo, com baixo teor de óleo residual (SANTOS et al., 2011).

Na indústria, a mamona passa por várias etapas até a obtenção do óleo de mamona comercial (Figura 7). No processo de prensagem a frio, irá passar por uma filtragem, refino e neutralização, para apresentar-se livre de impurezas originando um óleo de maior pureza e livre de acidez, destinado ao uso medicinal, enquanto a extração a partir de solventes orgânicos principalmente o hexano ou prensas a quente há maior rendimento, porém, é considerado não tão puro sendo necessário ainda a remoção de substâncias corantes e gomas (SCHNEIDER 2002; CAMPOS & SANTOS, 2015).



Figura 7 - Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona. (SCHNEIDER, 2022).

A mamona tem como fator antinutricional, uma proteína solúvel, a ricina que confere toxicidade à planta, representando uma das limitações para sua adoção na alimentação animal (BASTOS et al., 2021).

Embora exista esse fator antinutricional, o óleo extraído da mamona não é tóxico, pois a proteína responsável por sua toxicidade (ricina) não é lipossolúvel, assim, o componente tóxico fica permanecendo durante a extração na torta ou no farelo que precisam passar por um processo de detoxicação, só assim poderá ser utilizado na alimentação animal (OLIVEIRA et al., 2010; BASTOS et al., 2021).

Outro fator limitante no uso do óleo de mamona é o efeito laxativo, a depender da dosagem por via oral, sendo essa via não recomendada, porém, em combinação com o líquido da casca da castanha de caju (LCCC) o óleo de mamona em menores dosagens se torna biologicamente ativo e seguro (PUREVJAV et al., 2013; MICHAÏLOFF, 2017).

Em função das propriedades químicas descritas acima, foi desenvolvida uma mistura comercial a partir do líquido da casca da castanha de caju (cardanol e cardol) e do óleo de mamona (ricino) pela empresa Oligo Basic Produtos Funcionais, que desenvolveu esse mix de óleos funcionais como alternativa aos inóforos, comercialmente chamada Essential®. Nessa

mistura comercial a quantidade de óleo de mamona fica mais de 10 vezes abaixo da dosagem laxativa (TORRENT, 2012).

Segundo o manual do produto comercial Essencial®, o mesmo utilizado por CHAGAS (2015), afirma que essa mistura de óleos essenciais, pode ser administrada na dieta dos ruminantes respeitando as dosagens recomendadas para cada fase da vida desses animais, seja para corte ou leite, animais em terminação e vacas secas.

3.6 Produção de metano nos ruminantes

Compreender a ecologia do rúmen como um sistema microbiano único, pode auxiliar na abertura de novos caminhos e ultrapassar os desafios de otimização dos sistemas de produção animal, mediante o aumento da produtividade agrícola e a mitigação de metano no ambiente. Essas relações são influenciadas principalmente pelos tipos de sistemas de produção dos ruminantes (MIZRAHI e JAMI, 2018).

O metano produzido no rúmen representa perda de energia (2 a 12% da ingestão bruta de energia) que poderia ser aproveitada pelo animal para o crescimento ou produção de leite. Esse é o resultado da atividade da população de microrganismos, chamados de *archaeas* metanogênicas, que basicamente convertem hidrogênio (H₂) e gás carbônico (CO₂) produzidos por uma comunidade complexa de bactérias, fungos anaeróbios e protozoários ciliados em metano (CH₄) (WALLACE et al., 2014).

Em termos produtivos, além de causar impacto ambiental, a produção entérica de metano representa ineficiência alimentar, pela baixa utilização da energia do alimento ingerido, afetando a produtividade do animal (COTA et al., 2014).

A fermentação entérica e a produção de metano são parte do processo de digestão do alimento pelos ruminantes e o metano produzido por eructação é liberado para o ambiente sendo considerado a principal fonte de gases indesejados do efeito estufa na pecuária (BERCHIELLI et al., 2012).

Nesse processo metabólico, ocorre a produção de H_2 no rúmen, esse é obtido da conversão de alimentos em vários produtos da fermentação e é convertido principalmente por *archaeas* metanogênicas para produzir metano. Portanto, para desenvolver estratégias que controlem as emissões de metano por ruminantes, deve-se atentar a produção de H_2 e direcionar essa produção no rúmen para os mecanismos alternativos de produção de energia, assim pode aprimorar a eficiência na utilização de alimentos em ruminantes (DENMAN et al., 2015).

No processo de fermentação ruminal dos carboidratos, a produção de acetato e butirato libera maior quantidade H_2 , produto da oxidação do NADH. A retirada deste gás depende da atividade das bactérias metanogênicas que o utilizam para produzir CO_2 e CH_4 . No entanto, a produção deste último vai depender do tipo de dieta do animal (KOZLOSKI, 2019).

Uma vez que a quantidade de CH_4 produzido no rúmen é proporcional à produção de acetato, a ingestão de forragens de baixa qualidade resulta em baixa digestibilidade e maior emissão de metano, pois metabolicamente ficam mais tempo dentro do rúmen, enquanto alimentos ricos em amido, carboidratos de rápida fermentação, tem maior digestibilidade, melhora a taxa de passagem, maior proporção de ácido propiônico assim reduzindo a produção de H_2 e a taxa de emissão desse gás (RIRA et al., 2016).

Nesse contexto, uma estratégia importante para a mitigação do metano produzido pelos ruminantes é o manejo alimentar, oferecendo aos animais forragens de boa qualidade, melhorando a digestibilidade e o consumo do alimento e dietas balanceadas com proporções certas de amido, de modo que, mudanças na alimentação dos animais alteram a fermentação ruminal e como consequência, altera a composição de microrganismos ruminais e modificações na composição de AGCC (PIÑEIRO VÁZQUEZ et al., 2015).

A adição de extratos vegetais vem como alternativa para manipulação ruminal e efeitos deletérios na microbiota ruminal produtora de H_2 , modificando o processo de fermentação e favorecendo a produção de propionato, assim o animal terá mais eficiência no uso da energia dos alimentos (PIÑEIRO VÁZQUEZ et al., 2015, LI et al., 2016).

3.7 Avaliação de alimentos utilizando técnicas *in vitro*

Sistemas de fermentação *in vitro* vem sendo amplamente utilizados para determinar a degradabilidade de um alimento no intuito de auxiliar a identificação de plantas capazes de manipular o ambiente ruminal, assim como o efeito aditivo e uso em dietas para animais ruminantes. Por isso, a fim de apresentar como ocorre no rúmen, as técnicas de

degradabilidade e digestibilidade *in vitro* vêm sendo aperfeiçoadas constantemente (SIPPERT, 2019).

Ensaio utilizando a técnica *in vitro*, constitui como uma alternativa mais simples, de baixo custo, quando comparadas aos ensaios de digestão *in vivo*, pois tem sido mais utilizada em estudos que envolve muitos substratos, precisão de resultados e visam reproduzir as mesmas condições favoráveis, utilizando líquido ruminal ou enzimas, para a fermentação do alimento (OLIVEIRA et al., 2014).

Além disso, como vantagem no método de produção de gases, é possível observar como ocorre a cinética de fermentação utilizando um maior número de amostras, avaliadas ao mesmo tempo, em pequenas quantidades, possibilitando a obtenção de várias observações demonstrando boas correlações com metodologias *in vivo* e *in situ* (OLIVEIRA et al., 2014).

Baseando-se no método de produção de gases *in vitro* semiautomático de Theodorou et al. (1994), modificado por Maurício et al. (1999) com o objetivo de medir a produção de gases através da cinética de degradação ruminal, consiste em fazer as leituras da pressão dos gases no *head space*, obtidas através da inserção de uma agulha hipodérmica de um transdutor de pressão manual em cada frasco de fermentação.

A produção de gases reflete a atividade microbiana a partir do tipo de alimento fornecido, podendo ser medida a intervalos curtos, permite avaliar como ocorre a atividade dos microrganismos ruminais sobre a degradação do alimento no rúmen. A formação desses subprodutos (gases) oriundos da fermentação, permite dar informação sobre a cinética de digestão de frações solúveis e insolúveis de alimentos. (NEIVA JUNIOR et al., 2010).

A maior parte dos gases produzidos é resultado da fermentação de carboidratos a acetato, propionato e butirato, e a produção desses gases depende da quantidade de substrato fermentado por microrganismos ruminais, que apresenta uma alta correlação com a digestibilidade e degradabilidade dos alimentos (SUASSUNA, 2020).

Em relação aos óleos essenciais, amplamente estudados como aditivos em ensaios *in vitro*, alguns pontos devem ser considerados para fazer essa avaliação, como a característica de volatilização do óleo, a disponibilidade, viabilidade e aplicabilidade em diferentes níveis nas dietas, pois é necessário utilizar uma dosagem maior do que seria utilizada *in vivo*, na expectativa que possa haver efeito entre aditivo e os microrganismos ruminais, de modo que incubações de curto tempo podem não apresentar os efeitos esperados dos óleos essenciais na fermentação ruminal, porém tempos maiores, como acima de 48 horas podem levar a degradação dos microrganismos (CASTILLEJOS; CALSAMIGLIA; MARTÍN-TERESO & TER WIJLEN, 2007; DÍAZ et al., 2018; SUSSUNA, 2020).

REFERÊNCIAS

- AMORATI, R.; PEDULLI, G.F.; VALGIMIGLI, L.; ATTANASI, O.A.; FILIPPONE, P.; FIORUCCI, C.; SALADINO, R.; Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal of the Chemical Society**, Perkin Transactions 2, n.11, p.2142-2146, 2001.
- ANDRADE, T.J.A.; ARAUJO, B.Q.; CITÓ, A.M.G.L.; Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v.126, p.1044–1048, 2011.
- AOAC - **Association Official Analytical Chemists**; Methods of Analysis. Gaithersburg - MD - USA: - **AOAC**, p. 1015, 2016.
- BASSI, M.S. LADEIRA, M.M.; CHIZZOTTI, M.L.; CHIZZOOTTI, F.H.M.; OLIVEIRA, D.M.; NETO, O.R.M.; CARVALHO, J.R.R.C.; NETO, A.A.N.; Grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade e desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 353-359, 2012.
- BASTOS, Á.M.C.; MENDES, A.L.R.; ARAÚJO, J.L.; Propriedades do óleo de rícino e sua aplicabilidade na indústria farmacêutica. **Revista de Casos e Consultoria**, V. 12, N. 1, e24166, 2021.
- BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 209-228, 2008.
- BENETEL, Gabriela. Uso de óleos essenciais como estratégia moduladora da fermentação ruminal para mitigação das emissões de metano por bovinos Nelore. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**, 2018.
- BERCHIELLI, T.T.; MESSANA, J.D.; CANESIN, R.C.; Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, 2012.
- BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223- 253, 2004.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p. 2580-2595, 2007.
- CAMPOS, E.S.C.; DOS SANTOS V.M.L.; Estudo do processo de extração de óleo de mamona em cooperativas do pólo são francisco. **Engevista**, v. 17, n. 4, p. 477-490, dez/2015.
- CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; LOSA, R.; Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, p. 186-201, 2007.
- CEPEA – **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada**. EXPORT/CEPEA: Volume e faturamento com exportações do agro em 2020 são recordes. Piracicaba, 2021

Disponível em: https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_ExportAgro_2020_Jan21.

CHAGAS, L.J.; **Desempenho, metabolismo e emissão de metano de bovinos Nelore em terminação recebendo óleos funcionais em substituição ou combinação com monensina sódica na dieta**. Tese. Universidade de São Paulo, 2015.

CHAPAVAL, L.; MELOTTI, L.; ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVINDO, C. de S.; REGO, J.P.A.; Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 18-28, jan/mar, 2008.

COSTA, C.F.; Desempenho, características de carcaça e qualidade de carne de bovinos Nelore alimentados com fontes de lipídios. Tese de Doutorado FMVZ. **Repositório Institucional UNESP**, Botucatu 2018.

COTA, O.L.; MARIA DE FIGUEREDO, D.; BRANCO, R.H.; MAGNANI, E.; FERREIRA DO NASCIMENTO, C.; FREITAS DE OLIVEIRA, L.; MERCADANTE, M.E.Z. Methane emission by Nelore cattle subjected to diferente nutritional plans. **Tropical Animal Health Production**, 2014.

CRISPÃO, D.; ROSSI, P.; CELLA, P.S.; OELKE, C.A.; PEREIRA, L.K.; LIMA, J.D.A de; SILVA, D.F. da; SOUZA, M.A.M. de; Óleo de caju e mamona na dieta de frangos de corte. **Suinocultura e Avicultura: do básico a zootecnia de precisão**. 2021.

DENMAN, S.E.; FERNANDEZ, G.M.; SHINKAI, T.; MITSUMORI, M.; McSWEENEY, C.S.; Metagenomic analysis of the rumen microbial community following inhibition of methane formation by a halogenated methane analog. **Frontiers in Microbiology**, 2015.

DIAZ, T.G.; BRANCO, A.F.; JACOVACI, F.A.; JOBIM, C.C.; BOLSON, D.C.; DANIEL, J.L.P.; Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminant parameters, inflammatory response and rumen morphology. **Plos One**, 2018.

DIAZ, T.G.; TEODORO, A.L.; OSMARI, M.P.; SALAB, B.L.; MATOS, F. de M.; GIOTTO, F.M.; Líquido da casca da castanha de caju em dietas para ruminantes. **Revista Campo Digit@l**, v. 10, n. 1, agosto, 2015.

EVERTON, O.G.; ARAÚJO, R.J.P.; SANTOS, A.B. da S.; ROSA, P.V.S.; JUNIOR, R.G. de O. C.; TELES, A.M.; GOMES, P.R.B.; FILHO, V.E.M., Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da *Pimenta dioica* L. (pimenta da Jamaica) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**. vol.49 no.3 Bogotá, 2020.

FAO, Food and Agriculture Organization of United States. **Small-scale cashew nut processing**. YUMPU, 2001.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED STATES. **More than meat: Shaping the future of livestock**. BERLIM, 2018. Disponível em: <https://www.fao.org/news/story/en/item/1098231/icode/>

FERREIRA, C.M.; ROSA, O.P.S.; TORRES, S.A.; Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Brazilian Dental Journal**, v.13, n.2, p. 118-122, 2002.

FERREIRA, L.M.B.; Síntese e caracterização de adutos de óleo de rícino maleinizado meglumina como potenciais carreadores de fármacos. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, **Universidade Estadual Paulista**, São Paulo. 2012.

FERRO, M. M.; MOURA, D. C.; GERON, L. J. V., Revisão: Óleos essenciais em dietas para bovinos. **Revista de Ciências Agroambientais**, 2016.

FONTELES, N. L. de O.; SOUSA, R. T.; GONÇALVES, J. de L.; BARBOSA, J. dos S. R.; SANTONS, S. F.; BOMFIM, A. D., Revisão: Inclusão de gordura na alimentação de caprinos e seu efeito sobre o perfil lipídico no leite. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia** ISSN: 1982-1263, 2016.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. et al A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. **J. Theor. Biol.**, v.163, p.99-111, 1993.

GALLARETA, B. da T.; **Uso de óleos funcionais em substituição a monensina na nutrição de ruminantes: estudo meta-analítico**. Universidade Federal de Santa Maria, 2020.

GOULARTE, S.R.; ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; ÍTAVO, C.C.B.F.; OLIVEIRA, L.C.S.; FAVARO, A.M.; DIAS, R.A.A.; TORRES JUNIOR, C.M.M. Bittar; Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1479-1486, 2011.

GUIMARÃES JR, R.; GONÇALVES, L.C.; MAURICIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; TOMICH, T.R.; PIRES, D.A.A.; JAYME, D.G.; SOUSA, L.F.; Cinética de fermentação ruminal de silagens de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1174- 1180, 2008.

HALL, M.B.; Selection of an empirical detection method for determination of water-soluble carbohydrates in feedstuffs for application in ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 198, p. 28-37, 2014.

HENDERSON, G.; COX, F.; GANESH, S.; JONKER, A.; YOUNG, W.; Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific Reports**, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Rebanho bovino brasileiro alcançou recorde de 234,4 milhões de animais em 2022. **Ministério da Agricultura e Pecuária**. Publicado em 25/09/2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/rebanho-bovino-brasileiro-alcancou-recorde-de-234-4-milhoes-de-animais-em-2022>.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2ª Ed. da UFSM (Santa Maria, RS), 2009.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Terceira ed. Santa Maria, Rio Grande do Sul. Brasil. Editora UFSM, 2019.

KOZLOSKI, G. V., **Bioquímica dos ruminantes**, 3ª Ed. Editora Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

LAURENTINO, L.S.; MEDEIROS, A.M.; MACHADO, F.; COSTA, C.; ARAÚJO, P.H.; SAYER, C. Synthesis of a biobased monomer derived from castor oil and copolymerization in aqueous medium. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 137, p. 213-220, 2018.

LI, D.; ZHANG, Y.; CUI, Z.; HE, L.; CHEN, W.; MENG, Q.; REN, L. Effects of Phytoecdysteroids (PEDS) extracted from *Cyanotis arachnoidea* rumen fermentation, enzyme activity and microbial efficiency in a continuous-culture System. **PLoS ONE**, 2016.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J.; Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347–358, 1996.

MALHEIRO, D.M.; Ensaios preliminares sobre a ação do óleo essencial da casca da castanha de caju no tratamento da sarna demodécica do cão doméstico. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária São Paulo**, v. 4, n.2, p. 287-296, 1950.

MAPA. **Aditivos aprovados pelo mapa para uso na alimentação animal**, 2020. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-nimal/Listaaditivos17.03.2020.pdf>

MASIGLIO, B.N.; Óleos funcionais em dieta alto grão para ovinos e efeito sobre a digestibilidade dos nutrientes, desempenho, características da carcaça e do músculo Longissimus dorsi. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – **Universidade Estadual de Maringá**, 2012.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v.79, p.321-330, 1999.

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, G.; Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741, 2009.

MCTI – **Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação**: Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil. 5ª Edição, 2020.

MCTI – **Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação**: Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil. 6ª Edição, 2022.

MEDEIROS, S. R. de; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, v.1, p.178, 2015.

MICHAILOFF, A.A.; Óleos funcionais a base de mamona e de casca de castanha de caju na dieta de ovinos. Dissertação (mestrado). **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, 2017.

MILANI, M., Cultivo da mamona. Sistemas de Produção Embrapa, 3ª ed. **Embrapa Algodão**. ISSN 1678-8710, 2014.

MIZRAH, I.; JAMI, E.; Review: The compositional variation of the rumen microbiome and its effect on host performance and methane emission. **Animal vol. 12**, Suplemento 2. 2018.

MOMBACH, A.M.; PEDREIRA, B.C. e; PEREIRA, D.H.; CABRAL, L. da S.; RODRIGUES, R. de A.R.; Emissão de metano entérico por bovinos: o que sabemos e o que podemos fazer? Recuperação de Pastagens, **Anais do 2º Simpósio de Pecuária Integrada**. Fundação Uniselva. Cuiabá, MT. Brasil, 2016. Ip. 181-202. 2016.

- MORALES, E.R.; ESPINOSA, M.A.M.; McKAIN, N.; WALLACE, R.J.; Ricinoleic acid inhibits methanogenesis and fatty acid biohydrogenation in ruminal digesta from sheep and in bacterial cultures. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 13, p.4943-4950, 2012.
- MOURA, D. P.; TEOBALDO, R. W.; PAULA, N.F.; et al. Efeitos de óleos essenciais e monensina sobre o pH e nitrogênio amoniacal ruminal de bovinos de corte em pastejo. **55ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Goiânia, Goiás. Brasil, 2018.
- NAZZARO, F.; FRATIANNI, F., DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; De FEO, V.; Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, 6(12), 1451–1474, 2013.
- NEIVA JÚNIOR, A. P; SILVA FILHO, J.C; VAN CLEEF, E.H.C.B; PINTO, J.C; LUIZ, A.A; TAVARES, V. B; Avaliação das silagens de capim-elefante aditivadas com nabo forrageiro, pinhão manso e tremoço, pela técnica de produção de gases. **Ciência e Agrotecnologia**, V.34, n.4, p. 1024-1030, 2010.
- NIKAIDO, H.; Base molecular da permeabilidade da membrana externa bacteriana revisitada. **Revisões de Microbiologia Molecular**, dez/2003.
- NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Aditivos In: **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011.
- OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S. *In vitro* ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, 2010.
- OLIVEIRA, H. B. N., Óleos essenciais na dieta de vacas em lactação. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, **Acervo UFVJM**, Diamantina, 2013.
- OLIVEIRA, J.S. de; ZANINE, A. de M.; SANTOS, E.M.; Processo fermentativo, digestivo e fatores antinutricionais de nutrientes para ruminantes. Tese. **Revista eletrônica de Veterinária**, Volume VIII Número 2, 2007.
- OLIVEIRA, M.S.C.; MORAIS, S.M.; MAGALHÃES, D. V. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **ActaTropical**, v.117, p.165–170, 2011.
- OLIVEIRA, R.C. de; & IGARASI, M.S.; Utilização de óleos essenciais na mitigação da metanogênese. **PUBVET**, 2013.
- ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1624-1633, 1986.
- OSMARI, M.P.; de MATOS, L.F.; SALAB, B.L.; DIAZ, T.G.; GIOTTO, F.M.; Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidade na nutrição animal. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 143-149, 2015.
- PAIVA, F. de A.; AZEVEDO, J.H. de; LEITE, L.A. de S.; PESSOA, P.F.A. de P.; Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: castanha de caju. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA**, 2003.
- PARASA, L.S.; TUMATI, S.R.; KIMAR, L.C.A.; CHIGURUPATI, S.P.; RAO, G.S.; *In vitro* – Antimicrobial activity of cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shell liquid against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (mrsa) clinical isolates. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, Vol 3, 2011.

PEDREIRA, M. dos S.; BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. de; PRIMAVESI, O.; LIMA, M.A.; FRIGHETTO, R.; Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. **41º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, julho/2004.

PERES, A.; PINTO, A.C.J.; A produção do gás metano por bovinos pode influenciar significativamente no efeito estufa? **Zootecnia Unesp**. 2014. Disponível em: <https://www.coimma.com.br/blog/post/producao-do-gas-metano-por-bovinos-pode-influenciar-significativamente-no-efeito-estufa>

PIÑEIRO VÁZQUEZ, A.T.; CANUL-SOLÍS, J.R.; ALAYÓN-GAMBOA, J.A.; CHAY-CANUL, A.J.; AYALA-BURGOS, A.J.; AGUILAR-PÉREZ, C-F.; SOLORIO-SÁNCHEZ, F.J.; KU-VERA, J.C. Potential of condensed tannins for the reduction of emissions of enteric methane and their effect on ruminant productivity. **Archivos de Medicina Veterinaria**, 2015.

PUREVJAV, T.; HOFFMAN, M.P.; ISHDORJ, A.; CONOVER, A.J.; JEDLICKA, M.E.; PRUSA, K.; TORRENT, J.; PUSILLO, G.M.; Effects of functional oils and monensin on cattle finishing programs. **The Professional Animal Scientist**, 2013.

RAMOS MORALES, E.; MATA ESPINOSA, M. A.; MCKAIN, N.; WALLACE, R. J. Ricinoleic acid inhibits methanogenesis and fatty acid biohydrogenation in ruminal digesta from sheep and in bacterial cultures. **Journal of Animal Science**. v.90, n.13, p. 4943-4950, 2012.

REIS, I.B. de A.; Extração de óleo de mamona utilizando etanol em extrator **semicontínuo**. 2013. xii, 66 f., Il. Dissertação (Mestrado em Química), **Universidade de Brasília**, Brasília, 2013.

RIRA, M.; MORGAVI, D.P.; POPOVA, M.; MARIE-MAGDELEINE, C.; SILOU-ETIENNE, T.; ARCHIMÈDE, H.; DOREAU, M.; Ruminal methanogens and bacteria populations in sheep are modified by a tropical environment. **Animal Feed Science and Technology**, 2016.

RODRIGUES, M.R.C.; RONDINA, D.; ARAÚJO, A.A.; Respostas reprodutivas e metabólicas de ovelhas alimentadas com bagaço de caju desidratado, durante o pós-parto. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.171-179, 2011.

SANTAROSA, L. de C.; Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos alimentados com lipídios e ionóforos / Teses zootecnia – FMVZ. **Repositório Institucional UFLA**, 2011.

SANTOS, P.A.; Avaliação do farelo de mamona processado na alimentação de codornas japonesas. Dissertação (mestrado em Zootecnia). **Universidade Federal Rural de Pernambuco**. Recife, 2011.

SCHNEIDER, R.C. de S.; Extração, caracterização e transformação do óleo de rícino. 2002. 240 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Rio Grande do Sul. 2002.

SERRANO, L. A. L.; PESSOA, P. F. A. de P., Sistema de produção do caju. Sistemas de Produção Embrapa, 2ª ed. **Embrapa Agroindústria Tropical**, ISSN 1678-8702, julho 2016.

SILVA, B.K.; GUIMARÃES, B.M.M.; URIBE, J.A.Z.; SOUZA, R.C. de; Uso de óleos essenciais em bovinos. **Sinapse Múltipla**, 2019.

SILVA, R.S.; MARQUES, R.P. da S.; CARVALHA, M.V. de L.; Revisão: Tempo requerido para bactérias ruminais se adaptarem a alterações na dieta de bovinos confinados. **PUBVET**, v.16, n.09, a1201, p.1-16, set., 2022.

SILVA, T.E.; DETMANN, E.; CAMACHO, L.F.; SALIBA, E.O.S.; PALMA, M.N.N.; VALADARES FILHO, S.C.; Comparação de métodos in vitro para a quantificação da digestibilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro de forragens e concentrados. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.6, p.1635-1644, 2017.

SIPPERT, M. R.; Avaliação de óleos essenciais de laranja e cravo em rações de ruminantes utilizando sistemas in vitro. 2019. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - **Universidade Estadual de Maringá**, 2019.

SOLÓRZANO, L.A.R.; Efeitos de fontes energéticas sobre a fermentação ruminal, produção de metano determinada pela técnica do gás traçador SF 6, digestibilidade aparente total e excreção de nutrientes em bovinos. Dissertação (mestrado). **Universidade de São Paulo**, Pirassununga. 2012.

SOUZA, L.R.; TAVEIRA, R.Z.; DIB, R.T.; NETO, O.J. da S.; Desempenho de bovinos Nelore suplementados com óleos essenciais de caju e mamona, mantidos em pastagens de *Brachiária brizantha*. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 6, Ed. 255, Art. 1692, março, 2014.

SOUZA, T.R.; Óleos essenciais no controle de células planctônicas de sésses de *Staphylococcus aureus*. Dissertação. **UFLA**, LAVRAS -MG, 2015.

SUASSUNA, J.M.A.; Técnicas de produção de gás como preditoras do valor nutricional de dietas e extrato de *Poincianella pyramidalis* Tul. como modulador da fermentação ruminal. Tese. **Universidade Federal da Paraíba**. 2020.

TAPIO, I.; SNELLING, T.J.; STROZZI, F.; WALLACE, R.J.; O microbioma ruminal associado às emissões de metano da pecuária ruminante. **Jornal de Ciência Animal e Biotecnologia**, 2017.

TAWAB, A.M.A.E.; KHATTAB, M.S.A.; HADHOUD, F.I.; SHAABAN, M.M.; Efeito da mistura de plantas herbais na fermentação ruminal, degradabilidade e produção de gás. **Acta Sci., Anim. Sci.** vol.43 Maringá 2021.

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**, v.48, n.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. **The Journal of the British Grassland Society**., v.18, p.104-111, 1963.

TORRENT, J.; Óleos funcionais: uma alternativa como promotor de crescimento. **Nutrição Animal. Boletim Apamvet**, 2012.

TORRES, R. N. S.; Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. **The Veterinary Journal**, v. 272, p. 105659, 2021.

TOSETI, L.B.; **Efeitos de diferentes aditivos e fontes de volumosos na dieta de bovinos confinados**. Tese. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

VALDARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, p. 161-189, 2011.

VALERO, M.V.; PRADO, R.M.; ZAWADZKI, F.; Propolis and essential oils additives in the diets improved animal performance and feed efficiency of bulls finished in feedlot. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.36, n.4, p. 419-426, 2014.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I.; HENDERICKX, H.K.; Effect of fatty acid derivatives on rumen methane and propionate *in vitro*. **Applied microbiology**, v. 21, n. 2, p. 365-366, 1971.

VIEIRA, E.R. de Q.; GOES, R.H. de T. e B. de; DIAZ, T.G.; OSMARI, M.P.; SENO, L. de O.; ÍTAVO, L.C.V.; GANDRA, J.R.; ANSCHAU, D.G.; OLIVEIRA, R.T. de; SILVA, N.G. da; JACAÚNA, A.G.; Chitosan combined with technical cashew nut shell liquid improves *in vitro* ruminal parameters and gas production kinetics. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, 51:e20200186, 2022.

WALLACE, R.; J.; Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.63, n. 4, p. 621–629, 2004.

WALLACE, R.J.; ROOKE, J.A.; DUTHIE, C.A.; HYSLOP, J.J.; ROSS, D.W.; MCKAIN, N.; MOTTA de SOUZA, S.; SNELLING, T.J.; WATERHOUSE, A.; ROEHE, R.; Archaeal abundance in post-mortem ruminal digesta may help predict methane emissions from beef cattle. **Scientific Reports**, 4(5892): 1-8, 2014.

WATANABE, E.; RAZABONI, A.M.; BERALDO, C.C.; GIORDANI, A.T.; ANDRADE, D. de; Determinação *in vitro* da atividade antibacteriana de detergente de mamona contra bactérias hospitalares. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, 2013.

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FOSTER, R. J.; KOBAYASHI, Y., Avaliação *in vitro* do líquido da casca da castanha de caju como agente inibidor de metano e intensificador de propionato para ruminantes. **Journal Dairy Science**, vol. 93, edição 11, P5258-5267, 2010.

CAPÍTULO II: LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DE DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da adição do líquido da casca da castanha de caju (LCCC) em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a fermentação ruminal *in vitro* através da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Campus de Araguaína - TO. O inóculo ruminal foi obtido de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal). Os tratamentos consistiram em um esquema fatorial com quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e adição de três níveis de LCCC (0%, 1% e 2%). Foi avaliada a produção de gases, a degradação ruminal da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são produtos da fermentação ruminal. As curvas geradas na produção de gases foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando um delineamento de blocos casualizados com arranjo fatorial 4×3 , sendo os fatores as quatro dietas e os três níveis de adição do óleo, perfazendo doze tratamentos e com três blocos (animais doadores). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. Analisando-se a cinética de fermentação ruminal, observou-se que a produção total de gases (parâmetro A) e a degradabilidade efetiva (DE), foram maiores para as dietas formuladas com maior proporção de concentrado resultando em maior produção de gases e menor tempo de colonização (T), em comparação com as dietas formuladas com maiores proporção de volumoso, independentemente do nível de inclusão de LCCC. No teste de paralelismo das curvas de produção de gases não houve diferença. Não houve efeito de interação entre dieta e níveis do LCCC para nenhuma variável. Foi verificado efeito significativo da relação volumoso:concentrado para as variáveis DMS, DMO, metano, proporção de acetato, proporção de propionato e relação acetato:propionato e não significativo na proporção de butirato. A inclusão do LCCC resultou em efeito significativo para as variáveis DMS, metano e na proporção de propionato, e efeito não significativo para DMO, proporção de acetato, proporção de butirato e relação acetato:propionato. Maiores proporções de concentrado aumenta a degradabilidade da dieta, contribuindo para redução da proporção de acetato, favorece o aumento da proporção de propionato e reduz relação acetato:propionato, independente da relação volumoso:concentrado a inclusão do LCCC não altera a degradabilidade da MO. O LCCC no nível de inclusão de 1% e 2% na dieta, reduz a produção de metano, indicando que nessa dosagem melhora o aproveitamento de energia e contribui para o bom funcionamento do ambiente ruminal.

Palavras-chave: Ácidos graxos de cadeia curta. Degradabilidade. Metano. Parâmetros ruminais.

CHAPTER II: CASHEW NUT SHELL LIQUID (*Anacardium occidentale* L.) IN IN VITRO RUMINAL FERMENTATION OF DIETS WITH DIFFERENT VOLUME:CONCENTRATE RATIO

ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of adding cashew nut shell liquid (CCCL) to diets with different volume:concentrate ratios on in vitro rumen fermentation using the semi-automatic in vitro gas production technique. The experiment was carried out at the Federal University of Northern Tocantins (UFNT), Araguaína Campus - TO. The rumen inoculum was obtained from three cattle (250 ± 25 kg body weight). The treatments consisted of a factorial scheme with four diets with different volume:concentrate ratios (100:0, 67:33, 33:67 and 0:100) and the addition of three levels of LCCC (0%, 1% and 2%). Gas production, rumen degradation of dry matter and organic matter, methane production and the proportion of short-chain fatty acids (SCFA), which are products of rumen fermentation, were evaluated. The gas production curves were compared using the parallelism and identity tests. The data was submitted to analysis of variance using a randomized block design with a 4×3 factorial arrangement, the factors being the four diets and the three levels of oil addition, making up twelve treatments and three blocks (donor animals). The means of the treatments were compared using the Tukey test at 5% probability of type I error. Analyzing rumen fermentation kinetics, it was observed that total gas production (parameter A) and effective degradability (ED) were higher for diets formulated with a higher proportion of concentrate, resulting in higher gas production and shorter settling time (T), compared to diets formulated with a higher proportion of roughage, regardless of the level of LCCC inclusion. There was no difference in the parallelism test of the gas production curves. There was no interaction effect between diet and LCCC levels for any variable. There was a significant effect of the volume:concentrate ratio for the variables DMD, BMD, methane, acetate ratio, propionate ratio and acetate:propionate ratio and no significant effect on the butyrate ratio. The inclusion of LCCC resulted in a significant effect for the variables DMD, methane and propionate ratio, and a non-significant effect for BMD, acetate ratio, butyrate ratio and acetate:propionate ratio. Higher proportions of concentrate increased the degradability of the diet, contributing to a reduction in the proportion of acetate, favoring an increase in the proportion of propionate and reducing the acetate:propionate ratio. Regardless of the volume:concentrate ratio, the inclusion of LCCC did not alter the degradability of OM. LCCC at the inclusion level of 1% and 2% in the diet reduces methane production, indicating that at this dosage it improves energy utilization and contributes to the proper functioning of the rumen environment.

Key-words: Short-chain fatty acids. Degradability. Methane. Ruminants parameters.

1. INTRODUÇÃO

A produção pecuária de ruminantes domésticos é a maior utilizadora de terras agrícolas e constantemente é relacionada a questões ambientais associadas a expansão territorial e por gerar mais gases de efeito estufa se comparada a outras fontes de alimento de forma direta (fermentação entérica e manejo de dejetos) ou indireta (produção de alimentos e conversão de floresta em pastagem) (FAO, 2018).

Para intensificar a produtividade e melhorar a eficiência alimentar do rebanho, a utilização de aditivos tem se tornado cada vez mais comum na alimentação de bovinos como prática de manejo alimentar. Diante disso, a busca por produtos naturais que possam substituir de forma eficiente os aditivos químicos mais difundidos, por exemplo a monensina, os extratos vegetais estão ganhando espaço nas pesquisas por seus possíveis benefícios na alimentação animal (VIEIRA, 2022).

Os extratos de plantas, são metabólitos secundários que os tornam alternativas potenciais para manipular a atividade microbiana no rúmen por possuírem propriedades antimicrobianas. Os efeitos dos óleos essenciais bem como seus compostos e taxas de dosagem em dietas tem se tornado importantes no estudo, apresentando diferentes resultados, isso pode ser explicado pela diferença na estrutura química de cada óleo, o que influencia os seus efeitos na atividade microbiana (BENCHAAR et al., 2007; EVERTON et al., 2020).

O líquido extraído da casca da castanha de caju (LCCC) é um óleo funcional, fonte natural de lipídios fenólicos, que contém ácido anarcárdico, cardol e cardanol, que possui atividade antimicrobiana e antioxidante (ANDRADE et al., 2011; VIEIRA et al., 2022).

Estudos *in vitro* são úteis para avaliar uma grande variedade de aditivos e sua influência na fermentação ruminal (SIPPERT, 2019). Por essa razão, o uso do LCCC tem sido estudado *in vitro* como aditivo modulador da fermentação ruminal, por melhorar a digestibilidade dos nutrientes e selecionar bactérias Gram-negativas em detrimento das Gram-positivas (ANDRADE et al., 2011).

Diante disso, objetivou-se estudar a utilização do LCCC na fermentação ruminal *in vitro* de dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a degradabilidade da matéria seca, matéria orgânica, produção de metano e proporção de ácidos graxos de cadeia curta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local Experimental

O ensaio *in vitro* foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) no Laboratório de Nutrição de Ruminantes no setor de Ensaio de Fermentação Ruminal e Produção de Gases, Campus de Araguaína/TO, localizado nas coordenadas 6°34'52'', de latitude sul, e 48°38'40'' de longitude oeste e 152,0 m de altitude na Amazônia Oriental Brasileira. Os procedimentos realizados envolvendo o uso de animais foram aprovados pela Comissão Ética no Uso de Animais da CEUA/UFNT, de acordo com o protocolo de nº23.101.272/01-55.

2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos

As dietas utilizadas neste experimento foram formuladas com uso de feno de *Megathyrus maximus* cv. Mombaça triturado em moinho de facas com peneira de crivo de 1 mm e concentrado a base de milho e farelo de soja (Tabela 1).

O ensaio foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados (DBC) que consistiram em um esquema fatorial 4x3 de quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e inclusão de três níveis do LCCC (0, 1 e 2% da MS) e os blocos de inóculo ruminal de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal), totalizando doze tratamentos.

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas

Ingredientes	Composição (% da MS Total)			
	Dieta volumosa (100:00)	Dieta (67:33)	Dieta (33:67)	Dieta concentrada (00:100)
Feno Mombaça	97,00	67,00	33,00	0,00
Milho grão moído	0,00	17,00	41,00	54,92
Farelo de Soja	0,00	10,96	20,96	34,35
Fosfato	0,00	0,58	0,58	1,15
Sal Mineral	3,00	3,00	3,00	6,42
Calcário dolomítico	0,00	1,46	1,46	3,12
Composição química (% de MO)				
MS (g kg ⁻¹ MN)	89,44	88,81	88,08	89,72
PB	11,19	15,19	17,68	25,43
EE	1,05	1,16	1,62	1,02
FDN	60,77	46,29	28,19	17,17
FDA	29,20	23,68	9,41	2,12
NIDN	1,29	1,83	2,01	1,42
NIDA	0,67	0,73	1,01	1,33

MS – Matéria Seca; MN – Matéria Natural; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; FDN – Fibra em Detergente Neutro; FDA- Fibra em detergente ácido; NIDN – Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA – Nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

2.3 Bioensaio *in vitro* da produção de gases

Três bovinos adultos mestiços (250 ± 25 kg de peso corporal) provenientes dos setores de gado de corte e de leite da instituição, foram utilizados como doadores de conteúdo ruminal. Os animais foram mantidos em pastagem de capim Mombaça com livre acesso à água e uma ração a base de milho e farelo de soja para adaptação dos animais por um período de 8 dias. As coletas das amostras de líquido ruminal foram realizadas manualmente mediante a introdução de uma sonda esofágica, adaptada a uma bomba de vácuo. A fim de diminuir a contaminação pela saliva nas amostras, os primeiros 200 ml de líquido ruminal foram descartados, sendo aproveitados os volumes subsequentes. Após a obtenção das amostras, estas foram imediatamente transferidas e acondicionadas em garrafas térmicas individuais, previamente aquecidas com água à temperatura de 39 °C, sendo fechadas após o envase, com o objetivo de manter a temperatura durante o transporte até o laboratório de gases.

No preparo dos inóculos, o material foi filtrado em duas camadas de tecido de algodão e distribuídos em Becker identificados em inóculo 1, inóculo 2 e inóculo 3, acondicionados em banho maria (Banho Maria SL - 150) e mantidos a 39 °C até o término da sua utilização.

A inoculação foi realizada através da injeção do inóculo em cada frasco de incubação usando seringa plástica graduada. Foram utilizados 117 frascos de vidro, previamente lavados com água destilada, secos em estufa e identificados. Aos frascos com capacidade para 160 ml, foram adicionados aproximadamente 1,0 g de amostra sob aspensão de CO₂, com três réplicas de cada tratamento, 10 ml de inóculo, 90 ml de meio de cultura e o devido nível de óleo, sendo o volume proporcional ao total de conteúdo no interior dos frascos.

Para os ajustes de variação, foram incubados frascos considerados brancos, contendo as soluções de incubação sem substrato. Os frascos foram vedados com tampa de silicone e incubados em estufa a 39 °C, sob controle rigoroso de temperatura, permitindo desta forma a produção de gases dentro de cada frasco. Este foi considerado o tempo zero e dado início a contagem dos tempos de fermentação. A técnica *in vitro* de produção de gases utilizada foi semiautomática descrita em Maurício et al. (1999), as medidas de pressão e volume de gases foram tomadas utilizando-se um transdutor de pressão modelo DPI800-P.

A pressão dos gases no *head space* foi medida após: 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação. Após 96h, os frascos foram colocados em bandejas com água e gelo de modo a cessar a atividade microbiana. Amostras do líquido ruminal contido em cada frasco identificado, também foram coletadas para a determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Ao final, foram determinadas a degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO).

Após tal procedimento, os dados foram ajustados ao modelo de France et al. (1993) como expresso na equação:

$$Y = A \times \{1 - \exp[-b \times (t - T) - c \times (\sqrt{t} - \sqrt{T})]\}$$

Foram obtidos os seguintes parâmetros referentes à cinética de produção de gases: produção de gases acumulada “Y” (ml), tempo de incubação “t” (horas), total de gases produzidos “A” (ml), tempo de colonização “T” (horas) e taxa de degradação fracional “μ” (h⁻¹). As equações geradas foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade de curvas de acordo com Regazzi e Silva (2004) (p<0,05), ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Foram estimadas também as degradabilidades efetivas, como expresso abaixo segundo a equação sugerida por France et al. (1993):

$$DE = S_0 \exp^{-kt} \times (1 - kl) / (S_0 + U_0)$$

Em que: DE = degradabilidade efetiva,

k = taxa de passagem, sendo calculada para $k = 0,02, 0,04, 0,06$ e $0,08$,

S_0 e U_0 = frações inicialmente fermentáveis e frações não fermentáveis, respectivamente, sendo:

$$I = \int_0^{\infty} \exp^{-[(b+k)(t-T) + c(\sqrt{t} - \sqrt{T})]} dt.$$

2.4 Determinação da produção de metano

Paralelamente às mensurações de pressão, uma alíquota dos gases produzidos (5 ml) em cada frasco foi coletada com o auxílio de seringas descartáveis para posterior quantificação e determinada a produção do gás de maior interesse ambiental: CH_4 . Tal mensuração foi feita pelo analisador de gases portátil TEC-GA21BIO®.

2.5 Análises Bromatológicas

As amostras coletadas durante o experimento foram submetidas as seguintes análises bromatológicas: matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), extrato etéreo (EE; método 920.29), proteína bruta (PB; método 981.10), segundo Official (2016), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) (VAN SOEST et al., 1991). Além disso, foi determinado o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) segundo Licitra et al. (1996).

2.6 Determinação de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

As análises de AGCC foram realizadas no laboratório de nutrição animal do CCA/UFNT. Para determinação do AGCC, uma alíquota de 20 ml do líquido ruminal dos frascos identificados foi filtrada em cadinhos filtrantes com placa porosa (porosidade 1) e em seguida, adicionado 1mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 6N. As amostras foram acondicionadas em tubo plástico com 50 ml de capacidade, fechado, identificado e armazenado em freezer a -20 °C imediatamente após a coleta. Para a realização da análise de AGCC, as amostras foram descongeladas e centrifugadas (Centrifuga Refrigerada SL 701, Solap, Brasil, 3000RPM e 4 °C) durante 10 minutos para separação do sobrenadante. Com o auxílio de uma pipeta automática, foi retirado 1,5 ml de cada tubo e depositado em *vials* para cromatógrafo (frasco de vidro, pequeno e transparente) e identificados. As amostras foram

analisadas utilizando cromatógrafo gasoso Shimadzu (modelo GC-2010 Plus, Japão) com coluna Rtx-5 (Restek, EUA) de 30 m e 0,25 mm, e temperaturas no vaporizador, detector e coluna (inicial) de 200, 220 e 80 °C, respectivamente. Foi usada rampagem na coluna de 80 °C por 1 minuto, e aumento de 10 °C/min até 100 °C, mantendo estável a 100 °C por 2 minutos. Uma mistura de ácidos orgânicos: acetato, propionato e butirato, foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)

A DMS foi obtida após 96 horas de incubação, pela filtração dos resíduos da fermentação em cadinhos com placa porosa (porosidade 1) previamente lavados com água destilada, pesados e posteriormente secos em estufa (105 °C) por 16 horas. Após esse período os cadinhos foram esfriados em dessecador por 30 minutos e pesados para determinação do resíduo. Para a determinação da DMO, os resíduos nos cadinhos foram submetidos a queima em mufla (400 °C) por 4 horas, esfriados em dessecador por 30 minutos e pesados novamente para determinação das cinzas pela diferença dos resíduos.

2.8 Análises estatísticas

Os procedimentos estatísticos foram executados com auxílio do programa *Statistical Analysis System*® (SAS 9.3). Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias dos fatores foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_{1j} + F_{2j} + F_1 \times F_{2j} + e_{ijk}$$

Em que:

μ = média geral,

B_i = efeito do Bloco i , $i = 1, 2, 3$

F_{1j} = efeito das dietas j , $j = 1, 2, 3, 4$,

F_{2j} = efeito dos níveis de óleo j , $j = 1, 2, 3$,

$F_1 \times F_{2j}$ = efeito da interação (Dieta \times Níveis de mistura do LCCC),

e_{ijk} = erro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Cinética da fermentação ruminal *in vitro*

Após 96h de incubação *in vitro*, as dietas com maiores proporções de concentrado apresentaram melhor resultado na cinética de fermentação para a produção total de gases (A), degradabilidade efetiva (DE) e taxa de degradação fracional (μ) em um menor tempo (T) de colonização do substrato, no entanto, as dietas com maiores proporções de volumoso exibiram menor resultado para os mesmos parâmetros avaliados em um maior tempo (T) de colonização pelas bactérias (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito da adição do líquido da casca da castanha de caju sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro* em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva

TRATAMENTOS	PARÂMETROS DE FRANCE						
	A*	T* (h:Min)	μ^*	DE** (2%)	DE (4%)	DE (6%)	DE (8%)
LCCC0R100_0	196,900	00:32	0,04818	77,15	75,60	74,04	72,50
LCCC1R100_0	200,200	00:33	0,04743	75,81	74,27	72,74	71,21
LCCC2R100_0	201,100	00:34	0,04454	75,66	74,13	72,60	71,07
LCCC0R67_33	204,800	00:31	0,04248	77,81	76,22	74,63	73,05
LCCC1R67_33	201,500	00:30	0,04378	76,73	75,17	73,62	72,06
LCCC2R67_33	201,300	00:34	0,04155	76,85	75,28	73,71	72,14
LCCC0R33_67	226,400	00:23	0,04711	86,92	85,18	83,45	81,71
LCCC1R33_67	217,300	00:21	0,04602	86,29	84,56	82,84	81,12
LCCC2R33_67	226,400	00:25	0,04387	85,72	83,99	82,26	80,54
LCCC0R0_100	223,400	00:22	0,04893	91,13	89,33	87,53	85,73
LCCC1R0_100	217,400	00:21	0,04670	90,74	88,93	87,12	85,31
LCCC2R0_100	213,400	00:20	0,04444	90,73	88,91	87,09	85,28

A: Total de gases (ml), T: Tempo de colonização (horas) e μ : Taxa de degradação fracional (h^{-1}) *Parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993). **Degradabilidade Efetiva.

Os alimentos volumosos apresentam na sua estrutura uma parede celular rica em carboidratos estruturais que são responsáveis por darem sustentação à planta. (MEDEIROS et al., 2015). Tais carboidratos confere maior resistência à célula, dificultando o ataque dos microrganismos degradadores de fibra, dessa forma o volumoso necessita de um tempo mais longo para a ação dos microrganismos ruminais (CABRAL et al., 2002).

Além disso as menores produções de gases nas dietas com maiores proporções de volumoso, indicam o efeito que estes têm nas populações microbianas, sabendo que, durante o seu processo metabólico tem como grande parte dos produtos gases como dióxido de carbono e metano (AZEVEDO et al., 2003). No entanto, as dietas de alto grão para bovinos, são mais

digestíveis devido à disponibilidade relativamente alta de carboidratos de rápida fermentação, assim a ingesta tende a passar mais rápido ao abomaso e posteriormente para o intestino (SUASSUNA, 2022; AZEVÊDO et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2008).

Do ponto de vista nutricional, os carboidratos são classificados em: carboidratos fibrosos (CF) e não-fibrosos (CNF). Os carboidratos fibrosos (CF) constituem a parede celular (celulose e hemicelulose) e estão presentes nas plantas forrageiras, são digeridos lentamente pelo animal, apresentam disponibilidade nutricional variável e ocupam espaço no trato gastrointestinal, sendo este o principal componente da dieta dos ruminantes. Os não-fibrosos (CNF) como o amido, são armazenados e servem como reserva energética, apresentam disponibilidade nutricional rápida, completa e constante entre os alimentos (HALL, 2014).

O tempo de colonização (T) das bactérias ruminais indica a velocidade que os microrganismos aderem e penetram no alimento, ou seja, em métodos *in vitro* compreende o tempo entre o início da incubação até a ação dos microrganismos sobre a amostra testada de modo que o tipo de alimento, tamanho de partícula, são fatores que influenciam diretamente no tempo de colonização (SILVA et al., 2022).

As reduções no tempo de colonização são favorecidas pela presença de substratos prontamente fermentáveis com isso pode refletir em maior produção de gases, logo, quanto maior o tempo de colonização, menor será a taxa de degradação (GUIMARÃES et al., 2008)

A taxa de degradação fracional (μ) obteve maiores resultados com a inclusão de mais concentrado em relação as dietas com mais volumoso, porém houve ligeira diminuição quando adicionados os níveis de LCCC de 1% e 2% em relação as dietas com 0% de inclusão.

O crescimento microbiano é diretamente dependente da disponibilidade de energia no rúmen, energia que é proveniente da fermentação dos carboidratos prontamente fermentáveis (DIAZ, 2013). Por isso, quando foi adicionado o LCCC, a taxa de degradação fracional diminuiu devido a atividade antimicrobiana do cardol e cardanol.

De acordo com Guimarães et al. (2008), a degradabilidade efetiva calculadas com base nos parâmetros obtidos pelo modelo de France et al. (1993), a degradabilidade com taxa de passagem de 2%/h simulam animais em nível de manutenção, 6%/h simulam taxas de passagem de animais em nível médio de produção e 8%/h são taxas de passagem de animais com alto nível de produção.

Observou-se redução na DE com a inclusão de LCCC nos níveis de 1% e 2% nas dietas com mais volumoso e nas dietas com mais concentrado. É essencial a percepção de que

alimentos com menor degradabilidade não são exatamente ruins, mas são mais adequados para categorias menos exigentes nutricionalmente (DAMACENO et al., 2018).

3.2 Equações da produção acumulativa de gases

As curvas de produção cumulativa de gases dos tratamentos e suas respectivas equações estão representadas nas Figura 9 e na Tabela 3.

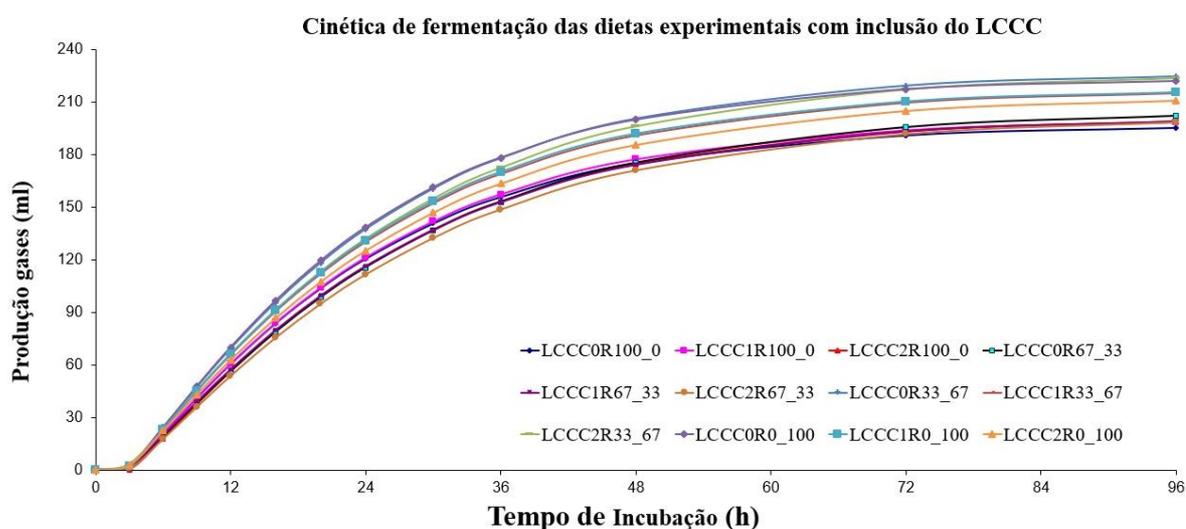


Figura 8 - Curva da produção acumulativa de gases em função dos tempos de incubação com a inclusão de 0%, 1% e 2% do líquido da casca da castanha de caju nas dietas R100_0 (Dieta 100% volumoso e 0% concentrado), R67_33 (Dieta 67% volumoso e 33% concentrado), R33_67 (Dieta 33% volumoso e 67% concentrado) e R0_100 (Dieta 0% volumoso e 100% concentrado).

Nas dietas até 33% de concentrado, não houve efeito do aditivo, pois foram paralelas e tiveram a mesma identidade (Tabela 3). Já nas dietas com mais concentrado foi percebido que houve efeito do aditivo, que piorou as curvas de produção de gases, pois os maiores valores de “A” foram sempre para os tratamentos sem aditivos.

A maior produção de gases observada nos tratamentos que não houve inclusão de LCCC, está relacionada a composição da dieta, por conter mais concentrado. Já para os tratamentos com menor produção de gases observada, pode estar relacionado com os microrganismos que fermentaram mais o substrato, e principalmente nos tratamentos com maior proporção de volumoso, provavelmente por conta do teor de fibra em que as bactérias ruminais precisam de mais de tempo para degradação do substrato (CABRAL et al., 2002; MEDEIROS et al., 2015).

Tabela 3 - Equações da produção cumulativa de gases (PCA), em ml/g de MS de dietas com diferentes relações de volumoso:concentrado e três níveis do líquido da casca da castanha de caju

Tratamentos	Equações (Modelo de France)		R ² (%)
LCCC0R100_0	$Y = 196,9000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0623) \times (t-0,0500) - (-0,1162) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0500})]}\}$	a E	98,88
LCCC1R100_0	$Y = 200,2000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0614) \times (t-0,0571) - (-0,1155) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0571})]}\}$	a E	98,60
LCCC2R100_0	$Y = 201,1000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0580) \times (t-0,0537) - (-0,1133) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0537})]}\}$	a E	98,67
LCCC0R67_33	$Y = 204,8000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0547) \times (t-0,0582) - (-0,1029) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0582})]}\}$	a E	99,10
LCCC1R67_33	$Y = 201,5000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0562) \times (t-0,0541) - (-0,1037) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0541})]}\}$	a E	99,23
LCCC2R67_33	$Y = 201,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0537) \times (t-0,0587) - (-0,1030) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0587})]}\}$	a E	98,98
LCCC0R33_67	$Y = 226,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0605) \times (t-0,0424) - (-0,1101) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0424})]}\}$	a A	98,50
LCCC1R33_67	$Y = 217,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0588) \times (t-0,0412) - (-0,1053) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0412})]}\}$	a C	97,82
LCCC2R33_67	$Y = 226,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0558) \times (t-0,0460) - (-0,0989) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0460})]}\}$	a B	98,52
LCCC0R0_100	$Y = 223,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0631) \times (t-0,0376) - (-0,1158) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0376})]}\}$	a A	99,21
LCCC1R0_100	$Y = 217,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0599) \times (t-0,0391) - (-0,1087) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0391})]}\}$	a C	98,60
LCCC2R0_100	$Y = 213,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0566) \times (t-0,0397) - (-0,1006) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0397})]}\}$	a D	99,07

Equações acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna são paralelas pelo teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade (Freeze, 1970). Equações acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna são idênticas pelo teste de identidade de curvas a 5% de probabilidade (Regazi e Silva, 2004).

3.3 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)

Não foi verificado interação significativa na relação volumoso:concentrado (V:C) x LCCC para a degradabilidade da matéria seca (DMS), porém os efeitos individuais foram significativos ($P < 0,05$). Nas observações do comportamento individual, foi verificado efeito significativo ($P = 0,002$) para o OE-caju e efeito significativo ($P = 0,001$) para a relação V:C na DMS (Tabela 4).

A DMS diminuiu com a inclusão do LCCC devido ao seu efeito antimicrobiano, apresentando médias de 84,93%, 84,06 e 83,91 para os níveis 0%, 1 e 2%, respectivamente, e o aumento do concentrado na dieta promoveu uma maior DMS, associado a uma maior produção de gases.

A dieta com 100% de concentrado teve maior degradação da MS em relação as com proporções 33:67, 67:33 e 100:00 de volumoso:concentrado. Em geral, o incremento nos níveis de concentrado dietético resulta em aumento na degradabilidade do substrato (exceto FDN), pois fornecem maior quantidade de energia que é disponível para o adequado crescimento das bactérias ruminais, gerando aumento da fermentação (NUSSIO, 2011).

Para a degradação da matéria orgânica (MO) não foi verificado efeito significativo para interação entre V:C x LCCC e para os níveis de LCCC, no entanto, foi verificado efeito entre as dietas avaliadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Degradabilidade ruminal da matéria seca (DMS) e degradabilidade ruminal da matéria orgânica (DMO) em função da relação volumoso:concentrado e adição de níveis do líquido da casca da castanha de caju

DMS (%)									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	LCCC
0%daMS	78,71	79,41	88,67	92,94	84,93 A	<0,001	0,002	0,719	0,77
1%daMS	77,35	78,30	88,03	92,55	84,06 B				
2%daMS	77,20	78,43	87,46	92,55	83,91 B				
Médias	77,75 d	78,72 c	88,05b	92,68a	84,30				
DMO (%)									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	LCCC
0%daMS	78,16	80,95	90,42	97,82	86,34 A	<0,001	0,366	0,449	15,20
1%daMS	77,38	81,00	116,99	97,58	93,24 A				
2%daMS	77,08	79,78	89,36	97,29	85,91 A				
Médias	77,54 b	80,61 b	88,05 a	92,68 a	88,66				

V:C – Relação volumoso:concentrado da dieta, DMS – Degradabilidade da matéria seca, DMO – Degradabilidade da matéria orgânica, P*: Probabilidade de erro tipo I, LCCC: líquido da casca da castanha de caju, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si a ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

DÍAZ (2013) avaliando os efeitos de níveis crescentes de líquido da casca da castanha de caju (LCCC) nos níveis de 0, 0,3, 0,5 e 1,2 g LCCC-1 kg⁻¹ MS em dietas para ruminantes e seus efeitos sob a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e parâmetros da fermentação ruminal, observou-se que a digestibilidade da matéria seca é melhorada com a inclusão de 0,5 g de líquido da casca da castanha de caju, evita queda de pH ruminal de forma drástica em dietas com maiores proporções de amido, reduzindo as ocorrências de distúrbios metabólicos.

3.4 Produção de metano *in vitro* (CH₄)

Os valores referentes à produção de metano com a inclusão de níveis de óleo essencial de caju, expresso por grama de matéria orgânica degradada (CH₄/g MOD) estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 5 - Produção de metano *in vitro* (CH₄) em diferentes relações de volumoso:concentrado e inclusão do líquido da casca da castanha de caju

LCCC	Metano (g CH ₄ /Kg MOD)					P*			
	V:C		Médias			V:C	LCCC	V:C x LCCC*	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100	41,74				
0%daMS	55,30	45,60	37,73	28,32	41,74 A	<0,001	0,018	0,083	2,85
1%daMS	53,85	46,68	34,36	26,12	40,25 B				
2%daMS	54,06	46,18	36,91	27,15	41,08 B				
Médias	54,41 a	46,15 b	36,34 c	27,20 d	41,02				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta, CH₄/Kg MOD- Metano/kg de Matéria orgânica degradada *in vitro*, P*: Probabilidade de erro tipo I, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a (P<0,05), pelo teste de Tukey.

Não houve interação entre a relação V:C x LCCC para a produção de metano (CH₄). No entanto, os efeitos individuais nas variáveis V:C e LCCC foram significativos (P<0,05).

A produção de metano diminuiu com o aumento da relação de concentrado, com médias de 54,41% no tratamento 100:00 (V:C) e 27,20% no tratamento 00:100 (V:C). A inclusão de 1% e 2% do LCCC, proporcionou de metano na matéria orgânica degradada, em decorrência da influência moderada do LCCC sobre a fermentação ruminal.

Esse resultado demonstra que em alimentos volumosos, a estrutura da parede celular do vegetal, contém mais carboidratos estruturais e isso determina uma taxa de degradação lenta, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos metanogênicos nesse ambiente, sendo assim, há uma maior produção de metano, o que é indesejável do ponto de vista nutricional, pois diminui a energia metabólica que poderia ser utilizada pelo animal e do ponto de vista ambiental, pois este é eliminado para o meio ambiente (PERES e PINTO, 2014; OLIVEIRA et al., 2016).

O líquido da casca da castanha de caju (LCCC), possui em sua composição cardol e cardanol, compostos de ação antimicrobiana, que faz do LCCC um excelente aditivo que pode reduzir indiretamente a metanogênese, ao inibir a atividade e crescimento de bactérias Gram-positivas produtoras de hidrogênio e formato, intermediários na formação do metano no ambiente ruminal (SHINKAI et al., 2012; VIEIRA et al., 2022).

Watanabe et al. (2010), confirmam que o LCCC é um potenciador na produção de propionato por aumentar a proporção de bactérias Gram-negativas, que são mais tolerantes ao

LCCC, induzindo mudanças na população da microbiota ruminal, com diminuição do número de protozoários e bactérias produtoras de ácido láctico, incentivando assim o dissipador de hidrogênio alternativo para metano - propionato.

3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC)

Não foi verificada interação na relação V:C x LCCC para nenhuma das variáveis avaliadas. Foi verificado efeito significativo para a relação V:C para acetato, propionato e relação acetato:propionato. Os níveis de LCCC resultaram em efeito significativo apenas para o propionato (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de bovinos com diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão do líquido da casca da castanha de caju

Acetato									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P* V:C x LCCC*	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100					
0%daMS	63,30	60,63	56,70	55,26	58,97 A				
1%daMS	61,61	60,43	56,70	53,76	58,25 A	<0,001	0,386	0,928	12,72
2%daMS	62,58	59,91	55,98	54,54	58,12 A				
Médias	62,50a	60,32a	56,46b	54,52c	58,44				
Propionato									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P* V:C x LCCC*	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100					
0%daMS	29,42	31,05	33,24	35,01	32,18 B				
1%daMS	29,95	31,58	33,77	35,87	32,79 AB	<0,001	0,049	0,993	14,56
2%daMS	30,13	31,76	33,95	36,39	33,06 A				
Médias	29,83d	31,47c	33,65b	35,76a	32,67				
Butirato									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P* V:C x LCCC*	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100					
0%daMS	8,21	8,36	8,38	8,40	8,34 A				
1%daMS	8,46	8,50	8,46	8,42	8,43 A	0,837	0,772	0,996	18,05
2%daMS	8,22	8,51	8,47	8,51	8,46 A				
Médias	8,30 a	8,46 a	8,44 a	8,44 a	8,41				
Acetato:Propionato									
LCCC	V:C				Médias	V:C	LCCC	P* V:C x LCCC*	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100					
0%daMS	2,15	1,95	1,70	1,57	1,67 A				

1%daMS	2,05	1,91	1,68	1,06	1,77 A				
2%daMS	2,07	1,88	1,65	1,50	1,84 A	<0,001	0,172	0,364	12,04
Médias	2,09a	1,91a	1,68 bc	1,38c	1,76				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta, LCCC – líquido da casca da castanha de caju, P*: Probabilidade de erro tipo I, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a (P<0,05), pelo teste de Tukey.

Os produtos da fermentação microbiana dos carboidratos no rúmen são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), sendo os três mais predominantes, acético, propiônico e butírico que são produzidos principalmente da fermentação de carboidratos provenientes das plantas como celulose, hemicelulose, pectina, amido e açúcares juntamente com os gases de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) (BERCHIELLI, 2006).

Para o ácido acético, houve efeito na relação V:C o que diferiu entre os tratamentos com maior proporção de volumoso, apresentando maior proporção de acetato e reduzindo de acordo com a inclusão de grãos na dieta. Entretanto, para a variável LCCC, não houve efeito da inclusão de nenhum nível do OE-caju sobre os tratamentos, bem como não houve efeito de nenhuma variável avaliada (V:C, LCCC, V:C x LCCC) na proporção de butirato.

Em dietas a base de forragem, a quantidade de ácido acético produzida pela fermentação está diretamente relacionada a digestibilidade, devido a lenta digestão da fibra, o pH se mantém bastante estável favorecendo maior ação de bactérias celulolíticas e metanogênicas (CHAPAVAL et al., 2008).

O aumento do concentrado para a variável V:C resultou em aumento da concentração do propionato. Esse efeito é certamente devido ao maior crescimento de bactérias amilolíticas e proteolíticas, que são produtoras de ácido propiônico, sugerindo que esses níveis de inclusão de concentrado proporcionam reduz a produção de metano (PEDREIRA et al., 2004; BENCHAAAR e GREATHEAD, 2011).

No ácido propiônico, houve efeito significativo (P<0,05) para a inclusão de LCCC no nível de 2% indicando aumento da atividade microbiana para a proporção de propionato, o nível de 1% indica influência moderada do LCCC sobre a concentração de bactérias produtoras de propionato.

A relação acetato:propionato encontrada neste experimento foi maior principalmente quando a dieta era predominantemente volumosa (100:00), favorecendo a maior proporção de acetato, no entanto, essa relação diminuiu quando se aumentou os níveis de concentrado na dieta.

As proporções dos AGCC produzidos pela fermentação formados no rúmen são diretamente proporcionais a digestibilidade dos alimentos, ou seja, são influenciados pelo teor de fibra da dieta. Em geral, quando se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose da dieta em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos, também se aumenta a proporção acetato:propionato, que é utilizada para predizer um valor nutritivo relativo quando comparados (CHAPAVAL et al., 2008).

Não foi verificado efeito da inclusão de nenhum dos níveis do LCCC nas dietas. De acordo com Calsamiglia et al. (2007), alguns óleos essenciais possuem capacidade semelhante aos ionóforos atuando seletivamente sobre as populações microbianas do rúmen, alterando a cinética de fermentação, reduzindo a relação acetato:propionato e a produção de metano (CH₄), tornando o rúmen mais eficiente energeticamente.

Shinkai et al. (2012) realizaram um estudo utilizando vacas secas alimentadas com a inclusão de líquido da casca da castanha de caju na dieta, os autores não observaram efeito sobre a digestibilidade, redução na produção de metano, nas concentrações de AGCC teve menor concentração molar de acetato e aumento do propionato, assim como encontrado em estudos *in vitro* por WATANABE et al. (2010).

Os resultados relatados no presente estudo demonstram a atividade inibitória do LCCC, corroborando com os resultados encontrados por Kubo et al. (2003) e Stasiuk e Kozubek (2010) em que o LCCC é capaz de causar efeito nas bactérias metanogênicas e reduzir a produção de metano devido aos compostos antimicrobianos do LCCC (como cardol e cardanol).

4. CONCLUSÃO

Maiores proporções de concentrado aumenta a degradabilidade da dieta, reduz proporção de acetato, favorece o aumento da proporção de propionato, conseqüentemente, reduz a relação acetato:propionato. Independente da relação volumoso:concentrado a inclusão do LCCC não altera a degradabilidade da MO. LCCC no nível de inclusão de 1% e 2% na dieta, reduz a produção de metano, indicando que nessa dosagem melhora o aproveitamento de energia e contribui para o bom funcionamento do ambiente ruminal.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, T.J.A.; ARAUJO, B.Q.; CITÓ, A.M.G.L.; Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v.126, p.1044–1048, 2011.

AOAC - **Association Official Analytical Chemists**; Methods of Analysis. Gaithersburg - MD - USA: - **AOAC**, p. 1015, 2016.

BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 209-228, 2008.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.; **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; PEREIRA, O.G.; VELOSO, R. G.; PEREIRA, E. S.; 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**, v. 31, n. 6, p. 2332-2339, 2002.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p. 2580-2595, 2007.

CHAGAS, L.J.; **Desempenho, metabolismo e emissão de metano de bovinos Nelore em terminação recebendo óleos funcionais em substituição ou combinação com monensina sódica na dieta**. Tese. Universidade de São Paulo, 2015.

CHAPAVAL, L.; MELOTTI, L.; ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVINDO, C. de S.; REGO, J.P.A.; Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 18-28, jan/mar, 2008.

DAMASCENO, M.L.; **Níveis de extrato etéreo e suplementação energética para bovinos de corte terminados a pasto**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2018.

EVERTON, O.G.; ARAÚJO, R.J.P.; SANTOS, A.B. da S.; ROSA, P.V.S.; JUNIOR, R.G. de O. C.; TELES, A.M.; GOMES, P.R.B.; FILHO, V.E.M., Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da *Pimenta dioica* L. (pimenta da Jamaica)

e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**. vol.49 no.3 Bogotá, 2020

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED STATES. **More than meat: Shaping the future of livestock**. BERLIM, 2018. Disponível em: <https://www.fao.org/news/story/en/item/1098231/icode/>

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. et al A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. **J. Theor. Biol.**, v.163, p.99-111, 1993.

GUIMARÃES JR, R.; GONÇALVES, L.C.; MAURICIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; TOMICH, T.R.; PIRES, D.A.A.; JAYME, D.G.; SOUSA, L.F.; Cinética de fermentação ruminal de silagens de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1174- 1180, 2008.

HALL, M.B.; Selection of an empirical detection method for determination of water-soluble carbohydrates in feedstuffs for application in ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 198, p. 28-37, 2014.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J.; Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347–358, 1996.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v.79, p.321-330 ,1999.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Aditivos In: **Nutrição de ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011.

OLIVEIRA, V. S.; NETO, J. A. S.; VALENÇA, R. L.; SILVA, B. C. D.; SANTOS, A. C. P. Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a microbiota ruminal. **Revista Veterinária Notícias.**, Uberlândia, v.22, n. 2, p.1-19, jul/dez. 2016

ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1624-1633, 1986.

PEDREIRA, M. dos S.; BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. de; PRIMAVESI, O.; LIMA, M.A.; FRIGHETTO, R.; Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. **41º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, julho/2004.

PERES, A.; PINTO, A.C.J.; **A produção do gás metano por bovinos pode influenciar significativamente no efeito estufa?** Zootecnia Unesp. 2014. Disponível em: <https://www.coimma.com.br/blog/post/producao-do-gas-metano-por-bovinos-pode-influenciar-significativamente-no-efeito-estufa>

REGAZZI, A. J.; SILVA, C. H. O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 22, n. 2, p. 33-45, 2004.

SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y.; Mitigation of

methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal Dairy Science**, 2012.

SILVA, R.S.; MARQUES, R.P. da S.; CARVALHA, M.V. de L.; Revisão: Tempo requerido para bactérias ruminais se adaptarem a alterações na dieta de bovinos confinados. **PUBVET**, v.16, n.09, a1201, p.1-16, set., 2022.

SIPPERT, M. R.; Avaliação de óleos essenciais de laranja e cravo em rações de ruminantes utilizando sistemas in vitro. 2019. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - **Universidade Estadual de Maringá**, 2019.

SUASSUNA, J.M.A.; Técnicas de produção de gás como preditoras do valor nutricional de dietas e extrato de *Poincianella pyramidalis* Tul. como modulador da fermentação ruminal. Tese. **Universidade Federal da Paraíba**. 2020.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P.; Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 1591-1602, 2003.

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**, v.48, n.3-4, p.185-197, 1994

VAN SOEST, P. J.; Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. **Journal A.O.A.C.**, v. 56, n. 4, p. 781–784, 1973.

VIEIRA, E.R. de Q.; GOES, R.H. de T. e B. de; DIAZ, T.G.; OSMARI, M.P.; SENO, L. de O.; ÍTAVO, L.C.V.; GANDRA, J.R.; ANSCHAU, D.G.; OLIVEIRA, R.T. de; SILVA, N.G. da; JACAÚNA, A.G.; Chitosan combined with technical cashew nut shell liquid improves in vitro ruminal parameters and gas production kinetics. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, 51:e20200186, 2022.

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, S.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; FOSTER, R. J.; KOBAYASHI, Y., Avaliação in vitro do líquido da casca da castanha de caju como agente inibidor de metano e intensificador de propionato para ruminantes. **Journal Dairy Science**, vol. 93, edição 11, P5258-5267, 2010.

CAPÍTULO III: ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* EM DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da adição do óleo de mamona em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a fermentação ruminal *in vitro* através da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Campus de Araguaína - TO. O inóculo ruminal foi obtido de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal). Os tratamentos consistiram em um esquema fatorial com quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e adição de três níveis de óleo de mamona (0%, 1% e 2%). Foi avaliada a produção de gases, a degradação ruminal da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são produtos da fermentação ruminal. As curvas geradas na produção de gases foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando um delineamento de blocos casualizados (DBC) com arranjo fatorial 4×3 , sendo os fatores as quatro dietas e os três níveis de adição do óleo, perfazendo doze tratamentos e com três blocos (animais doadores). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. Analisando-se a cinética de fermentação ruminal, observou-se que a produção total de gases (A), taxa de degradação fracional (μ) e a degradabilidade efetiva (DE), foram maiores para as dietas formuladas com maior proporção de concentrado resultando em maior produção de gases, em menor tempo de colonização (T), em comparação com as dietas formuladas com maiores proporção de volumoso. No teste de paralelismo das curvas de produção de gases não houve diferença. No entanto, quando analisados pelo teste de identidade observou-se que houve efeito do aditivo quando incluiu os níveis de 1% e 2% de óleo de mamona. Não foi verificado efeito de interação entre dieta e níveis de óleo de mamona para nenhuma das variáveis avaliadas neste trabalho. Foi verificado efeito significativo da relação volumoso:concentrado para as variáveis DMS, DMO, metano e AGCC. A inclusão do óleo de mamona resultou em efeito significativo apenas para as variáveis DMS e metano e efeito não significativo para DMO e AGCC. Os dados demonstraram que maiores proporções de concentrado na dieta melhora a degradabilidade do alimento, contribuindo para redução da proporção de acetato, aumento da proporção de propionato e menor relação acetato:propionato, por outro lado, a inclusão de 2% do óleo de mamona apesar de reduzir a degradabilidade, a inclusão de 2% do óleo de mamona reduz a produção de metano. Assim, mesmo o óleo de mamona não apresentando efeito sobre a produção de AGCC, pode ser uma alternativa como aditivo natural apresentando uma boa proposta para menor perda de energia na forma de metano, demonstrando maior eficiência no aproveitamento do alimento.

Palavras-chave: Degradabilidade; Fermentação ruminal; Metano; Produção de gases.

CHAPTER III: CASTOR OIL (*Ricinus communis* L.) IN THE *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION IN DIETS WITH DIFFERENT RELATIONS VOLUMINOUS:CONCENTRATED

ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of adding castor oil to diets with different volume:concentrate ratios on *in vitro* rumen fermentation using the semi-automatic *in vitro* gas production technique. The experiment was carried out at the Federal University of Northern Tocantins (UFNT), Araguaína Campus - TO. The rumen inoculum was obtained from three cattle (250 ± 25 kg body weight). The treatments consisted of a factorial scheme with four diets with different volume:concentrate ratios (100:0, 67:33, 33:67 and 0:100) and the addition of three levels of castor oil (0%, 1% and 2%). Gas production, ruminal degradation of dry matter and organic matter, methane production and the proportion of short-chain fatty acids (SCFA), which are products of ruminal fermentation, were evaluated. The gas production curves were compared using the parallelism and identity tests. The data was submitted to analysis of variance using a randomized block design (RBL) with a 4×3 factorial arrangement, with the factors being the four diets and the three levels of oil addition, making up twelve treatments and three blocks (donor animals). The means of the treatments were compared using the Tukey test at a 5% probability of type I error. Analyzing the kinetics of rumen fermentation, it was observed that total gas production (A), fractional degradation rate (μ) and effective degradability (ED) were higher for diets formulated with a higher proportion of concentrate, resulting in greater gas production in a shorter settling time (T), compared to diets formulated with a higher proportion of roughage. There was no difference in the parallelism test of the gas production curves. However, when analyzed using the identity test, there was an effect of the additive when the 1% and 2% levels of castor oil were included. There was no interaction effect between diet and castor oil levels for any of the variables evaluated in this study. There was a significant effect of the volume:concentrate ratio for the variables DMD, BMD, methane and AGCC. The inclusion of castor oil resulted in a significant effect only for the DMS and methane variables and a non-significant effect for DMO and AGCC. The data showed that higher proportions of concentrate in the diet improved feed degradability, contributing to a reduction in the proportion of acetate, an increase in the proportion of propionate and a lower acetate:propionate ratio. On the other hand, despite reducing degradability, the inclusion of 2% castor oil reduced methane production. Thus, even though castor oil has no effect on the production of AGCC, it could be an alternative as a natural additive, presenting a good proposal for less energy loss in the form of methane, demonstrating greater efficiency in feed utilization.

Key-words: Degradability; Ruminal Fermentation; Methane; Gas Production.

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de oleaginosas tem se tornado ao longo dos anos uma atividade econômica importante. O Brasil se destaca como a maior área potencialmente agricultável do mundo, e dentre as diversidades de produtos possui quase duzentas espécies de plantas oleaginosas e palmáceas prontas para produção de óleo, seja para alimentação animal ou biodiesel, com destaque para a soja, amendoim, girassol, mamona, dendê entre outras (BASTOS et al., 2021).

Os extratos de plantas ou óleos funcionais são considerados produtos naturais com características que os apontam como potenciais moduladores da fermentação ruminal, dessa forma, aumentou a procura e pesquisas por esses compostos como alternativa atraente para melhorar os índices produtivos e atender as necessidades de mercado nacional e internacional por produtos naturais (MICHAILOFF, 2017).

O correto balanço de nutrientes nas rações animal é importante e necessário para que o crescimento microbiano não seja limitado, evitando que a produtividade dos ruminantes seja comprometida (DÍAZ, 2013).

No Brasil, os aditivos ionóforos são muito utilizados nas dietas de ruminantes predominantemente em confinamentos, sua ação consiste em inibir o crescimento de bactérias ruminais Gram-positivas e selecionando as Gram-negativas que favorece o aumento da proporção de propionato e reduzem as concentrações de ácido acético, hidrogênio e CH₄ (SHINKAI et al., 2012).

Dente os óleos funcionais, o ácido ricinoléico, obtido a partir do processamento da mamona, surge como uma possível alternativa de aditivo na dieta de ruminantes, devido ao seu potencial antimicrobiano, favorecendo os processos fermentativos e, conseqüentemente, o crescimento, consumo de ração e a eficiência energética dos animais (GANDRA et al., 2012; BERTONI et al., 2015).

Diante disso, objetivou-se estudar a utilização do óleo de mamona na fermentação ruminal *in vitro* de dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a degradabilidade da matéria seca, matéria orgânica, produção de metano e proporção de ácidos graxos de cadeia curta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local Experimental

O ensaio *in vitro* foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) no Laboratório de Nutrição de Ruminantes no setor de Ensaio de Fermentação Ruminal e Produção de Gases, Campus de Araguaína/TO, localizado nas coordenadas 6°34'52'', de latitude sul, e 48°38'40'' de longitude oeste e 152,0 m de altitude na Amazônia Oriental Brasileira. Os procedimentos realizados envolvendo o uso de animais foram aprovados pela Comissão Ética no Uso de Animais da CEUA/UFNT, de acordo com o protocolo de nº23.101.272/01-55.

2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos

As dietas utilizadas neste experimento foram formuladas com uso de feno de *Megathyrus maximus* cv. Mombaça triturado em moinho de facas com peneira de crivo de 1 mm e concentrado a base de milho e farelo de soja (Tabela 1).

O ensaio foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados (DBC) que consistiram em um esquema fatorial 4x3 de quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e inclusão de três níveis do óleo de mamona (0, 1 e 2% da MS) e os blocos de inóculo ruminal de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal), totalizando doze tratamentos.

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas

Ingredientes	Composição (% da MS Total)			
	Dieta volumosa (100:00)	Dieta (67:33)	Dieta (33:67)	Dieta concentrada (00:100)
Feno Mombaça	97,00	67,00	33,00	0,00
Milho grão moído	0,00	17,00	41,00	54,92
Farelo de Soja	0,00	10,96	20,96	34,35
Fosfato	0,00	0,58	0,58	1,15
Sal Mineral	3,00	3,00	3,00	6,42
Calcário dolomítico	0,00	1,46	1,46	3,12
Composição química (% de MO)				
MS (g kg ⁻¹ MN)	89,44	88,81	88,08	89,72
PB	11,19	15,19	17,68	25,43
EE	1,05	1,16	1,62	1,02
FDN	60,77	46,29	28,19	17,17
FDA	29,20	23,68	9,41	2,12
NIDN	1,29	1,83	2,01	1,42
NIDA	0,67	0,73	1,01	1,33

MS – Matéria seca; MN – matéria mineral; PB – proteína bruta; EE – extrato etéreo; FDN – fibra em detergente neutro; FDA – fibra em detergente ácido; NIDN – nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA – nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

2.3 Bioensaio *in vitro* da produção de gases

Três bovinos adultos mestiços (250 ± 25 kg de peso corporal) provenientes dos setores de gado de corte e de leite da instituição, foram utilizados como doadores de conteúdo ruminal. Os animais foram mantidos em pastagem de capim Mombaça com livre acesso à água e uma ração a base de milho e farelo de soja para adaptação dos animais por um período de 8 dias. As coletas das amostras de líquido ruminal foram realizadas manualmente mediante a introdução de uma sonda esofágica, adaptada a uma bomba de vácuo. A fim de diminuir a contaminação pela saliva nas amostras, os primeiros 200 ml de líquido ruminal foram descartados, sendo aproveitados os volumes subsequentes. Após a obtenção das amostras, estas foram imediatamente transferidas e acondicionadas em garrafas térmicas individuais, previamente aquecidas com água à temperatura de 39 °C, sendo fechadas após o envase, com o objetivo de manter a temperatura durante o transporte até o laboratório de gases.

No preparo dos inóculos, o material foi filtrado em duas camadas de tecido de algodão e distribuídos em Becker identificados em inóculo 1, inóculo 2 e inóculo 3, acondicionados em banho maria (Banho Maria SL - 150) e mantidos a 39 °C até o término da sua utilização.

A inoculação foi realizada através da injeção do inóculo em cada frasco de incubação usando seringa plástica graduada. Foram utilizados 117 frascos de vidro, previamente lavados

com água destilada, secos em estufa e identificados. Aos frascos com capacidade para 160 ml, foram adicionados aproximadamente 1,0 g de amostra sob aspersão de CO₂, com três réplicas de cada tratamento, 10 ml de inóculo, 90 ml de meio de cultura e o devido nível de óleo, sendo o volume proporcional ao total de conteúdo no interior dos frascos.

Para os ajustes de variação, foram incubados frascos considerados brancos, contendo as soluções de incubação sem substrato. Os frascos foram vedados com tampa de silicone e incubados em estufa a 39 °C, sob controle rigoroso de temperatura, permitindo desta forma a produção de gases dentro de cada frasco. Este foi considerado o tempo zero e dado início a contagem dos tempos de fermentação. A técnica *in vitro* de produção de gases utilizada foi semiautomática descrita em Maurício et al. (1999), as medidas de pressão e volume de gases foram tomadas utilizando-se um transdutor de pressão modelo DPI800-P.

A pressão dos gases no *head space* foi medida após: 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação. Após 96h, os frascos foram colocados em bandejas com água e gelo de modo a cessar a atividade microbiana. Amostras do líquido ruminal contido em cada frasco identificado, também foram coletadas para a determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Ao final, foram determinadas a degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO).

Após tal procedimento, os dados foram ajustados ao modelo de France et al. (1993) como expresso na equação:

$$Y = A \times \{1 - \exp[-b \times (t - T) - c \times (\sqrt{t} - \sqrt{T})]\}$$

Foram obtidos os seguintes parâmetros referentes à cinética de produção de gases: produção de gases acumulada “Y” (ml), tempo de incubação “t” (horas), total de gases produzidos “A” (ml), tempo de colonização “T” (horas) e taxa de degradação fracional “μ” (h⁻¹). As equações geradas foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade de curvas de acordo com Regazzi e Silva (2004) (p<0,05), ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Foram estimadas também as degradabilidades efetivas, como expresso abaixo segundo a equação sugerida por France et al. (1993):

$$DE = S_0 \exp^{-kt} \times (1 - kI) / (S_0 + U_0)$$

Em que: DE = degradabilidade efetiva,

k = taxa de passagem, sendo calculada para k = 0,02, 0,04, 0,06 e 0,08,

S_0 e U_0 = frações inicialmente fermentáveis e frações não fermentáveis, respectivamente, sendo:

$$I = \int_0^{\infty} \exp^{-[(b+k)(t-T) + c(\sqrt{t} - \sqrt{T})]} dt.$$

2.4 Determinação da produção de metano

Paralelamente às mensurações de pressão, uma alíquota dos gases produzidos (5 ml) em cada frasco foi coletada com o auxílio de seringas descartáveis para posterior quantificação e determinada a produção do gás de maior interesse ambiental: CH_4 . Tal mensuração foi feita pelo analisador de gases portátil TEC-GA21BIO®.

2.5 Análises Bromatológicas

As amostras coletadas durante o experimento foram submetidas as seguintes análises bromatológicas: matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), extrato etéreo (EE; método 920.29), proteína bruta (PB; método 981.10), segundo Official (2016), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) (VAN SOEST et al., 1991). Além disso, foi determinado o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) segundo Licitra et al. (1996).

2.6 Determinação de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

As análises de AGCC foram realizadas no laboratório de nutrição animal do CCA/UFNT. Para determinação do AGCC, uma alíquota de 20 ml do líquido ruminal dos frascos identificados foi filtrada em cadinhos filtrantes com placa porosa (porosidade 1) e em seguida, adicionado 1mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 6N. As amostras foram acondicionadas em tubo plástico com 50 ml de capacidade, fechado, identificado e armazenado em freezer a -20 °C imediatamente após a coleta. Para a realização da análise de AGCC, as amostras foram descongeladas e centrifugadas (Centrifuga Refrigerada SL 701, Solap, Brasil, 3000RPM e 4 °C) durante 10 minutos para separação do sobrenadante. Com o auxílio de uma pipeta automática, foi retirado 1,5 ml de cada tubo e depositado em *vials* para cromatógrafo (frasco de vidro, pequeno e transparente) e identificados. As amostras foram analisadas utilizando cromatógrafo gasoso Shimadzu (modelo GC-2010 Plus, Japão) com coluna Rtx-5 (Restek, EUA) de 30 m e 0,25 mm, e temperaturas no vaporizador, detector e

coluna (inicial) de 200, 220 e 80 °C, respectivamente. Foi usada rampagem na coluna de 80 °C por 1 minuto, e aumento de 10 °C/min até 100 °C, mantendo estável a 100 °C por 2 minutos. Uma mistura de ácidos orgânicos: acetato, propionato e butirato, foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO)

A DMS foi obtida após 96 horas de incubação, pela filtração dos resíduos da fermentação em cadinhos com placa porosa (porosidade 1) previamente lavados com água destilada, pesados e posteriormente secos em estufa (105 °C) por 16 horas. Após esse período os cadinhos foram esfriados em dessecador por 30 minutos e pesados para determinação do resíduo. Para a determinação da DMO, os resíduos nos cadinhos foram submetidos a queima em mufla (400 °C) por 4 horas, esfriados em dessecador por 30 minutos e pesados novamente para determinação das cinzas pela diferença dos resíduos.

2.8 Análises estatísticas

Os procedimentos estatísticos foram executados com auxílio do programa *Statistical Analysis System*® (SAS 9.3). Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias dos fatores foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_{1j} + F_{2j} + F_1 \times F_{2j} + e_{ijk}$$

Em que:

μ = média geral,

B_i = efeito do Bloco i , $i = 1, 2, 3$

F_{1j} = efeito das dietas j , $j = 1, 2, 3, 4$,

F_{2j} = efeito dos níveis de óleo j , $j = 1, 2, 3$,

$F_1 \times F_{2j}$ = efeito da interação (Dieta \times Níveis de mistura do óleo),

e_{ijk} = erro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Cinética da fermentação ruminal *in vitro*

Após 96h de incubação *in vitro*, foi observado que houve pouco impacto com a inclusão do óleo de mamona na relação volumoso:concentrado para a produção total de gases (A), taxa de degradação (μ) e degradabilidade do alimento (DE) em um tempo (T) de colonização semelhante entre os tratamentos, apontando que o óleo de mamona não causou nenhum impedimento na degradação da partícula (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito da inclusão do óleo de mamona sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro* em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva

Tratamentos	Parâmetros de France						
	A*	T* (h:Min.)	μ^*	DE** (2%)	DE (4%)	DE (6%)	DE (8%)
O-MAMONA0R100_0	200,500	00:01	0,05021	76,1084	74,6102	73,1137	71,6189
O-MAMONA1R100_0	192,400	00:02	0,05107	75,0565	73,5716	72,0887	70,6079
O-MAMONA2R100_0	198,800	00:02	0,05044	73,8515	72,3916	70,9336	69,4775
O-MAMONA0R67_33	198,800	00:02	0,04603	78,5757	77,0012	75,4293	73,8600
O-MAMONA1R67_33	189,800	00:02	0,04775	76,9007	75,3702	73,8419	72,3158
O-MAMONA2R67_33	203,900	00:02	0,04767	75,8938	74,3887	72,8855	71,3844
O-MAMONA0R33_67	213,600	00:01	0,05077	86,2381	84,5440	82,8517	81,1613
O-MAMONA1R33_67	219,500	00:01	0,05056	85,4413	83,7586	82,0779	80,3992
O-MAMONA2R33_67	219,900	00:02	0,05137	84,5950	82,9244	81,2560	79,5899
O-MAMONA0R0_100	219,500	00:01	0,05238	90,9874	89,1953	87,4055	85,6180
O-MAMONA1R0_100	221,400	00:01	0,05361	89,9023	88,1463	86,3922	84,6398
O-MAMONA2R0_100	229,200	00:01	0,05480	89,0213	87,2981	85,5761	83,8553

A: Total de gases (ml), T: Tempo de colonização (horas) e μ : Taxa de degradação fracional (h^{-1}) *Parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993). **Degradabilidade Efetiva.

A inclusão de 1% e 2% do óleo de mamona aumentou a produção de gases a partir das dietas com 67% de concentrado, isso se deu pelo fato da disponibilidade de carboidratos não estruturais (CNFs) na dieta, ocorrendo uma maior fermentação. Já a inclusão de volumoso, reduz a fermentação total do alimento, pela característica da fibra de reduzir o contato dos microrganismos as frações mais solúveis, quando comparado a CNFs, fazendo com que tenha uma fermentação mais lenta da fibra.

Os carboidratos como o amido dos grãos e os açúcares solúveis das forragens são importantes por serem fontes de energia de rápida disponibilidade. Em função disso, de modo a não atrapalhar a degradação da fibra e melhorar a o desempenho animal, aumenta-se a inclusão dessas fontes de carboidratos na dieta elevando o nível de energia (MEDEIROS et al., 2015).

Quando o alimento chega no ambiente ruminal, há um tempo em que os microrganismos aderem e penetram esse alimento. O tempo de colonização do substrato pelas bactérias ruminais representa o início da incubação até a ação microbiana sobre a dieta, desta forma, entende-se que quanto maior os níveis de inclusão de grãos na dieta, mais rápida será a degradação do alimento e a produção de gases. O contrário também se aplica, quanto maior o tempo em que os microrganismos penetram o alimento, mais lenta será a taxa de degradação (ØRSKOV & MCDONALD, 1979; SILVA et al., 2022; LUZ et al., 2014).

A inclusão do óleo de mamona nos níveis de 1% e 2%, aumentou a taxa de degradação fracional (μ) resultando em maior eficiência de síntese microbiana e menores perdas por gases (VELHO et al., 2014).

Observou-se efeito na degradabilidade efetiva (DE) com a inclusão do óleo de mamona nos níveis de 1% e 2% provavelmente pode ter afetado as espécies bacterianas ruminais que degradam o alimento e suas características, devido as propriedades antimicrobianas do ácido ricinoléico em selecionar microrganismos.

De acordo com Guimarães et al. (2008), a degradabilidade efetiva calculada com base nos parâmetros obtidos pelo modelo de France et al. (1993), a degradabilidade com taxa de passagem de 2%/h simulam animais em nível de manutenção, 6%/h simulam taxas de passagem de animais em nível médio de produção e 8%/h são taxas de passagem de animais com alto nível de produção.

3.2 Equações da produção acumulativa de gases

As curvas de produção cumulativa de gases dos tratamentos e suas respectivas equações estão representadas nas Figura 9 e na Tabela 3.

Os tratamentos não diferiram pelo teste de paralelismo ($p < 0,05$). Porém, quando analisados pelo teste de identidade ($p > 0,05$), a inclusão de 2% do óleo de mamona na dieta com 100% de concentrado houve o maior efeito do aditivo apresentando maior valor de “A”. Os demais tratamentos, com a inclusão de 1% e 2%, do óleo de mamona, apresentou efeito do aditivo, provavelmente por conta da ação antimicrobiana do óleo sobre as bactérias, reduzindo suas atividades.

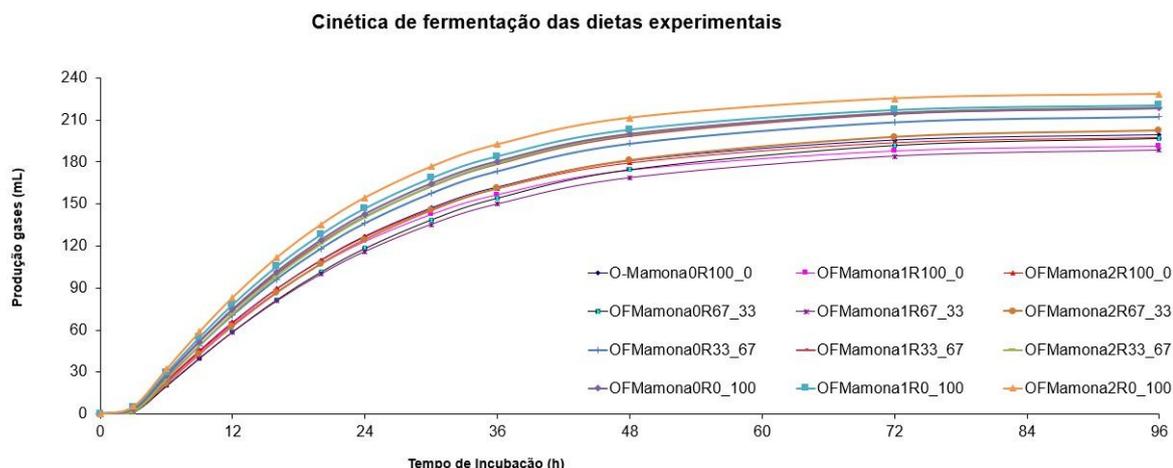


Figura 9 - Curva da produção acumulada de gases em função dos tempos de incubação com a inclusão de 0%, 1% e 2% do óleo de mamona nas dietas R100_0 (Dieta 100% volumoso e 0% concentrado), R67_33 (Dieta 67% volumoso e 33% concentrado), R33_67 (Dieta 33% volumoso e 67% concentrado) e R0_100 (Dieta 0% volumoso e 100% concentrado).

Tabela 3 - Equações da produção de gases acumulada (PGA), em ml g⁻¹ de MS de dietas com diferentes relações de volumoso:concentrado e inclusão de óleo funcional de mamona

Tratamentos	Equações (Modelo de France)	R ² (%)
O-MAMONA0R100_0	$Y = 200,5000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0643) \times (t - 0,0292) - (-0,1138) \times (\sqrt{t} - 0,0292)]}\}$	a E 99,27
O-MAMONA1R100_0	$Y = 192,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0654) \times (t - 0,0353) - (-0,1152) \times (\sqrt{t} - 0,0353)]}\}$	a G 99,16
O-MAMONA2R100_0	$Y = 198,8000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0644) \times (t - 0,0335) - (-0,1124) \times (\sqrt{t} - 0,0335)]}\}$	a E 99,38
O-MAMONA0R67_33	$Y = 198,8000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0592) \times (t - 0,0421) - (-0,1091) \times (\sqrt{t} - 0,0421)]}\}$	a F 98,50
O-MAMONA1R67_33	$Y = 189,8000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0614) \times (t - 0,0374) - (-0,1121) \times (\sqrt{t} - 0,0374)]}\}$	a H 98,71
O-MAMONA2R67_33	$Y = 203,9000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0613) \times (t - 0,0337) - (-0,1119) \times (\sqrt{t} - 0,0337)]}\}$	a E 98,63
O-MAMONA0R33_67	$Y = 213,6000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0650) \times (t - 0,0278) - (-0,1146) \times (\sqrt{t} - 0,0278)]}\}$	a D 96,97
O-MAMONA1R33_67	$Y = 219,5000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0640) \times (t - 0,0293) - (-0,1074) \times (\sqrt{t} - 0,0293)]}\}$	a C 99,15
O-MAMONA2R33_67	$Y = 219,9000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0666) \times (t - 0,0347) - (-0,1235) \times (\sqrt{t} - 0,0347)]}\}$	a C 98,57
O-MAMONA0R0_100	$Y = 219,5000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0670) \times (t - 0,0220) - (-0,1166) \times (\sqrt{t} - 0,0220)]}\}$	a C 97,63
O-MAMONA1R0_100	$Y = 221,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0683) \times (t - 0,0253) - (-0,1160) \times (\sqrt{t} - 0,0253)]}\}$	a B 98,75
O-MAMONA2R0_100	$Y = 229,2000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0694) \times (t - 0,0175) - (-0,1140) \times (\sqrt{t} - 0,0175)]}\}$	a A 96,32

Equações acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna são paralelas pelo teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade (Freeze, 1970). Equações acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna são idênticas pelo teste de identidade de curvas a 5% de probabilidade (Regazi e Silva, 2004).

As dietas com mais concentrado disponibilizam carboidratos não estruturais que são de rápida fermentação em conjunto com a ação antibacteriana do óleo de mamona atuando sobre as bactérias Gram-positivas impedindo o crescimento e produção. Segundo Sousa et al. (2014) ao testarem níveis de fermentação com diferentes produtos do babaçu notaram que a produção de

gases foi menor quando utilizado alimentos mais fibrosos.

Estudos revelam que o concentrado, por ser fonte de carboidratos solúveis e rapidamente fermentáveis, como o amido, consegue suprir as bactérias presentes no rúmen, principalmente as que degradam fibra para se manterem ativas e melhorar a taxa de passagem e consumo (SIPPERT, 2019).

Avaliando a fonte de lipídio que foi testada, se fornecida para animais, pode ser que melhore a condição corporal do animal, pelo fato dos lipídios ter muita energia quando comparados somente a carboidratos, como apresentado para as dietas que continham 0% de inclusão de óleo.

Entretanto, apesar de alguns trabalhos apresentarem resultados interessantes para a inclusão de óleos funcionais na dieta de bovinos, algumas ressalvas precisam ser consideradas. A avaliação completa destes compostos após estudos mais criteriosos *in vitro* e *in vivo* para desempenho, além de verificar a presença de possíveis resíduos e cheiros em produtos de origem animal, é importante para atestar a eficácia e segurança destes compostos (SIPPERT, 2019).

3.3 Degradabilidade da Matéria Seca (DMS) e Matéria Orgânica (DMO)

Para degradabilidade da matéria seca (DMS), não houve interação na relação V:C e O-mamona, porém os efeitos individuais foram significativos ($P < 0,05$). Em relação a Degradabilidade da Matéria Orgânica (DMO), não houve interação entre a relação V:C x O-mamona e não apresentaram diferenças significativas com a adição de O-mamona na dieta nos níveis de inclusão 0%, 1% e 2% indicando que não houve nenhum efeito. Porém, efeito significativo somente na relação V:C (Tabela 4).

Tabela 4 - Degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO) em função da relação volumoso:concentrado e inclusão do óleo de mamona

DMS (%)									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	P*		
	100_00	67_33	33_67	00_100			O MA M	V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	77,61	80,15	87,93	92,78	84,62 A				
1%daMS	76,54	78,43	87,13	91,66	83,44 AB	<0,001	0,004	0,996	^{1, /}
2%daMS	75,31	77,40	86,27	90,75	82,43 B				1
Médias	76,49 d	78,66 c	87,11 b	91,73 a	83,50				
DMO (%)									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	P*		
	100_00	67_33	33_67	00_100			O MAM	V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	77,96	81,18	89,19	97,14	86,37 A				
1%daMS	76,32	79,43	88,45	96,56	85,19 A	<0,001	0,06	0,507	2,29
2%daMS	75,09	78,14	90,24	94,58	84,51 A				
Médias	76,46 d	79,59 c	89,29 b	96,09 a	85,36				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta, DMS – Degradabilidade da matéria seca, DMO – Degradabilidade da matéria orgânica, O-Mamona – óleo de mamona, P* Probabilidade de erro tipo I, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

O óleo de mamona parece ter pouca ou nenhuma influência sobre a degradabilidade da matéria seca, indicando que nos níveis de inclusão de 0% e 1% observou-se melhor efeito na degradabilidade, porém na inclusão de 2% de OF-mamona, houve uma redução na DMS. Nesse sentido, considerando a relação volumoso:concentrado, houve efeito significativo na degradabilidade à medida que foi acrescentando o concentrado na dieta e reduzindo teor de fibra.

Ao comparar a inclusão de 0% e 2% tiveram efeitos diferentes. Isso pode ser explicado pela composição da dieta, pois o óleo funcional de mamona possui ação bactericida e citolítica, agindo sobre as bactérias Gram-positivas (OSMARI e BRANCO, 2012).

Esse resultado demonstra que a produção de gases está associada a degradação. A inclusão do óleo de mamona, proporciona pouca redução da DMS, contudo, a inclusão do óleo e o aumento do concentrado fornecem maior quantidade de energia disponível para o adequado crescimento das bactérias ruminais, gerando aumento da fermentação. (NUSSIO, 2011).

Segundo Cobellis et al. (2016), utilizando sete óleos essenciais em seus trabalhos mostraram significativa redução na degradabilidade do alimento, o que seria uma desvantagem no uso desse aditivo.

As principais espécies de bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais, as bactérias se associam às fibras dos alimentos e degradam celulose e hemicelulose, estas produzem como produto da fermentação, acetato, butirato, formato, CO₂ e CH₄. Já as bactérias amilolíticas digerem o amido, fornecem mais energia e formam o propionato, o qual é precursor gliconeogênico nos ruminantes (JESUS, 2014).

Segundo Gandra et al. (2014), ao avaliar o CMS de vacas leiteiras Simental suplementadas com 2 g/dia de ácido ricinoleico (AR) na dieta, observou que a redução do CMS dessas vacas pode estar relacionada à capacidade antimicrobiana do aditivo e à possível seleção de bactérias produtoras de propionato no rúmen, que é absorvido pelo fígado, onde é o principal combustível usado para produzir glicose.

De acordo com Oliveira, (2009), o acréscimo na eficiência de síntese de proteína de origem microbiana, em relação à MO degradada no rúmen, com a inclusão de concentrado na dieta, foi provavelmente, decorrente da maximização do processo digestivo frente à maior quantidade de substrato rapidamente fermentável no rúmen, otimizando o crescimento dos microrganismos positivos.

As diferenças nas características de degradação dos alimentos refletem na dinâmica e no equilíbrio dos nutrientes disponíveis para os microrganismos do rúmen, de modo que, o tamanho de partícula do alimento fornecido, tempo de degradabilidade no rúmen, proporção volumoso:concentrado, tempo de reciclagem dos compostos nitrogenados, quantidade de alimento ingerido, processamento físico ou químico e fonte proteica utilizada na dieta são fatores que podem influenciar a degradação no rúmen, refletindo na dinâmica e no equilíbrio dos nutrientes disponíveis para os microrganismos ruminais (MARTINS, 1999).

O mecanismo de ação do ácido ricinoleico na alimentação animal é pouco conhecido, mas segundo alguns autores, sabe-se que possui efeito antioxidante, laxativo, anti-inflamatório, aumentando a motilidade e permeabilidade intestinais, apresenta ação antimicrobiana, anticoccidiano e antifúngico, devido a característica de ionóforo divalente e pela presença do grupo hidroxila favorecendo assim os processos fermentativos e, conseqüentemente, a eficiência energética dos animais (MEDEIROS et al., 2014; GANDRA et al., 2014; BERTONI, 2015).

3.4 Produção de metano *in vitro* (CH₄)

Para a produção de metano, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) para todas as variáveis avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5 - Produção de metano *in vitro* (CH₄) com diferentes proporções de volumoso:concentrado e inclusão de óleo de mamona

O-MAMONA	Metano (g CH ₄ /Kg MOD)					V:C	O MAM	P*	
	V:C		Médias					V:C	CV
	100_00	67_33	33_67	00_100				x O MAM	(%)
0%daMS	58,21	46,62	40,11	27,83	43,19 A				
1%daMS	56,14	45,66	38,48	26,68	41,75 AB	<0,001	<0,001	0,002	2,11
2%daMS	55,18	47,61	36,34	25,02	41,04 B				
Médias	56,52 a	46,63 b	38,31 c	26,51 d	41,99				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta, MOD - Matéria orgânica degradada *in vitro*, P*Probabilidade de erro tipo I, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a ($P < 0,05$), pelo teste Tukey.

Entre as dietas, a produção de metano diminuiu com o aumento da relação de concentrado, apresentando médias de 56,52% na dieta 100% volumoso e 26,51% na dieta 100% concentrado. Houve efeito da inclusão de 1% e 2% do óleo de mamona, indicando que o óleo de mamona proporcionou redução da produção de metano na matéria orgânica degradada, mesmo apresentando influência moderada sobre a degradabilidade. Isso indica que o modo de ação do óleo para reduzir metano (CH₄) pode ser influenciado com as diferentes proporções de volumoso:concentrado, o tipo de óleo e o nível de inclusão na dieta como citado por Tedeschi et al. (2003).

Em estudos *in vitro* realizado por Morales et al. (2012) verificaram que o líquido ruminal incubado com óleo de mamona, foi capaz de reduzir a metanogênese e modular a bio-hidrogenação por inibição do crescimento das bactérias *Butyrivibrio proteoclasticus*. Assim, levanta-se a hipótese de que o óleo de mamona é capaz de permitir o desempenho produtivo semelhante a outros óleos vegetais comuns.

Alimentos volumosos ficam mais tempo dentro do rúmen, sendo assim, há uma maior produção de metano, o que é indesejável do ponto de vista nutricional, pois diminui a energia metabólica que poderia ser utilizada pelo animal e do ponto de vista ambiental, o metano é eliminado para o meio ambiente (PERES e PINTO, 2014).

Em uma dieta rica em grãos deslocam a população microbiana do rúmen para mais digestores de amido, havendo um excesso de produção de AGCC que produzem uma proporção maior de propionato:acetato e menos CH₄, deixando oportunidades para o óleo funcional melhorar a eficiência da fermentação (WATANABE et al., 2010).

Já em uma dieta a base de volumoso, a emissão de metano (g/kg de matéria seca ingerida) é influenciada pelo tipo e qualidade de volumoso que o animal está ingerindo. Animais consumindo gramíneas, emitem mais metano em relação àqueles consumindo leguminosas, que geralmente emitem menos CH₄ (BENCHAAR et al., 2008).

O óleo de mamona tem em sua maior composição não só ácido ricinoleico, mas também ácido oleico e ácido linolênico. Segundo Tisserand (1996), os efeitos dos óleos funcionais tendem a ser influenciados por seus componentes de maior concentração, embora os demais componentes e suas concentrações também possam modificar a ação uns dos outros.

3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta

Os valores referentes à concentração de AGCC, produtos da fermentação de carboidratos do alimento, com a inclusão de níveis de óleo de mamona, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Proporção de ácidos graxos de cadeia curta no líquido ruminal de bovinos em diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão de óleo de mamona

Acetato									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	O MAM	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	65,86	62,86	58,32	55,14	60,55 A				
1%daMS	65,13	62,72	57,05	53,79	59,67 A	<0,001	0,387	0,993	22,71
2%daMS	65,14	62,14	57,60	54,42	59,83 A				
Médias	65,38 a	62,57 b	57,66 c	54,45 d	60,02				
Propionato									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	OF	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	26,16	26,37	29,67	28,84	27,76 A				
1%daMS	26,69	26,90	30,20	28,37	28,04 A	0,050	0,950	0,999	10,73
2%daMS	26,54	27,08	30,38	28,55	28,14 A				
Médias	26,47 d	26,78 c	30,09 a	28,59 b	27,98				
Butirato									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	OF	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	9,57	10,99	11,45	12,59	11,06 A				
1%daMS	9,61	10,32	11,58	12,72	11,15 A	<0,001	0,781	0,653	16,69
2%daMS	9,78	10,22	11,85	11,89	10,94 A				
Médias	9,65 d	10,51 c	11,63 b	12,40 a	11,05				
Acetato:Propionato									
O-MAMONA	V:C				Médias	V:C	OF	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C x O MAM	CV (%)
0%daMS	2,52	2,42	1,97	1,94	2,21 A				
1%daMS	2,44	2,37	1,90	1,92	2,16 A	<0,001	0,852	0,999	11,77
2%daMS	2,46	2,32	1,90	1,97	2,16 A				
Médias	2,47 a	2,37 a	1,92 c	1,94 bc	2,17				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta, OF – óleo funcional, P*: Probabilidade de erro tipo I, CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a (P<0,05), pelo teste de Tukey.

Foi verificado efeito significativo na relação V:C para todos os AGCC avaliados. Porém, não houve interação significativa na relação V:C x O-mamona bem como não houve efeito significativo do O-mamona para nenhum dos AGCC avaliados.

A variação das proporções de acetato, propionato, butirato e a relação acetato:propionato parece estar mais relacionada a relação de V:C da dieta do que no nível de inclusão do óleo de mamona e da interação V:C x O-mamona, provavelmente porque a dosagem utilizada não foi suficiente para atuar nas concentrações de AGCC aos quais não tiveram efeitos significativos

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), são produtos da fermentação microbial no trato digestório de ruminantes e a principal fonte de energia, sendo o acético, propiônico e butírico, são os três mais importantes ácidos formados juntamente com os gases de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) (BERCHIELLI, 2006).

Para a proporção de acetato, houve efeito na relação V:C apresentando maior proporção nas dietas com mais volumoso e reduzindo de acordo com a inclusão de concentrado na dieta. Entretanto, para as variáveis O-mamona e interação V:C x O-mamona não houve efeito da inclusão de nenhum nível do óleo de mamona sobre os tratamentos, indicando que o óleo não alterou a proporção de ácido acético.

Em dietas a base de forragem, a quantidade de ácido acético produzida pela fermentação está diretamente relacionada a digestibilidade, devido a lenta digestão da fibra, o pH se mantém bastante estável favorecendo maior ação de bactérias celulolíticas, fibrolíticas e metanogênicas (CHAPAVAL et al., 2008).

A inclusão de concentrado nas dietas na relação V:C, resultou em aumento da proporção de propionato com destaque na dieta 67_33 e proporção de ácido butírico na dieta 00_100, respectivamente.

A quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis, pode ter direcionado a fermentação para aumentar a proporção de propionato, devido ao maior crescimento de bactérias amilolíticas e proteolíticas, proporcionando assim um ambiente desfavorável para as bactérias celulolíticas e metanogênicas (PEDREIRA et al., 2004; BENCHAAAR e GREATHEAD, 2011).

Segundo Seal & Reynolds (1993), o aumento do propionato implica em maior concentração de glicose no sangue, o que gera maior quantidade de energia para o animal.

Os resultados apresentados para a relação acetato:propionato neste experimento, foram maiores para as dietas com mais volumoso (100_00 e 67_33), isso pode ser explicado em virtude da baixa disponibilidade de carboidratos não estruturais no feno de Mombaça, no entanto, essa relação diminuiu quando aumentou-se a proporção de concentrado na dieta.

As proporções dos AGCC produzidos pela fermentação formados no rúmen, são diretamente proporcionais a digestibilidade dos alimentos, ou seja, são influenciados pelo teor

de fibra da dieta. Em geral, quando se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos na dieta, também se aumenta a proporção acetato:propionato, que é utilizada para predizer um valor nutritivo relativo quando comparados (CHAPAVAL et al., 2008).

A base da dieta dos ruminantes é a forragem, porém quando se pretende elevar o teor de energia da dieta, aumenta-se a inclusão de fontes de carboidratos de rápida fermentação de maneira que não atrapalhe a degradação da fibra. A inclusão desses carboidratos aumenta a taxa de passagem e fornece energia que ajuda os microrganismos a diminuírem o tempo de colonização das partículas fibrosas (MEDEIROS et al., 2015).

Os OF podem apresentar efeitos na fermentação microbiana ruminal a curto prazo e os microrganismos podem se adaptar ainda no período de adaptação (BENETEL, 2018). Cardoso et al. (2004) em estudo, observaram que durante o período de adaptação, os OE de cinamaldeído, alho, anis e orégano reduziram a proporção molar de acetato, propionato e butirato em um curto período entre os dias dois e seis de fermentação, onde não houve diferenças após o dia seis.

4. CONCLUSÃO

A inclusão do óleo de mamona aumenta a produção de gases apenas na dieta com maior proporção de concentrado. A degradabilidade dos nutrientes melhora com a inclusão de 1% de óleo. Foi verificado que a inclusão de 2% do óleo de mamona resultou em menor produção de metano. Não houve efeito da inclusão do óleo de mamona nas proporções de AGCC, somente efeito das dietas durante a fermentação ruminal. Esses resultados podem fornecer informações valiosas sobre o desenvolvimento de dietas sustentáveis para o gado.

REFERÊNCIAS

AOAC - **Association Official Analytical Chemists**; Methods of Analysis. Gaithersburg - MD - USA: - **AOAC**, p. 1015, 2016.

BASTOS, Á.M.C.; MENDES, A.L.R.; ARAÚJO, J.L.; Propriedades do óleo de rícino e sua aplicabilidade na indústria farmacêutica. **Revista de Casos e Consultoria**, V. 12, N. 1, e24166, 2021.

BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A.V.; A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 209-228, 2008.

BERTONI, J.C.; DEL VALLE, T.A.; VERDURICO, L.C.; Óleo de mamona na alimentação animal, com foco na nutrição de bovinos de corte. **Revista ciência tecnologia e ambiente**, 2015.

CHAPAVAL, L.; MELOTTI, L.; ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVINDO, C. de S.; REGO, J.P.A.; Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminiais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 18-28, jan/mar, 2008.

COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; MARCOTULLIO, M.C.; Yu, Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, 2016.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. et al A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. **J. Theor. Biol.**, v.163, p.99-111, 1993.

GANDRA, J.R.; NUNES GIL, P.C.; CÔNSOLO, N.R.B.; GANDRA, E.R.S; GOBESSO, A.A.O.; Addition of increasing doses of ricinoleic acid from castor oil (*Ricinus communis* L.) in diets of Nelore steers in feedlots. **Journal of animal and Feed Sciences**, 2012.

GANDRA, J.R.; NUNES GIL, P.C.; GANDRA, E.R.S.; VALE, T.A. DEL; BARLETTA, R.V.; ZANFERARI, F.; FERREIRA DE JESUS, E.; TAKIYA, C.S.; MINGOTI, R.D.; ALMEIDA, G.F.; PAIVA, P.G.; GOBESSO, A.A.O.; Productive performance of simmental dairy cows supplemented with ricinoleic acid from castor oil. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 244, p.1-10, 2014.

GUIMARÃES JR, R.; GONÇALVES, L.C.; MAURICIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; TOMICH, T.R.; PIRES, D.A.A.; JAYME, D.G.; SOUSA, L.F.; Cinética de fermentação ruminal de silagens de milho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1174- 1180, 2008.

JESUS, R.B.; Diversidade bacteriana ruminal em bovinos nelores. Dissertação (mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, **UNESP**, 2014.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J.; Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347–358, 1996.

LUZ, Y.S.; FIGUEIREDO, M.P.; OLIVEIRA, F.M.; BERNARDINO, F.S.; NOVAES, E.J.; ROSEIRA, J.P.S.; Cinética da fermentação ruminal *in vitro* de dietas contendo palma forrageira enriquecida com ureia e suplementadas com diferentes fontes de amido. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1501-1514, 2014.

MARTINS, A.S.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta das silagens de milho e sorgo e de alguns alimentos concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.1109-1117, 1999.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v.79, p.321-330, 1999.

MEDEIROS, E.; QUEIROGA, R.; OLIVEIRA, M.; MEDEIROS, A.; SABEDOT, M.; BOMFIM, M.; MADRUGA, M.; Fatty acid profile of cheese from dairy goats fed a diet enriched with castor, sesame and faveleira vegetable oils. **Molecules**, v.19, n. 1, p. 992-1003, 2014.

MEDEIROS, S. R. de; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, v.1, p.178, 2015.

MICHAILOFF, A.A.; **Óleos funcionais a base de mamona e de casca de castanha de caju na dieta de ovinos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2017.

MORALES, E.R.; ESPINOSA, M.A.M.; MCKAIN, N.; WALLACE, R.J.; Ricinoleic acid inhibits methanogenesis and fatty acid biohydrogenation in ruminal digesta from sheep and in bacterial cultures. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 13, p.4943-4950, 2012.

NEIVA JÚNIOR, A. P; SILVA FILHO, J.C; VAN CLEEF, E.H.C.B; PINTO, J.C; LUIZ, A.A; TAVARES, V. B; Avaliação das silagens de capim-elefante aditivadas com nabo forrageiro, pinhão manso e tremoço, pela técnica de produção de gases. **Ciência e Agrotecnologia**, V.34, n.4, p. 1024-1030, 2010.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Aditivos In: **Nutrição de ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011.

OLIVEIRA, S.G de; BERCHIELLI, T.T.; PEDREIRA, M. dos S.; FERNANDES, J. de R.; PIRES, A.V.; Degradação ruminal e síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com silagem de sorgo contendo tanino suplementado com concentrado ou ureia com concentrado ou ureia. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 31, n. 1, p. 45-51, 2009.

ORSKOV, E.R.; MACDONALD, I.; The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**. Cambridge, v, 92, p. 499-503, 1979.

PEDREIRA, M. dos S.; BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. de; PRIMAVESI, O.; LIMA, M.A.; FRIGHETTO, R.; Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. **41º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, julho/2004.

PERES, A.; PINTO, A.C.J.; **A produção do gás metano por bovinos pode influenciar significativamente no efeito estufa?** Zootecnia Unesp. 2014. Disponível em: <https://www.coimma.com.br/blog/post/producao-do-gas-metano-por-bovinos-pode-influenciar-significativamente-no-efeito-estufa>

REGAZZI, A. J.; SILVA, C. H. O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 22, n. 2, p. 33-45, 2004.

SEAL, C.J.; REYNOLDS, C.K.; Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. **Nutrition Research**, v.6, 185-208, 1993.

SHINKAI, T.; ENISHI, O.; MITSUMORI, M.; HIGUCHI, K.; KOBAYASHI, Y.; TAKENAKA, A.; NAGASHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, Y.; Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. **Journal Dairy Science**, 2012.

SILVA, R.S.; MARQUES, R.P. da S.; CARVALHA, M.V. de L.; Revisão: Tempo requerido para bactérias ruminais se adaptarem a alterações na dieta de bovinos confinados. **PUBVET**, v.16, n.09, a1201, p.1-16, set., 2022.

SIPPERT, M. R.; Avaliação de óleos essenciais de laranja e cravo em rações de ruminantes utilizando sistemas in vitro. 2019. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - **Universidade Estadual de Maringá**, 2019.

SOUSA, L.F.; MACEDO JÚNIOR, G. de L.; SANTOS, R.P. dos; SILVA, A.G.M. e; BORGES, I.; Composição bromatológica e cinética da fermentação ruminal de rações contendo resíduos de babaçu. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 177-185, jan-mar, 2014.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P.; Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 1591-1602, 2003.

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

TISSERAND, R.; Essential oil – safety I. **The international Journal of Aromaterapy**, Amsterdam, v. 7, n. 3 p. 28-32, 1996.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. 2011. Fermentação ruminal. In. BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011.

VAN SOEST, P. J.; Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. **Journal A.O.A.C.**, v. 56, n. 4, p. 781–784, 1973.

CAPÍTULO IV: MISTURA COMERCIAL (ESSENTIALS®) NA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* EM DIETAS COM DIFERENTES RELAÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão da mistura comercial (ESSENTIAL®) em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado sobre a fermentação ruminal *in vitro* através da técnica semiautomática de produção de gases. O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Campus de Araguaína - TO. O inóculo ruminal foi obtido de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal). Os tratamentos consistiram em um esquema fatorial com quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e adição de três níveis (0%, 1% e 2%) da mistura comercial (ESSENTIAL®). Foi avaliada a produção de gases, a degradação ruminal da matéria seca e matéria orgânica, produção de metano e a proporção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são produtos da fermentação ruminal. As curvas geradas na produção de gases foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando um delineamento de blocos casualizados com arranjo fatorial 4×3 , sendo os fatores as quatro dietas e os três níveis de inclusão da mistura comercial, perfazendo doze tratamentos e com três blocos (animais doadores). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. Analisando-se a cinética de fermentação ruminal, observou-se que a produção total de gases (A), taxa de degradação fracional (μ) e a degradabilidade efetiva (DE), foram maiores quando incluiu a mistura comercial nas proporções de concentrado resultando em maior produção de gases, em menor tempo de colonização (T). Os tratamentos não diferiram pelo teste de paralelismo. No entanto, quando analisados pelo teste de identidade observou-se que houve efeito da mistura comercial (ESSENTIAL®) nos tratamentos quando incluiu os níveis de 1% e 2%. Não foi verificado efeito de interação entre dieta e inclusão da mistura comercial para nenhuma das variáveis avaliadas neste trabalho. Foi verificado efeito significativo da relação volumoso:concentrado para as variáveis DMS, metano, acetato, propionato, butirato e relação acetato:propionato. A inclusão da mistura comercial (ESSENTIAL®) resultou em efeito significativo apenas para as variáveis DMS e metano e efeito não significativo para acetato, propionato, butirato e relação acetato:propionato. Os dados demonstraram que maiores proporções de concentrado na dieta melhorou a degradabilidade do alimento, contribuindo para redução de acetato, aumento de propionato e menor relação acetato:propionato, por outro lado, a inclusão da mistura comercial (ESSENTIAL®) apesar de reduzir a degradabilidade, a inclusão de 1% nas dietas com maiores proporções de concentrado resultou em menor produção de metano. Assim, mesmo a mistura comercial (ESSENTIAL®) não apresentando efeito sobre a produção de AGCC, pode ser uma alternativa como aditivo natural.

Palavras-chaves: Degradabilidade; Fermentação ruminal; Metano; Mistura comercial

CHAPTER IV: COMMERCIAL MIXTURE (ESSENTIALS®) IN THE *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION IN DIETS WITH DIFFERENT RELATIONS VOLUMINOUS:CONCENTRATED

ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of including the commercial mixture (ESSENTIAL®) in diets with different volume:concentrate ratios on *in vitro* rumen fermentation using the semi-automatic gas production technique. The experiment was carried out at the Federal University of Northern Tocantins (UFNT), Araguaína Campus - TO. The rumen inoculum was obtained from three cattle (250 ± 25 kg body weight). The treatments consisted of a factorial scheme with four diets with different volume:concentrate ratios (100:0, 67:33, 33:67 and 0:100) and the addition of three levels (0%, 1% and 2%) of the commercial mixture (ESSENTIAL®). Gas production, rumen degradation of dry matter and organic matter, methane production and the proportion of short-chain fatty acids (SCFA), which are products of rumen fermentation, were evaluated. The gas production curves were compared using the parallelism and identity tests. The data was submitted to analysis of variance using a randomized block design with a 4×3 factorial arrangement, the factors being the four diets and the three levels of inclusion of the commercial mixture, making up twelve treatments and three blocks (donor animals). The means of the treatments were compared using the Tukey test at a 5% probability of type I error. Analyzing the kinetics of rumen fermentation, it was observed that total gas production (A), fractional degradation rate (μ) and effective degradability (ED) were higher when the commercial mixture was included in the concentrate proportions, resulting in greater gas production and a shorter settling time (T). The treatments did not differ using the parallelism test. However, when analyzed using the identity test, there was an effect of the commercial mixture (ESSENTIAL®) on the treatments when the 1% and 2% levels were included. There was no interaction effect between diet and inclusion of the commercial mixture for any of the variables assessed in this study. There was a significant effect of the volume:concentrate ratio for the variables DMD, methane, acetate, propionate, butyrate and acetate:propionate ratio. The inclusion of the commercial mixture (ESSENTIAL®) resulted in a significant effect only for the DMS and methane variables and a non-significant effect for acetate, propionate, butyrate and the acetate:propionate ratio. The data showed that higher proportions of concentrate in the diet improved the degradability of the feed, contributing to a reduction in acetate, an increase in propionate and a lower acetate:propionate ratio. On the other hand, the inclusion of the commercial mixture (ESSENTIAL®) despite reducing degradability, the inclusion of 1% in diets with higher proportions of concentrate resulted in lower methane production. Thus, even though the commercial mixture (ESSENTIAL®) had no effect on the production of AGCC, it could be an alternative as a natural additive.

Key-words: Degradability; Ruminant fermentation; Methane; Commercial mixture.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o maior limitante da pecuária mundial é obter maior produtividade em um menor espaço de tempo, assim a aplicação de técnicas que visam o melhor aproveitamento dos nutrientes contidos nos alimentos fornecidos aos animais é uma prática rotineira. Diante deste cenário surgiram vários aditivos que são incluídos nas formulações com o objetivo de melhorar o desempenho animal, melhoria da conversão alimentar, ganho de peso ou produção de leite (SANTOS, 2013).

O importante objetivo na nutrição de ruminantes é melhorar a eficiência da utilização de energia e proteína, porque as perdas por essas vias impactam a produção animal e o meio ambiente. Nesse contexto, a busca para identificar compostos e formulações dietéticas eficazes para modificar a cinética da fermentação ruminal, aumentar a produção de propionato sem comprometer a produção total de AGCC e reduzir a produção de CH₄ no rúmen tem se tornado alvo de pesquisas de nutricionistas de ruminantes (KLEVENHUSEN et al.; 2012).

Os aditivos naturais compostos por óleos essenciais e ou funcionais são substâncias que apresentam a funcionalidade de ação antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora e antioxidante. Além disso, contribuem para a atenuação da emissão de metano decorrente aos seus efeitos diretos na metanogênese, nos protozoários, na fermentação e na digestão dos alimentos (PATRA E SAXENA, 2010; COBELLIS et al., 2016).

Para atender às legislações e para se antecipar a possíveis proibições futuras dos antibióticos ionóforos, novos estudos vêm sendo desenvolvidos com a utilização de aditivos naturais, como os óleos funcionais de extrato de caju e mamona, que tem apresentado resultados semelhantes aos ionóforos em dietas de ruminantes com a vantagem de serem naturais (DURMIC e BLACHE, 2012; COBELLIS et al., 2016).

Desta forma, visando melhorar a digestibilidade de nutrientes e a busca pela maximização da produção animal, os extratos vegetais têm sido pesquisados para futuramente substituir os aditivos, sem o possível prejuízo àqueles que usariam os produtos animais como fonte de alimento. Desenvolveu-se o Essential (Oligobasics®), produto composto de óleo de mamona e caju, classificado como aditivo aromatizante, destinado a fabricantes de alimentos para aves e ruminantes com o objetivo de auxiliar no desempenho dos animais sem causar possível resistência bacteriana e resíduos na carne e leite (SANTOS, 2017).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local Experimental

O ensaio *in vitro* foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) no Laboratório de Nutrição de Ruminantes no setor de Ensaaios de Fermentação Ruminal e Produção de Gases, Campus de Araguaína/TO, localizado nas coordenadas 6°34'52'', de latitude sul, e 48°38'40'' de longitude oeste e 152,0 m de altitude na Amazônia Oriental Brasileira. Os procedimentos realizados envolvendo o uso de animais foram aprovados pela Comissão Ética no Uso de Animais da CEUA/UFNT, de acordo com o protocolo de nº23.101.272/01-55.

2.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos

As dietas utilizadas neste experimento foram formuladas com uso de feno de *Megathyrus maximus* cv. Mombaça triturado em moinho de facas com peneira de crivo de 1 mm e concentrado a base de milho e farelo de soja (Tabela 1).

O ensaio foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados (DBC) que consistiram em um esquema fatorial 4x3 de quatro dietas com diferentes relações volumoso:concentrado (100:0, 67:33, 33:67 e 0:100) e inclusão de três níveis do óleo de mamona (0, 1 e 2% da MS) e os blocos de inóculo ruminal de três bovinos (250 ± 25 kg de peso corporal), totalizando doze tratamentos.

Tabela 1 - Dietas experimentais com diferentes relações volumoso:concentrado e análises bromatológicas

Ingredientes	Composição (% da MS Total)			
	Dieta volumosa (100:00)	Dieta (67:33)	Dieta (33:67)	Dieta concentrada (00:100)
Feno Mombaça	97,00	67,00	33,00	0,00
Milho grão moído	0,00	17,00	41,00	54,92
Farelo de Soja	0,00	10,96	20,96	34,35
Fosfato	0,00	0,58	0,58	1,15
Sal Mineral	3,00	3,00	3,00	6,42
Calcário dolomítico	0,00	1,46	1,46	3,12
Composição química (% de MO)				
MS (g kg ⁻¹ MN)	89,44	88,81	88,08	89,72
PB	11,19	15,19	17,68	25,43
EE	1,05	1,16	1,62	1,02
FDN	60,77	46,29	28,19	17,17
FDA	29,20	23,68	9,41	2,12
NIDN	1,29	1,83	2,01	1,42
NIDA	0,67	0,73	1,01	1,33

MS – Matéria Seca; MN – Matéria Natural; PB – Proteína Bruta; EE – Extrato Etéreo; NIDN – Nitrogênio Insolúvel em detergente neutro; NIDA – Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido; FDN – Fibra em Detergente Neutro; FDA – Fibra Insolúvel em Detergente Ácido.

2.3 Bioensaio *in vitro* da produção de gases

A técnica *in vitro* de produção de gases utilizada neste trabalho é a semiautomática com transdutor de pressão modelo DPI800-P descrita em Maurício et al. (1999).

Três bovinos adultos mestiços (250 ± 25 kg de peso corporal) provenientes dos setores de gado de corte e de leite da instituição, foram utilizados como doadores de conteúdo ruminal. Os animais foram mantidos em pastagem de capim Mombaça com livre acesso à água e uma ração a base de milho e farelo de soja para adaptação dos animais por um período de 8 dias. As coletas das amostras de líquido ruminal foram realizadas manualmente mediante a introdução de uma sonda esofágica, adaptada a uma bomba de vácuo. A fim de diminuir a contaminação pela saliva nas amostras, os primeiros 200 ml de líquido ruminal foram descartados, sendo aproveitados os volumes subsequentes. Após a obtenção das amostras, estas foram imediatamente transferidas e acondicionadas em garrafas térmicas individuais, previamente aquecidas com água à temperatura de 39 °C, sendo fechadas após o envase, com o objetivo de manter a temperatura durante o transporte até o laboratório de gases.

No preparo dos inóculos, o material foi filtrado em duas camadas de tecido de algodão e distribuídos em Becker identificados em inóculo 1, inóculo 2 e inóculo 3, acondicionados em banho maria (Banho Maria SL - 150) e mantidos a 39 °C até o término da sua utilização.

A inoculação foi realizada através da injeção do inóculo em cada frasco de incubação usando seringa plástica graduada. Foram utilizados 117 frascos de vidro, previamente ao experimento foram lavados com água destilada, secos em estufa e identificados. Aos frascos com capacidade para 160 ml, foram adicionados aproximadamente 1,0 g de amostra sob aspersão de CO₂, com três réplicas de cada tratamento, 10 ml de inóculo, 90 ml de meio de cultura e o devido nível de óleo, sendo o volume proporcional ao total de conteúdo no interior dos frascos.

Para os ajustes de variação, foram incubados frascos considerados brancos, contendo as soluções de incubação sem substrato. Os frascos foram vedados com tampa de silicone e incubados em estufa a 39 °C, sob controle rigoroso de temperatura, permitindo desta forma a produção de gases dentro de cada frasco. Este foi considerado o tempo zero e dado início a contagem dos tempos de fermentação. As medidas de pressão e volume de gases foram tomadas utilizando-se um transdutor de pressão modelo DPI800-P.

A pressão dos gases no *head space* foi medida após: 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação. Após 96h, os frascos foram colocados em bandejas com água e gelo de modo a cessar a atividade microbiana. Amostras do líquido ruminal contido em cada frasco identificado, também foram coletadas para a determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Ao final, foram determinadas a degradabilidade da matéria seca (DMS).

Após tal procedimento, o modelo de France et al. (1993) foi ajustado aos dados, como expresso na equação 1:

$$Y = A \cdot \{1 - \exp[-b \cdot (t - T) - c \cdot (\sqrt{t - T})]\}$$

Foram obtidos os seguintes parâmetros referentes à cinética de produção de gases: produção de gases acumulada “Y” (ml), tempo de incubação “t” (horas), total de gases produzidos “A” (ml), tempo de colonização “T” (horas) e taxa de degradação fracional “μ” (h⁻¹). As equações geradas foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade de curvas de acordo com Regazzi e Silva (2004) (p<0,05), ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Foram estimadas também as degradabilidades efetivas, como expresso abaixo segundo a equação sugerida por France et al. (1993):

$$DE = S_0 \exp^{-kt} \cdot (1 - kI)/(S_0 + U_0)$$

Em que: DE = degradabilidade efetiva,

k = taxa de passagem, sendo calculada para $k = 0,02, 0,04, 0,06$ e $0,08$,

S_0 e U_0 = frações inicialmente fermentáveis e frações não fermentáveis, respectivamente, sendo:

$$I = \int_0^{\infty} \exp^{-[(b+k)(t-T) + c(\sqrt{t}-\sqrt{T})]} dt$$

2.4 Determinação da produção de metano

Paralelamente às mensurações de pressão, uma alíquota dos gases produzidos (5mL) em cada frasco foi coletada com o auxílio de seringas descartáveis para posterior quantificação CH_4 . Foi determinada a produção do gás de maior interesse ambiental: CH_4 . Tal mensuração foi feita pelo analisador de gases portátil TEC-GA21BIO®.

2.5 Análises bromatológicas

As amostras coletadas durante o experimento foram submetidas as seguintes análises bromatológicas: matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), extrato etéreo (EE; método 920.29), proteína bruta (PB; método 981.10), segundo Official (2016), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) (VAN SOEST et al., 1991). Além disso, foi determinado o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) segundo Licitra et al. (1996).

2.6 Determinação de Ácidos graxos de cadeia curta

A análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foi realizada no laboratório de nutrição animal do Programa de Pós-graduação em Zootecnia Integrada nos Trópicos. Para determinação do AGCC, uma alíquota de 20 ml do líquido ruminal dos frascos identificados foi filtrada em cadinhos filtrantes com placa porosa e em seguida, adicionado 1mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 6N. As amostras foram acondicionadas em tubos plástico com 50 ml de capacidade, fechados, identificados e armazenados em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ imediatamente após a coleta. Para a realização da análise de AGCC, as amostras foram descongeladas e centrifugadas (Centrifuga Refrigerada SL 701, Solap, Brasil, procedimento 1.169g GX, 3000RPM e $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 10 minutos para separação do sobrenadante. Com o auxílio de uma

pipeta automática, foi retirado 1,5 ml de cada tubo e depositado em vials (frasco de vidro, pequeno e transparente) para cromatógrafo identificado de acordo com a amostra do tubo em que foram retiradas. As amostras foram analisadas utilizando cromatógrafo gasoso Shimadzu (modelo GC-2010 Plus, Japão) com coluna Rtx-5 (Restek, EUA) de 30 m e 0,25 mm, e temperaturas no vaporizador, detector e coluna (inicial) de 200, 220 e 80 °C, respectivamente. Foi usada rampagem na coluna de 80 °C por 1 minuto, e aumento de 10 °C/min até 100 °C, mantendo estável a 100 °C por 2 minutos. Uma mistura de ácidos orgânicos foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador, foram: acetato, propionato e butirato.

2.7 Degradabilidade da matéria seca (DMS)

A DMS foi obtida pela filtração dos resíduos da fermentação em cadinhos com placa porosa previamente lavados com água destilada, tarados e posteriormente secos em estufa (105 °C) por 16 horas. Após esse período os cadinhos foram esfriados em dessecador por 30 minutos e pesados para determinação do resíduo.

2.8 Análises estatísticas

Os procedimentos estatísticos foram obtidos com auxílio do programa *Statistical Analysis System*® (SAS 9.3). Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias dos fatores foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro tipo I. O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_{1j} + F_{2j} + F_1 \times F_{2j} + e_{ijk}$$

Em que:

μ = média geral,

B_i = efeito do Bloco i , $i = 1, 2, 3, 4$,

F_{1j} = efeito das dietas j , $j = 1, 2, 3, 4$,

F_{2j} = efeito dos níveis de óleo j , $j = 1, 2, 3$,

$F_1 \times F_{2j}$ = efeito da interação (Dieta \times Níveis de mistura do óleo),

e_{ijk} = erro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Cinética da fermentação ruminal *in vitro*

Verificou-se que após 96h de incubação *in vitro*, com o aumento das proporções de concentrado na dieta e a disponibilidade de carboidratos de rápida fermentação, proporcionou maior produção de gases (A), melhor degradabilidade efetiva (DE) e taxa de degradação (μ) em menor tempo de colonização (T) dos microrganismos no alimento em comparação com as dietas de maiores proporções de volumoso.

Tabela 2 - Efeito da adição dos níveis da mistura comercial (Essential®) óleo essencial de caju e óleo funcional de mamona sobre a cinética de fermentação ruminal *in vitro* em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva

Tratamentos	Parâmetros de France						
	A*	T* (h:Min.)	μ^*	DE** (2%)	DE (4%)	DE (6%)	DE (8%)
MIXC0R100_0	182,000	00:01	0,04393	75,85	74,34	72,84	71,34
MIXC1R100_0	182,700	00:02	0,04594	75,26	73,77	72,28	70,79
MIXC2R100_0	179,300	00:02	0,04479	75,38	73,89	72,40	70,92
MIXC0R67_33	179,100	00:02	0,04416	77,77	76,21	74,66	73,10
MIXC1R67_33	181,300	00:02	0,04327	77,14	75,59	74,04	72,50
MIXC2R67_33	179,000	00:02	0,04220	76,63	75,08	73,53	71,99
MIXC0R33_67	201,400	00:02	0,04701	83,51	81,85	80,20	78,54
MIXC1R33_67	201,900	00:01	0,04847	80,97	75,75	70,84	66,22
MIXC2R33_67	198,100	00:02	0,04786	80,23	75,28	70,61	66,20
MIXC0R0_100	210,800	00:01	0,04702	90,02	88,24	86,46	84,68
MIXC1R0_100	206,000	00:01	0,04627	90,36	88,56	86,76	84,96
MIXC2R0_100	202,300	00:01	0,04833	89,61	87,83	86,05	84,27

A: Total de gases (ml), T: Tempo de colonização (h:min) e μ : Taxa de degradação fracional (h^{-1}) *Parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993). **Degradabilidade Efetiva.

Foi observado redução na degradabilidade efetiva quando adicionou o nível 2% da mistura comercial (ESSENTIAL®), indicando que na presença do óleo houve uma modulação da fermentação ruminal, à medida que aumentou o tempo de colonização, reduziu a digestibilidade da dieta e produção de gases. Provavelmente, esse maior tempo para degradar a partícula, seja devido a quantidade de fibra e a mistura comercial apresentar características hidrofóbicas impedindo o ataque microbiano e seu metabolismo.

A inclusão da mistura comercial no nível de 1% na relação volumoso:concentrado,

aumentou a taxa de degradação fracional (μ), indicando que maior quantidade de matéria orgânica foi incorporada à massa microbiana, resultando em maior eficiência de síntese microbiana e menores perdas por gases, porém, quando adicionou o nível de 2% houve redução na taxa de degradação fracional. O crescimento microbiano é diretamente dependente da disponibilidade de energia que é proveniente da fermentação dos carboidratos prontamente fermentáveis (DIAZ, 2013; VELHO et al., 2014).

A principal função dos carboidratos como o amido dos grãos e os açúcares solúveis das forragens, é ser fonte rápida de energia para os animais. Incluir pequenas quantidades de concentrado em dietas volumosas, diminui o tempo de colonização das partículas fibrosas e fornece energia que ajuda os microrganismos a degradarem o alimento. Em função disso, como estratégia de melhorar o desempenho animal e elevar o teor de energia, aumenta-se a inclusão dessas fontes de carboidratos na dieta de modo a não atrapalhar a degradação da fibra (MEDEIROS et al., 2015).

O tempo de colonização das bactérias ruminais é importante, pois representa o início da incubação até a ação microbiana sobre a dieta. Quando o alimento chega no ambiente ruminal, há um tempo em que os microrganismos aderem e penetram esse alimento, desta forma, entende-se que quanto maior os níveis de concentrado na dieta, mais rápida será a degradação do alimento e a produção de gases. No entanto, o contrário também se aplica, quanto maior o tempo em que os microrganismos penetram o alimento, menor será a taxa de degradação, o alimento fica mais tempo dentro do rúmen o que pode afetar no consumo (ØRSKOV & MCDONALD, 1979; SILVA et al., 2022).

3.2 Equações da produção acumulativa de gases

As curvas de produção cumulativa de gases dos tratamentos e suas respectivas equações estão representadas nas Figura 10 e na Tabela 3.

Para os tratamentos com maior proporção de concentrado (33:67 e 00:100) e inclusão de 0%, 1% e 2% de óleo após as 24 horas de incubação, observa-se maior produção de gases em comparação com os outros tratamentos no mesmo tempo de incubação. Isso pode ser verificado pelo comportamento paralelo das curvas de degradação.

Cinética de fermentação das dietas experimentais

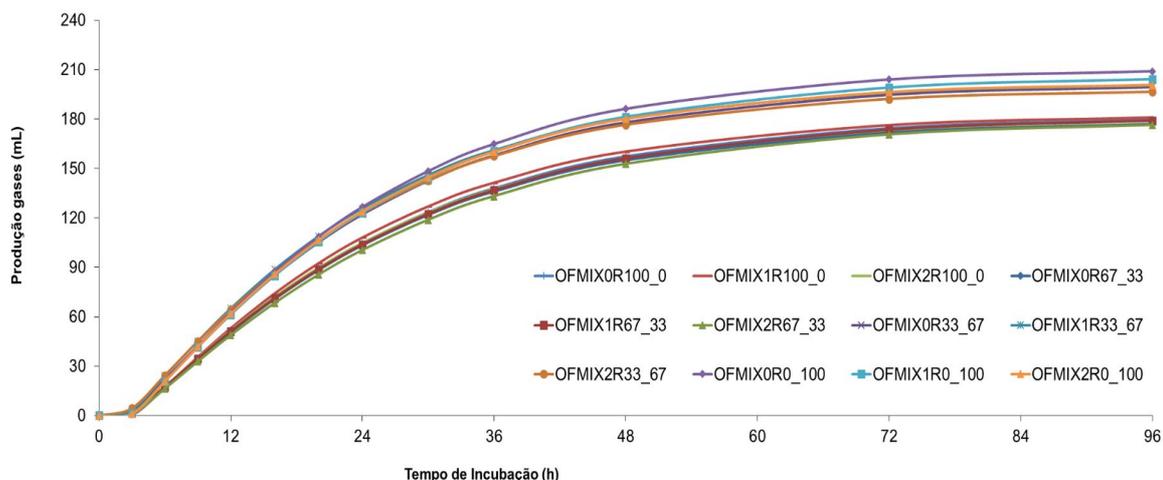


Figura 10 - Curva da produção cumulativa de gases em função dos níveis de inclusão da mistura comercial nas dietas com diferentes relações volumoso:concentrado. V:C 100:00 (Dieta com 100% volumoso e 0% concentrado); V:C 67:33 (Dieta com 67% volumoso e 33% concentrado); V:C 33:67 (Dieta com 33% volumoso e 67% concentrado); V:C 00:100 (Dieta com 0% volumoso e 100% concentrado).

Os tratamentos não diferiram pelo teste de paralelismo ($P < 0,05$). No entanto, quando analisados pelo teste de identidade ($P < 0,05$) observou-se que houve efeito da mistura comercial.

Tabela 3 - Equações da produção de gases acumulada (PGA), em ml g^{-1} de MS em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado e inclusão da mistura comercial (Essential®)

Tratamentos	Equações (Modelo de France)	R ² (%)
MIXC0R100_0	$Y = 182,0000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0565) \times (t - 0,0281) - (-0,1051) \times (\sqrt{t - 0,0281})]}\}$	a D 98,91
MIXC1R100_0	$Y = 182,7000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0594) \times (t - 0,0302) - (-0,1119) \times (\sqrt{t - 0,0302})]}\}$	a D 99,43
MIXC2R100_0	$Y = 179,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0574) \times (t - 0,0260) - (-0,1047) \times (\sqrt{t - 0,0260})]}\}$	a D 99,16
MIXC0R67_33	$Y = 179,1000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0569) \times (t - 0,0393) - (-0,1066) \times (\sqrt{t - 0,0393})]}\}$	a D 98,82
MIXC1R67_33	$Y = 181,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0555) \times (t - 0,0413) - (-0,1023) \times (\sqrt{t - 0,0413})]}\}$	a D 99,35
MIXC2R67_33	$Y = 179,0000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0543) \times (t - 0,0474) - (-0,1020) \times (\sqrt{t - 0,0474})]}\}$	a D 99,23
MIXC0R33_67	$Y = 201,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0601) \times (t - 0,0338) - (-0,1074) \times (\sqrt{t - 0,0338})]}\}$	a C 98,96
MIXC1R33_67	$Y = 201,9000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0616) \times (t - 2,3634) - (-0,1064) \times (\sqrt{t - 2,3634})]}\}$	a C 99,10
MIXC2R33_67	$Y = 198,1000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0603) \times (t - 2,2149) - (-0,1005) \times (\sqrt{t - 2,2149})]}\}$	a C 99,28
MIXC0R0_100	$Y = 210,8000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0610) \times (t - 0,0452) - (-0,1160) \times (\sqrt{t - 0,0452})]}\}$	a A 98,71
MIXC1R0_100	$Y = 206,2000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0596) \times (t - 0,0369) - (-0,1104) \times (\sqrt{t - 0,0369})]}\}$	a B 99,18
MIXC2R0_100	$Y = 202,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0626) \times (t - 0,0383) - (-0,1175) \times (\sqrt{t - 0,0383})]}\}$	a C 98,01

Equações acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna são paralelas pelo teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade (Freeze, 1970). Equações acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna são idênticas pelo teste de identidade de curvas a 5% de probabilidade (Regazi e Silva, 2004).

Observou-se que no tratamento com maior proporção de concentrado (0_100) e 0% inclusão da mistura comercial, a produção de gases foi superior aos demais tratamentos. Porém, quando incluiu os níveis de 1% e 2% de óleo, houve redução na produção de gases tanto nas dietas que tem mais concentrado, que proporcionam maior fermentação e que provavelmente aumentou a taxa de passagem, quanto para as dietas com mais o teor de fibra, ou seja, mais volumoso, em conjunto com a ação antibacteriana e antibiótica da mistura comercial, que impediu a atividade das bactérias gram-positivas e metanogênicas.

Segundo Sousa et al. (2014) ao testarem níveis de fermentação com diferentes produtos do babaçu notaram que a produção de gases foi menor quando utilizado alimentos mais fibrosos.

O concentrado é uma fonte de carboidratos solúveis de rápida fermentação que consegue fornecer energia para as bactérias presentes no rúmen para se manterem ativas, principalmente as que degradam a fibra. É evidente que fatores como a adaptação microbiana no rúmen, a degradação dos compostos, a taxa de passagem, a volatilização e absorção pela parede ruminal são responsáveis por parte importante das diferenças entre ensaios *in vitro* e *in vivo* (VILLALBA; PROVENZA, 2010; SIPPERT, 2019).

3.3 Degradabilidade da Matéria Seca (DMS)

Ao analisar a degradabilidade da matéria seca (Tabela 4) não foi verificado efeito significativo ($P=0,072$) para interação entre a relação V:C e MIXC, porém os efeitos individuais foram significativos ($P<0,05$).

Tabela 4 - Degradabilidade ruminal da matéria seca (DMS) na relação volumoso:concentrado e inclusão dos níveis da mistura comercial (Essential®)

MIXC**	DMS (%)					P*	
	V:C		Médias			V:C x MI XC	CV (%)
	100_00	67_33	33_67	00_100	V:C		
0%daMS	77,35	79,33	85,17	91,81	83,42 A		
1%daMS	76,75	78,69	86,51	92,16	83,53 A	<0,001	0,055
2%daMS	76,87	78,18	85,47	92,40	82,98 A		
Médias	76,99d	78,73 c	85,72b	91,79 a	83,31		

MIXC** - mistura comercial (Essential®); V:C - Relação volumoso:concentrado da dieta; DMS - Degradabilidade da matéria seca; P* Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação; médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a ($P<0,05$), pelo teste de Tukey.

A DMS manteve o efeito com a inclusão da mistura comercial nos níveis 0%, 1 e 2%, indicando que incluindo ou não o óleo, este não teve influência na degradabilidade da matéria seca. No entanto, os resultados demonstram para esta pesquisa que o aumento do concentrado na dieta promoveu uma maior degradabilidade e isso pode estar associado a maior disponibilidade de carboidratos de rápida fermentação e uma maior produção de gases.

A dieta com 100% de concentrado teve maior degradação da MS em relação as com proporções 33:67, 67:33 e 100:00 de volumoso:concentrado. Em geral, o incremento nos níveis de concentrado dietético resulta em aumento na degradabilidade do substrato (exceto FDN), pois fornecem maior quantidade de energia que é disponível para o adequado crescimento das bactérias ruminais, gerando aumento da fermentação (NUSSIO, 2011).

3.4 Produção de metano *in vitro* (CH₄)

Para a produção de metano (CH₄) foi observado efeito significativo para interação V:C x MIXC para e para os efeitos individuais V:C e MIXC, Tabela 5.

Tabela 5 - Produção de metano ruminal (CH₄) *in vitro* em diferentes relações volumoso:concentrado e inclusão da mistura comercial (Essential®)

	Metano (g CH ₄ /Kg MOD)								
	V:C				Médias		P*		
	100_00	67_33	33_67	00_100	V:C	MIXC	V:C MIXC *	CV (%)	
0%daMS	56,45	46,80	39,02	27,85	42,28 A				
1%daMS	54,61	47,85	35,65	25,89	41,00 AB	<0,001	<0,001	0,001	0,90
2%daMS	52,60	46,64	34,87	25,74	39,96 B				
Médias	54,55 a	46,76 b	36,51c	26,49 d	41,99				

V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta; CH₄- Metano; MOD - Matéria orgânica degradada *in vitro*; MIXCO** – mistura comercial; OE – óleo essencial de caju; OF – óleo funcional de mamona; P*Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a (P<0,05), pelo teste Tukey.

Entre as dietas, a produção de metano diminuiu com o aumento da relação de concentrado, apresentando médias de 54,55% na dieta 100% volumoso e 26,49% na dieta 100% concentrado. A inclusão de 1% da mistura comercial apresentou redução de metano na matéria orgânica degradada, já a inclusão de 2% teve pouco ou nenhum efeito na redução de metano.

Observa-se que houve interação entre óleo e dieta, isso indica que o modo de ação do óleo na redução do metano (CH_4) foi influenciado devido as diferentes proporções de volumoso:concentrado, bem como o tipo de óleo, o nível de inclusão na dieta e o modo de ação (TEDESCHI et al., 2003).

Do ponto de vista nutricional e visando o rápido desempenho dos animais, alimentos volumosos ou forragens de má qualidade ficam mais tempo dentro do rúmen, sendo assim, há uma maior produção de metano, o que é indesejável também do ponto de vista ambiental, pois diminui a energia metabólica que poderia ser utilizada pelo animal e este metano é eliminado para o meio ambiente (PERES e PINTO, 2014).

Os ruminantes representam uma das poucas fontes produtoras de CH_4 que podem ser manipuladas (BERCHIELLI, 2011). Dentre as principais variáveis que influenciam a produção de CH_4 em ruminantes, pode-se citar os fatores nutricionais (qualidade e tipo de carboidratos na dieta, nível de ingestão de alimento, presença de aditivos ou lipídios), fatores metabólicos (taxa de passagem da digesta) e fatores ambientais (temperatura e manejo dos animais) (McALLISTER et al., 1996, MILLER, 1995).

Os Ionóforos e os extratos de plantas, trazem como uma das propostas, diminuir a produção de CH_4 pelos ruminantes, para isso provocam uma mudança na população microbiana do rúmen diminuindo as bactérias gram-positivas, *arqueias* metanogênicas e protozoários que são suscetíveis a ação dos ionóforos e aumentando as gram-negativas que são mais resistentes (CHEN E WOLIN, 1979; TEDESCHI 2003), isso explica a ação conjunta da mistura comercial utilizado nesse estudo.

3.5 Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta

As concentrações de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no líquido ruminal de bovinos em função das diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão da mistura comercial (Essential®) estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Concentrações de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no líquido ruminal de bovinos em função das diferentes relações volumoso:concentrado e a inclusão da mistura comercial (Essential®).

Acetato									
MIXC**	V:C				Médias	V:C	MIXC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	MIXC*
0%daMS	66,98	64,23	60,93	57,34	62,37 A				
1%daMS	66,54	63,68	59,36	55,86	61,36 A	<0,001	0,416	0,995	13,05
2%daMS	66,26	63,51	60,21	56,62	61,65 A				
Médias	66,59 a	63,80 b	60,16 c	56,60d	61,79				
Propionato									
MIXC**	V:C				Médias	V:C	MIXC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	MIXC*
0%daMS	23,64	25,28	23,01	28,80	25,18 A				
1%daMS	24,17	25,81	23,54	30,33	25,96 A	0,004	0,814	1,000	13,45
2%daMS	24,35	25,99	23,72	29,85	25,98 A				
Médias	24,05 b	25,69 ab	23,43b	29,66 a	25,71				
Butirato									
MIXC**	V:C				Médias	V:C	MIXC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	MIXC*
0%daMS	7,36	9,82	8,32	9,12	8,66 A				
1%daMS	7,44	9,24	8,64	9,44	8,69 A	<0,002	0,778	0,222	18,72
2%daMS	7,47	8,30	9,27	8,90	8,49 A				
Médias	7,42 b	9,12 a	8,74 a	9,15 a	8,61				
Acetato:Propionato									
MIXC**	V:C				Médias	V:C	MIXC	P*	
	100_00	67_33	33_67	00_100				V:C	MIXC*
0%daMS	2,88	2,58	2,75	2,07	2,57 A				
1%daMS	2,80	2,51	2,60	1,87	2,45 A	<0,001	0,571	0,999	12,65
2%daMS	2,77	2,48	2,63	1,96	2,46 A				

Médias	2,82 a	2,52 a	2,66 a	1,97 b	2,49
V:C – Relação volumoso / concentrado da dieta; MIXC** – mistura comercial; P*: Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação, médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a (P<0,05), pelo teste de Tukey.					

Foi verificado efeito significativo na relação V:C para todos os AGCC avaliados. Porém, não houve efeito de interação significativa na relação V:C x MIXC bem como não houve efeito significativo da mistura comercial para nenhum dos AGCC avaliados.

A variação das proporções de acetato, propionato, butirato e a relação acetato:propionato parece estar mais relacionada à composição e relação V:C da dieta do que no nível de inclusão da mistura comercial e da interação V:C x MIXC, provavelmente porque a dosagem utilizada não foi suficiente para atuar nas concentrações de AGCC aos quais não tiveram efeitos significativos.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), são produtos da fermentação microbiana no trato digestório de ruminantes e a principal fonte de energia, sendo o acético, propiônico e butírico, que são os três ácidos mais importantes formados juntamente com os gases de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) (BERCHIELLI, 2006).

Para o acetato, houve efeito na relação V:C apresentando maior proporção nas dietas com mais volumoso e reduzindo de acordo com a inclusão de concentrado. Entretanto, para os parâmetros MIXC e interação V:C x MIXC não houve efeito da inclusão de nenhum nível do óleo nos tratamentos, indicando que essa mistura não teve influência na proporção de ácido acético.

A proporção de ácido acético produzida pela fermentação principalmente em dietas a base de volumoso, está diretamente relacionada a digestibilidade, devido a lenta digestão da fibra, há uma maior ação das bactérias celulolíticas e metanogênicas, pois o ambiente ruminal é favorecido pelo pH que se mantém bastante estável (CHAPAVAL et al., 2008).

Para a relação V:C, a inclusão de concentrado nas dietas resultou em aumento da proporção de propionato e butirato, principalmente na proporção 00:100.

Os resultados apresentados para a relação acetato:propionato neste experimento, foram maiores para as dietas com volumoso (100:00, 67:33 e 33:67), no entanto, só houve produção de propionato na dieta com 100% de concentrado.

A quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis aumenta a produção de glicose no sangue, consequentemente gera mais energia para o animal, devido ao maior crescimento de bactérias amilolíticas e proteolíticas, direcionando a produção de ácido propiônico, proporcionando assim um ambiente desfavorável para as bactérias celulolíticas e

metanogênicas (SEAL & REYNOLDS, 1993; PEDREIRA, et al., 2004; BENCHAAAR e GREATHEAD, 2011).

De acordo com Calsamiglia et al. (2007), o aumento da proporção de butirato e redução da relação acetato:propionato, utilizando alguns óleos essenciais ou os seus componentes na suplementação, sugere que o principal modo de ação é inibir a metanogênese.

As proporções dos AGCC produzidos pela fermentação formados no rúmen, são diretamente proporcionais a digestibilidade dos alimentos, ou seja, são influenciados pelo teor de fibra da dieta. Em geral, quando se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos na dieta, também se aumenta a proporção acetato:propionato, que é utilizada para predizer um valor nutritivo relativo quando comparados (CHAPAVAL et al., 2008).

A base da dieta dos ruminantes é a forragem, porém quando se pretende elevar o teor de energia da dieta, aumenta-se a inclusão de concentrado, carboidratos de rápida fermentação de maneira que não atrapalhe a degradação da fibra. A inclusão desses carboidratos aumenta a taxa de passagem e fornece energia que ajuda os microrganismos a diminuírem o tempo de colonização das partículas fibrosas (MEDEIROS et. al., 2015).

4. CONCLUSÃO

A inclusão de 2% da mistura comercial (Essential®) reduz a produção de gases em todos os tratamentos. Não houve influência dos níveis de inclusão da mistura comercial na degradabilidade dos nutrientes. Foi verificado que a inclusão de 1% da mistura comercial resultou em menor produção de metano quando comparado ao nível de 2% de inclusão. Não houve efeito da adição da mistura comercial nas proporções de AGCC, somente efeito das dietas durante a fermentação ruminal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo exploramos os efeitos do líquido da casca da castanha de caju e o óleo de mamona e a mistura comercial (Essential®) na degradação ruminal em dietas com diferentes relações volumoso:concentrado. O desenvolvimento de novos aditivos alimentares e estratégias nutricionais é essencial para a evolução da pecuária e para a manutenção da produção animal em níveis satisfatórios.

Entretanto, um dos fatores limitantes na utilização de óleos essenciais é a viabilidade econômica e prática de se fornecer aos animais, pois as doses que foram determinadas por meio de experimentos realizados *in vitro*, são diferentes devido à sua alta dosagem ou concentração para serem utilizadas *in vivo*.

A busca por óleos funcionais que traga um mix de resultados satisfatórios que melhore a taxa de produção de gases, ácidos graxos de cadeia curta e reduzam o volume de CH₄ produzido sem afetar a degradabilidade do alimento é importante. Assim o manejo alimentar torna-se uma estratégia para mitigação do metano produzido por ruminantes, gerando sistemas mais produtivos e economicamente sustentáveis.

REFERÊNCIAS

- AOAC - **Association Official Analytical Chemists**; Methods of Analysis. Gaithersburg - MD - USA: - **AOAC**, p. 1015, 2016.
- BENETEL, Gabriela. Uso de óleos essenciais como estratégia moduladora da fermentação ruminal para mitigação das emissões de metano por bovinos Nelore. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**, 2018.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.; **Nutrição de Ruminantes**. 2ª Edição, Jaboticabal: Funep, 2011.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.; **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006.
- CHAPAVAL, L.; MELOTTI, L.; ROSSI JÚNIOR, P.; OLIVINDO, C. de S.; REGO, J.P.A.; Relação volumoso concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 18-28, jan/mar, 2008.
- COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; MARCOTULLIO, M.C.; Yu, Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, 2016.
- DURMIC, Z.; BLACHE, D.; Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science and Technology**. 2012.
- KLEVENHUSEN F.; MURO-REYES, A.; KHIAOSA-ARD, R.; A meta-analysis of effects of chemical composition of incubated diet and bioactive compounds on *in vitro* ruminal fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.61-69, 2012.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J.; Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347–358, 1996.
- MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v.79, p.321-330, 1999.
- MEDEIROS, S. R. de; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, v.1, p.178, 2015.
- NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Aditivos In: **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J.; A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in ruminants. **Phytochemistry**. 2010.
- PERES, A.; PINTO, A.C.J.; **A produção do gás metano por bovinos pode influenciar significativamente no efeito estufa?** Zootecnia Unesp. 2014. Disponível em:

<https://www.coimma.com.br/blog/post/producao-do-gas-metano-por-bovinos-pode-influenciar-significativamente-no-efeito-estufa>

REGAZZI, A. J.; SILVA, C. H. O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 22, n. 2, p. 33-45, 2004.

SANTOS, N.F. dos; Uso do óleo funcional Essencial (Oligobasics®) em dietas de ovinos. Dissertação (mestrado em Zootecnia). **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano**. RIO VERDE - GO jul/2013.

SILVA, R.S.; MARQUES, R.P. da S.; CARVALHA, M.V. de L.; Revisão: Tempo requerido para bactérias ruminais se adaptarem a alterações na dieta de bovinos confinados. **PUBVET**, v.16, n.09, a1201, p.1-16, set., 2022.

SOUSA, L.F.; MACEDO JÚNIOR, G. de L.; SANTOS, R.P. dos; SILVA, A.G.M. e; BORGES, I.; Composição bromatológica e cinética da fermentação ruminal de rações contendo resíduos de babaçu. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 177-185, jan-mar, 2014.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P.; Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 1591-1602, 2003.

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

VAN SOEST, P. J.; Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. **Journal A.O.A.C.**, v. 56, n. 4, p. 781-784, 1973.

VILLALBA, J.J.; PROVENZA, F.D.; *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. **Springer Netherlands**, cap. 11, p. 233- 242. 2010.