



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
MESTRADO EM ZOOTECNIA**

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO *IN VITRO* DE COPRODUTOS DA CADEIA DE BIODIESEL

RAISSA KIARA OLIVEIRA DE MORAIS

Patos - PB

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
MESTRADO EM ZOOTECNIA**

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO *IN VITRO* DE COPRODUTOS DA CADEIA DE BIODIESEL

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia, área de Concentração em Sistemas Agrosilvipastoris no Semiárido.

Mestranda: Raissa Kiara Oliveira de
Morais

Orientador: Prof. Dr. Aderbal Marcos de
Azevêdo Silva

Co-orientadora: Dr^a. Heloísa Carneiro

Patos - PB

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

M827c Morais, Raissa Kiara Oliveira de
 Composição química e características da fermentação *in vitro* de
 coprodutos da cadeia de biodiesel. / Raissa Kiara Oliveira de Morais. –
 Patos, 2014.
 59f.: color.

 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de
 Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

 "Orientação: Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva"
 "Coorientação: Dra. Heloísa Carneiro"

 Referências.

 1. Metano. 2. Propionato. 3. Acetato. 4. Bovinos I. Título.

CDU 636.084:636.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “Composição química e características da fermentação *in vitro* de coprodutos da cadeia de biodiesel”

AUTORA: RAISSA KIARA OLIVEIRA DE MORAIS

ORIENTADOR: Prof. Dr. ADERBAL MARCOS DE AZEVÊDO SILVA

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

Prof. Aderbal Marcos de Azevêdo Silva
Presidente

Dra. Heloisa Carneiro
1º Examinadora

Prof. Leilson Rocha Bezerra
2º Examinador

Prof. José Morais Pereira Filho

3º Examinador

Patos - PB, 25 de fevereiro de 2014

Prof. Onaldo Guedes Rodrigues
Coordenador

Dedico:

À minha querida e amada avó,

*Esmeralda, pelo afeto e compreensão.
Sem a senhora, nada seria.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, tenho que agradecer a Deus, que sempre me deu forças, me pôs sempre de pé, mesmo diante da adversidade, me deste ânimo e coragem de seguir em frente. A Ele, o meu maior agradecimento.

À minha querida mãe, agradeço por tudo, por sempre ter se dedicado a mim, por nunca ter medido esforços para a melhor educação e por sempre ser um exemplo de mulher, guerreira, batalhadora e sempre tão determinada. A senhora é e sempre será o meu espelho (te amo, princesa).

À matriarca da família, Dona Esmeralda, que sempre lutou pelo melhor dos seus entes queridos, e que, comigo (a neta preferida), não poderia ser diferente. Obrigado por ter me incentivado tanto, por ter me ajudado e, principalmente, por ter aguentado a saudade todos esses dias... à Senhora, eu agradeço todas as minhas conquistas.

Aos demais familiares, aos quais represento através do meu tio Arimatéia e minha prima Samara, agradeço pelo incentivo, pelo estímulo e por todo carinho.

A Felipe, meu Fêzinho, por ter aguentado a distância e me dado todo amor e carinho que eu precisava para superar todas as dificuldades. Amo você, imensamente.

Ao tão amigo e querido professor Carlos Enrique Peña Alfaro, agradeço imensamente por ter confiado no meu potencial e me incentivado a seguir na carreira acadêmica.

Ao meu querido orientador, por vezes desorientador (risos), pela confiança ao trabalho dado, por ter acreditado que eu poderia fazer parte da sua equipe e pelos grandiosos ensinamentos, que me tornarão, com toda certeza, uma profissional melhor. O Senhor me mostrou o quão importante é ser um mestre. Muito Obrigada!

Ao querido Ari, o melhor secretário da instituição, por ter me ajudado tanto e por todos os dias ter iluminado as minhas manhãs com sua alegria e entusiasmo, talvez você não saiba, mas isso contribuiu muito para que as idas a faculdade fossem mais satisfatórias.

Ao grupo de pesquisa, Livia, Simone, Dário, Adelson e, em especial, a Fabíola e a Milenna, que compartilharam todos os momentos ao meu lado, os bons e os ruins, mas permaneceram ali, firmes e sempre à disposição. Foi extremamente gratificante trabalhar com vocês.

À Dra. Heloísa Carneiro e a Embrapa Gado de Leite, pela possibilidade de realização desse experimento.

Aos demais colegas de mestrado, que represento pela querida Thaiz Lamy, o meu agradecimento por tornarem os meus dias gratificantes e essa jornada mais prazerosa.

As minhas amadas companheiras de lar, Milenna e Rafaela, o meu eterno agradecimento, pelas alegrias, as loucuras, as confidências, as cumplicidades e pela maravilhosa convivência que me proporcionaram. Como, diria Milenna, estaremos juntas na saúde, na doença, na alegria, na tristeza ou até que o fim do mestrado nos separe, fisicamente.

À minha princesa, Mixa, pela sua mais sincera amizade, tenho certeza que você é o maior presente que Patos me deu! Não tenho palavras suficientes para dizer o quanto sou grata por sua amizade.

Aqueles que, mesmo distantes, sempre se fizeram presentes em minha vida, Maysa, Renata e Guilherme, nunca esquecerei o apoio de vocês.

A todos, o meu mais sincero agradecimento!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E FIGURAS	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
CAPÍTULO I	11
DEGRADAÇÃO RUMINAL <i>IN VITRO</i> E PRODUÇÃO DE GÁS TOTAL DE COPRODUTOS GERADOS NA CADEIA PRODUTIVA DO BIODIESEL.....	12
ABSTRACT	12
RESUMO	13
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO	23
AGRADECIMENTOS.....	24
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO II.....	27
FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE COPRODUTOS DA CADEIA DO BIODIESEL EM SUBSTITUIÇÃO AO CAPIM ELEFANTE.	28
RESUMO	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
RESULTADOS.....	32
DISCUSSÃO.....	36
CONCLUSÃO	38
AGRADECIMENTOS.....	39
REFERÊNCIAS	39
CONCLUSÃO GERAL	48
ANEXOS	49
ANEXO I	50
ANEXO II.....	54

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1. Composição química (g/Kg) do capim elefante (controle), algodão, moringa, pinhão manso, girassol e mamoma.....17**
- Tabela 2. Teores médios dos níveis da DMS (%) e equações de regressão representativas da interação de substituição dos níveis dos coprodutos em substituição ao capim elefante, após 48 horas de incubação.....18**
- Tabela 3. Teores médios dos níveis de produção de gás total (mL g⁻¹) e equações de regressão interação de substituição dos níveis dos coprodutos em substituição ao capim elefante.....19**

CAPÍTULO II

- Tabela 1. Composição química (g/Kg) do capim elefante (controle), algodão, moringa, pinhão manso, girassol e mamoma.....42**
- Tabela 2. Valores médios e equações de regressão das concentrações de acetato, propionato, butirato e pH do meio de cultura, após 48 horas de incubação.....43**
- Tabela 3. Efeito da inclusão de coprodutos sobre a relação acetato: propionato.....44**
- Tabela 4. Valores médios e equações de regressão das concentrações de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e nitrogênio amoniacal (NNH₃), após 48 horas de incubação.....45**

INTRODUÇÃO GERAL

A criação de ruminantes torna-se cada vez mais crescente e, atualmente, o Brasil por deter o maior rebanho comercial bovino, vem sendo alvo de críticas relacionadas ao aquecimento global, uma vez que a má qualidade das pastagens, geralmente degradadas, influencia um déficit no potencial de produção desses animais e maior produção de gases efeito estufa, como o gás metano e o dióxido de carbono. Esses gases são resultados do processo fermentativo dos ruminantes, sendo esse processo essencial para a degradação da matéria orgânica e, sabe-se que o metano é considerado responsável por grande parte da perda de energia durante esse processo. Por isso, o desafio no sistema produtivo de ruminantes é desenvolver dietas e estratégias de manejo que minimizem a produção relativa desses gases, possibilitando maior eficiência produtiva e redução da contribuição negativa da pecuária para o aquecimento global.

É nesse aspecto que se determina o elo entre a pecuária e a produção de biodiesel, visto que o estudo da possível utilização de coprodutos do biodiesel pode contribuir para o crescimento sustentável da pecuária, já que são também pouco conhecidas às probabilidades de adquirir receitas originárias do mercado de crédito de carbono, relativas à redução da emissão de gás metano passíveis de ocorrer quando se utilizam rações contendo essas oleaginosas.

Porém, tortas e farelos oriundos da cadeia produtiva do biodiesel não passam por processo de agregação de valores, porque ainda são desconhecidas suas potencialidades nutricionais e econômicas, exceto para alguns coprodutos como os do girassol, da soja e do algodão, os quais são considerados fontes altamente proteicas.

Sendo assim, faz-se cada vez mais necessário a investigação dos valores nutricionais de coprodutos ainda não avaliados, visando à utilização na alimentação animal minimizando custos, por meio da busca de alternativas à substituição de itens comuns da dieta, na tentativa de aperfeiçoar as margens de lucro da atividade pecuária e maximizar o desempenho dos pequenos ruminantes.

Nesse contexto, objetivou-se analisar a composição química, a degradabilidade, a fermentação ruminal, a produção de gases *in vitro* e as perdas energéticas de coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel.

CAPÍTULO I
DEGRADAÇÃO *IN VITRO* E PRODUÇÃO DE GÁS TOTAL DE COPRODUTOS
GERADOS NA CADEIA PRODUTIVA DO BIODIESEL

(A versão em inglês desse manuscrito será enviada ao periódico Revista Ciência e Agrotecnologia)

**DEGRADATION *IN VITRO* AND GAS PRODUCTION TOTAL OF BYPRODUCTS
GENERATED IN THE BIODIESEL PRODUCTION CHAIN**

**DEGRADAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* E PRODUÇÃO DE GÁS TOTAL DE
COPRODUTOS GERADOS NA CADEIA PRODUTIVA DO BIODIESEL**

Raissa Kiara Oliveira de Moraes^{1*}

Aderbal Marcos de Azevêdo Silva²

Heloisa Carneiro³

Leilson Rocha Bezerra⁴

Fabíola Franklin de Medeiros⁵

Milenna Nunes Moreira⁵

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate the *in vitro* degradation and total production of different oil seed press cakes from biodiesel production chain gas, through the use of semi-automatic technique of gas production *in vitro*, using a statistical design with 4 treatments and 5 replications. Treatments consisted in replacing the *Pennisetum purpureum* by increasing levels 0%, 30%, 50% and 70% of oil seed press cakes of *Gossypium hirsutum*, *Ricinus communis*, *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* and the *Helianthus annuus*. The oil seed press cakes of *Moringa oleifera* had the highest rate of *in vitro* degradation of dry matter compared with other foods, but it does not result in higher final volume of gases. The *Gossypium hirsutum*, *Jatropha curcas* and *Ricinus communis* showed higher *in vitro* degradability of dry matter similar. The highest gas production was obtained by the oil seed press cakes of

* Autor para correspondência

¹Estudante de pós graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Rua São José, 755 -Patos, Paraíba, 58700970, Brazil, email: raissa_kiara@hotmail.com

²Professor doutor do departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba. ³Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais. ⁴Professor Doutor do departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Piauí, Piauí.

Helianthus annuus. The oil seed press cakes of *Moringa oleifera* can replace the elephant grass up to 70%, and so reduce greenhouse gas emissions and reduce energy loss for the animal.

Index terms: alternative food, ruminal fermentation, methane

RESUMO

Objetivou-se neste experimento avaliar a degradação *in vitro* e a produção total de gás de diferentes coprodutos gerados na cadeia produtiva do biodiesel, mediante o uso da técnica semi automática da produção de gases *in vitro*, usando um delineamento estatístico com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos constituíram na substituição do *Pennisetum purpureum* pelos níveis crescentes 0%, 30%, 50% e 70% dos coprodutos do *Gossypium hirsutum*, da *Ricinus communis*, da *Moringa oleifera*, do *Jatropha curcas* e do *Helianthus annuus*. O coproduto da *Moringa oleifera* apresentou a maior taxa de degradação *in vitro* da matéria seca, quando comparada com os demais alimentos, porem não resultou em maior volume final de gases. O *Gossypium hirsutum*, o *Jatropha curcas* e a *Ricinus communis* apresentaram taxas de degradabilidade *in vitro* da matéria seca, similares. O maior índice de produção de gás foi obtido pelo coproduto do *Gossypium hirsutum*. O coproduto da *Moringa oleifera* pode substituir o capim elefante em até 70% e, ainda assim, reduzir a emissão de gases poluentes e diminuir as perdas energéticas para o animal.

Termos para indexação: alimentos alternativos, fermentação ruminal, metano.

INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo. A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis estima que a mistura de 5% de biodiesel ao óleo diesel consumido no país, poderá acarretar em uma economia de

US\$ 1,4 bilhão por ano, devido à queda das importações de diesel, e reduzirá em 3% a emissão de dióxido de carbono (CO₂) em decorrência da queima do combustível no Brasil (ANP, 2010).

Além disso, quando a mistura obrigatória de biodiesel ao diesel era de apenas 3%, o Brasil apresentava um potencial de produção de tortas e/ou farelos na ordem de 14.746 kg/ha/ano, sendo que a esta produção pode variar dependendo da cultura, apresentar rendimento diferente e gerar maior ou menor volume de resíduos (Abdalla et al., 2008). A existência e o destino desses descartes devem ser considerados como uma etapa importante do processo da extração de óleo para a produção do biodiesel, pois, as legislações ambientais têm sido cada vez mais rigorosas em relação às unidades de beneficiamento da matéria vegetal com relação ao destino dos resíduos destas (Manik et al., 2013). A produção desses resíduos representa, ainda, perda de biomassa e de nutrientes e está associada ao desperdício na utilização de insumos, principalmente dos materiais que são gerados ao longo da cadeia agroindustrial, e, que não possuem valor econômico evidente, mas que tem sido ultimamente, considerado na alimentação de animais ruminantes. (Andrade Júnior & Martins, 2013).

Os coprodutos gerados pela diversidade de materiais graxos utilizados na cadeia do biodiesel como o do algodão, da mamona, da moringa, do pinhão manso e do girassol, podem apresentar características desejáveis a um concentrado proteico de boa qualidade para alimentação de ruminantes. Porém, a sua utilização na dieta dos animais depende do domínio de tecnologias de utilização do coproduto para maximizar a produtividade pecuária e agregar valores ao processo produtivo do biodiesel (Oliveira et al., 2013).

Para isso, estudos e técnicas que caracterizem o metabolismo ruminal destes coprodutos, como a técnica de produção de gases *in vitro* é necessária para identificação de potenciais dos coprodutos passíveis de serem utilizados em substituição a ingredientes convencionais e sem prejudicar a saúde do animal.

Neste contexto, objetivou-se avaliar a utilização de alguns coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel, para alimentação animal, por meio dos parâmetros de degradabilidade ruminal *in vitro* utilizando a técnica de produção de gás.

MATERIAL E METÓDOS

Local do experimento e amostragem da forragem e dos coprodutos

O experimento foi conduzido em Abril de 2012, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, em Coronel Pacheco, de propriedade da Embrapa Gado de Leite (CNPGL), localizado na Zona da Mata de Minas Gerais/MG.

Os substratos utilizados para incubações *in vitro* foram o capim elefante (*Pennisetum purpureum*) como tratamento controle e os coprodutos da indústria do biodiesel: algodão (*Gossypium hirsutum*), mamona (*Ricinus communis*), moringa (*Moringa oleifera*), pinhão manso (*Jatropha curcas*) e girassol (*Helianthus annuus*).

Amostras de, aproximadamente 300 g de cada coproduto resultante do processamento ou da extração do óleo vegetal foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG. Para as análises químicas e as análises dos gases.

Análise química e Preparação para meio de cultura

Os substratos compostos pelos coprodutos e pela forragem foram pré-secos em estufas de ventilação forçada a 55°C por 48 horas. Depois moídos em moinho do tipo Wiley dotado de peneira com perfurações de 1,0 mm para determinação da matéria seca (MS) em estufa a 105° C de acordo com os procedimentos gerais descritos por Silva & Queiroz (2002) para a determinação do extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) pelo método kjeldahl; fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método Van Soest et al.

(1991). Os carboidratos totais (CHOT) foram obtidos por intermédio da equação $100 - (\% \text{ PB} + \% \text{ EE} + \% \text{ Cinzas})$ descrita por Sniffen et al. (1992).

Foram formuladas dietas, substituindo capim elefante (controle) pelos coprodutos nas seguintes proporções 70/30, 50/50 e 70/30% (volumoso/coproduto). Os ingredientes das dietas após serem secos a 55°C durante 48 horas, posteriormente moídos a 1 mm. Em seguida pesados 0,5 g de matéria seca (MS) da amostra para um saco de ANKOM[®] (F57) com 6 repetições / tratamento, selados e colocados dentro de frascos de vidro de soro do tipo cor-âmbar de 50 mL, previamente lavados com água destilada, secos em estufa e identificados.

Para a coleta do líquido ruminal, utilizaram-se três vacas da raça Holandesa com peso médio de 600 kg providas de fistulas no rúmen. O líquido coletado foi transferido para garrafas térmicas previamente aquecidas a 39°C e levado imediatamente ao laboratório. No laboratório, o conteúdo ruminal foi homogenizado e filtrado em duas camadas de tecido de algodão, sendo mantido em banho-maria a 39°C sob saturação de CO_2 , até serem adicionadas as demais soluções (tampão, macro e micro minerais solução de resazurina e meio B) para o meio de cultura.

Para preparação do meio de cultura foi utilizado o líquido ruminal e solução tampão (Vitti et al., 1999) em uma proporção de 5:1. O inóculo (30 mL) foi então transferido para os frascos de incubação, posteriormente lacrados e colocados em um agitador orbital cremalheira fixado em 120 oscilações por minuto em uma incubadora a 39°C .

Determinação da produção de gás e determinação da degradabilidade in vitro da matéria seca

Foram incubados 126 frascos, seis destes contendo apenas o líquido ruminal e o meio de cultura tamponante como controle (brancos), utilizados para determinar a produção de gás proveniente do conteúdo ruminal para posterior correção da produção líquida de gases, os demais frascos corresponderam a seis repetições de cada tratamento.

Os perfis de produção de gases *in vitro* de cada frasco foram medidos 48 horas após a incubação utilizando um aparelho de deslocamento de água graduado em mL.

Após o período de incubação os sacos de ANKOM® com os resíduos foram removidos e colocados em gelo, para interromper a fermentação, em seguida lavados com água abundante e secos em estufa a 55°C durante 48 horas. A degradabilidade aparente da matéria seca (DMS) foi obtida pela diferença de peso entre a matéria seca da amostra antes e após a incubação.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento estatístico utilizado para avaliar a produção cumulativa de gases e a degradabilidade da matéria seca foi inteiramente ao acaso num arranjo fatorial 5 x 4 (coprodutos e níveis de substituição). A produção de gás total e a degradabilidade da MS foram submetidos a uma análise de variância (PROC ANOVA) em que, para os efeitos de interação aplicou-se o teste Tukey ($p < 0,05$) entre os coprodutos dentro de cada nível de substituição e dos níveis de substituição dentro de cada coproduto. Os resultados dos níveis crescentes foram interpretados estatisticamente por meio dos modelos de regressão pelo PROC REG (SAS, 2003).

RESULTADOS

A composição química dos coprodutos e do capim elefante (controle), apresentada na Tabela 1, indica que o capim elefante obteve níveis de proteína bruta de 126,1 g/Kg, dos constituintes fibrosos (FDN, FDA e lignina) os valores de 555,0, 351,1 e 144,4 g/Kg, respectivamente, e uma taxa de 591,4 g/Kg de digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Entre os coprodutos, o do pinhão manso e o do girassol apresentaram os menores valores de proteína bruta (356,9 e 329,4 g/Kg, respectivamente), porém os coprodutos da moringa e do algodão obtiveram os maiores valores nesta análise (577,6 e 549,9 g/Kg,

respectivamente). Destaca-se ainda, que os maiores níveis de extrato etéreo foram apresentados pelos coprodutos do girassol e do pinhão manso (162,0 e 110,6 g/Kg, respectivamente), e os menores pelos coprodutos do algodão e da mamona (40,3 e 43,8 g/Kg, respectivamente).

Tabela 1. Composição química (g/Kg) do capim elefante (controle), algodão, moringa, pinhão manso, girassol e mamona

Coproduto	MS	PB	FDN	FDA	LIG	EE	CZ	CNF	CHOT	DIVMS
C. elefante	882,3	126,1	555,0	351,1	144,4	14,2	25,4	279,3	834,3	591,4
Algodão	929,1	549,9	303,6	207,7	32,1	40,3	68,3	37,9	341,5	595,6
Moringa	901,2	577,6	202,7	80,5	10,3	84,8	49,8	85,1	287,8	791,3
Pinhão manso	920,7	356,9	391,4	334,5	43,4	110,6	79,5	61,6	453,0	571,3
Girassol	914,5	329,4	439,7	384,0	120,4	162,0	41,3	27,6	467,3	463,1
Mamona	912,6	420,2	423,3	383,4	154,4	43,8	42,3	70,3	493,6	497,1

***MS**- matéria seca; **PB**- proteína bruta; **FDN**- fibra em detergente neutro; **FDA**- fibra em detergente ácido; **LIG**- lignina; **EE**- extrato etéreo; **CZ**- cinzas; **DIVMS**- digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Os valores mínimos de FDN foram apresentados pelo coproduto da moringa e do algodão (202,7 e 303,6 g/Kg), para o coproduto do girassol foram encontrados valores de 439,7 g/Kg e para o coproduto da mamona valores de 423,3 g/Kg.

Os maiores teores de FDA foram encontrados nos coprodutos do girassol (384,0 g/Kg) e da mamona (383,4 g/Kg), conseqüentemente apresentando os maiores índices percentuais de lignina (120,4 e 154,4 g/Kg, respectivamente).

Os maiores valores encontrados para DIVMS, foram 595,6 e 791,3 g/Kg dos coprodutos do algodão e da moringa, respectivamente, e os menores índices apresentados foram os dos coprodutos da mamona (497,5 g/Kg) e do girassol (463,1 g/Kg).

Analisando a DMS (Tabela 2), verifica-se uma interação dependente entre o efeito dos coprodutos e os níveis de substituição do capim elefante.

Examinando os coprodutos dentro de cada nível de substituição, nota-se que nos níveis de 30 e 50%, o coproduto do algodão apresentou uma degradabilidade *in vitro* da matéria seca de 55,33 e 53,22%, respectivamente, sendo superior a dos coprodutos da mamona e do pinhão

manso ($p < 0,05$), porém não diferiu dos coprodutos da moringa e do girassol ($p > 0,05$). Entretanto, ao nível de 70% de substituição, os coprodutos da moringa e do algodão apresentaram níveis de DMS (59,80 e 54,44%, respectivamente) superiores aos valores dos demais coprodutos analisados ($p < 0,05$)

Tabela 2: Teores médios dos níveis da DMS (%) e equações de regressão representativas dos níveis de substituição do capim elefante dentro dos coprodutos, após 48 horas de incubação

Coproductos	Níveis de Substituição do capim elefante				Equações	R ²	P-value
	0	30	50	70			
Algodão	52.93	55.34 ^A	53.22 ^A	54.44 ^A	Y= 53.50	0.01	0.51
Mamona	52.93	46.49 ^B	42.48 ^B	35.00 ^C	Y= 53.55-0.24x	0.89	<0001
Moringa	52.93	52.06 ^{AB}	52.93 ^A	59.80 ^A	Y= 51.51+0.10x	0.30	0.004
Pinhão manso	52.93	48.48 ^B	43.64 ^B	41.59 ^B	Y= 52.99-0.16x	0.84	<0001
Girassol	52.93	53.53 ^{AB}	51.05 ^A	47.54 ^B	Y= 53.93-0.07x	0.30	0.007

*Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey. R², coeficiente de regressão e p, probabilidade

Considerando os níveis de substituição do capim elefante pelos coprodutos (isoladamente), observa-se que os coprodutos do pinhão manso e da mamona, apresentaram efeito linear negativo, ou seja, à medida que se aumentava a unidade percentual ocorria redução na degradação deste alimento (0,16 e 0,24%, respectivamente). O coproduto da moringa apresentou comportamento linear crescente, portanto, à medida que aumentava os níveis, acrescia 0,10% por unidades percentuais de substituição. O comportamento do coproduto do girassol apresentou decréscimo na produção de 0,07% por unidades percentuais de substituição ao capim elefante.

O efeito dos coprodutos e dos níveis de substituição do capim elefante foram dependentes (Tabela 3). Nota-se que para todos os níveis de substituição, o coproduto do girassol apresentou a produção total de gás superior aos demais coprodutos analisados. Contudo o coproduto do pinhão manso diferiu estatisticamente dos demais coprodutos aos níveis de 50 e 70%, quando apresentou menor produção de gás total (44,01 e 43,03 mL g⁻¹, respectivamente).

Analisando os níveis de substituição do capim elefante pelos coprodutos dentro de cada coproduto, observa-se que o coproduto do girassol foi que apresentou maior volume final da produção de gás $123,96 \text{ mL g}^{-1}$ de MS incubada. As médias para produção final do coproduto do algodão, da moringa e da mamona obtiveram os maiores índices ao nível de 30% e os menores ao nível de 70% de substituição.

Tabela 3: Teores médios dos níveis de produção de gás total (mL g^{-1}), equações de regressão dos níveis de substituição do capim elefante dentro dos coprodutos.

Coproductos	Níveis de Substituição do Capim Elefante				Equações	R ²	P
	0	30	50	70			
Algodão	72.17	73.98 ^B	70.10 ^B	65.78 ^B	Y= 73.97	0.09	0.14
Mamona	72.17	59.43 ^C	53.08 ^C	45.00 ^C	Y=71.80-0.38x	0.93	<0001
Moringa	72.16	57.80 ^C	54.58 ^C	46.78 ^C	Y= 70.96-0.35x	0.88	<0001
Pinhão manso	72.16	52.00 ^C	44.01 ^D	43.03 ^D	Y= 68.89-0.42x	0.83	<0001
Girassol	72.16	119.90 ^A	121.83 ^A	123.96 ^A	Y= 84.27+0.69x	0.78	0.0004

*Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey R² coeficiente de regressão e p probabilidade

A análise de regressão da produção total de gás demonstrou que os coprodutos que apresentaram maior e menor produção de gás (o do pinhão manso e o do girassol, respectivamente) foram representados pelo modelo linear, assim como os demais coprodutos (da mamona e da moringa), excetuando-se apenas do coproduto do algodão.

DISCUSSÃO

Os estudos demonstram o adequado valor nutricional de coprodutos da produção de biodiesel (Silva et al., 2005; Souza et al., 2009) surgindo como alternativa para diminuir os custos com dietas balanceadas para alimentação de ruminantes. Um dos principais fatores negativos à sua utilização na dieta dos animais é a presença de elevados teores de lignina em alguns coprodutos, como o girassol e o da mamona, o que provavelmente influenciam negativamente a degradação de carboidratos fibrosos e não fibrosos (Mizubuti, et al., 2011; Oliveira et al., 2013).

Segundo Abdalla et al. (2008), o conteúdo proteico destes coprodutos é em média 35%, com variação de 14 a 60%. Neste estudo os coprodutos que apresentaram os menores valores de PB foram o da mamona e o do girassol, apesar disso permanecem entre os níveis de variação citado pelo autor acima.

Os maiores níveis de EE foram obtidos pelos coprodutos do girassol (162 g/Kg) e do pinhão manso (120,4 g/Kg), podem ser considerados benéficos, uma vez que a inclusão de oleaginosas na dieta pode auxiliar na mitigação de gases considerados provedores do fenômeno efeito estufa, assim como citado na literatura (Farias et al., 2012). Apesar disso, é necessário cuidado ao adicionar conteúdos oleaginosos na dieta de ruminantes, pois segundo Bonfim et al.(2009), níveis acima de 4% podem interferir na ingestão da fibra, pelo efeito deletério dos mesmos para a microbiota ruminal.

Os valores dos conteúdos fibrosos (FDN e lignina) apresentados neste trabalho foram superiores aos valores relatados por Goes et al. (2010), exceto para os coprodutos da moringa e do algodão. Esta variação pode ser justificada pela falta de padronização em relação ao manejo do cultivo e a forma de processamento dos grãos.

Segundo Kozloski (2009), esses constituintes fibrosos são diretamente relacionados à diminuição dos percentuais da degradabilidade da matéria seca. A presença de lignina, por exemplo, tende a aumentar a fração indigestível, conseqüentemente reduzindo a porção digestível.

Neste estudo o coproduto da mamona e o coproduto do pinhão manso, diminuíram a DMS com o acréscimo de substituição, podendo ser explicado por duas hipóteses: a primeira pelo alto teor de lignina, isso porque alimentos que possuem menor teor de lignina promovem melhor acesso aos microrganismos (Goes et al., 2010); e a segunda é a presença de compostos antinutricionais presentes nesses coprodutos que interferem o processo de degradação, no

caso da mamona a substância tóxica presente é a ricina e, no caso do pinhão manso sua toxicidade deve-se principalmente à presença de saponinas (Bonfim et al. 2009)

A maior degradabilidade apresentada pelo coproduto da moringa foi resultado da menor concentração de fibras e lignina e pela maior concentração de carboidratos solúveis, quando comparado aos demais coprodutos.

No processo de produção de gás, após a substituição dos níveis de 0, 30, 50 e 70% à forragem, o coproduto do girassol foi o que apresentou maior volume final da produção total de gás em todos os níveis de substituição ($p < 0,05$).

O coproduto do girassol, apesar de ter apresentado o maior volume final de gases, não obteve o maior índice de degradação *in vitro* da matéria seca, contrapondo-se a Mizubuti et al. (2011), os quais afirmam que quanto maior for a degradação do alimento no rúmen, melhor será a qualidade fermentativa do mesmo, uma vez que há um maior equilíbrio entre energia e compostos nitrogenados disponibilizados aos microrganismos do rúmen. Segundo a literatura, o volume de gases produzidos, no mesmo período de incubação, refletirá na produção de ácidos graxos voláteis, que servirão como fonte energética para o animal (Getachew et al., 2004). No caso do coproduto do girassol, provavelmente os microrganismos colonizaram as partículas fibrosas do alimento e não esbarraram em estruturas bastante lignificadas, produzindo maior quantidade de acetato, dióxido de carbono e hidrogênio livre, conseqüentemente aumentando a produção de gás.

No entanto, o coproduto do pinhão manso apresentou a menor produção total de gás, esse decréscimo na produção está relacionado com a menor degradabilidade, corroborando com os resultados obtidos por Makkar et al. (1998); Makkar & Becker (1999).

Segundo Van Cleef (2008), em um estudo realizado confrontando a adição de tortas de pinhão manso e de nabo forrageiro à silagem de capim elefante, resultou em uma acentuada redução na digestibilidade *in vitro* da matéria seca para as silagens com pinhão manso.

Portanto, o coproduto do pinhão manso apesar de apresentar alto teor de proteína só deverá ser incluso na dieta de animais após ser detoxificado.

O comportamento do coproduto da moringa, que apresentou a maior degradabilidade ao nível de 70% de substituição, e a menor produção de gás, quando comparada ao girassol, indica que a moringa por conter propriedades antibacterianas, que podem se ligar a microbiota ruminal e capaz, em níveis baixos, de proteger as proteínas do alimento da degradação no rúmen, mas, em níveis elevados estas proteínas podem inibir o processo de fermentação ruminal (Beauchemin & Mcginn, 2005). Além disso, a produção de gás é o reflexo da eficácia e da extensão da degradabilidade do alimento, isso porque alimentos volumosos que apresentam alta degradabilidade ruminal da matéria seca tendem a apresentar também alta produção de gás, como também as forragens que têm maior DMS também tendem a ter maiores emissões de CH₄, associando isto ao percentual de gás produzido (Njidda & Nasiru, 2010). No aspecto produtivo, este coproduto destaca-se dentre os demais, pois apresentou indicadores que permitem utilizá-los em dietas para vacas leiteiras, uma vez que a alta taxa de degradabilidade pelo rúmen promoveria aumento na disponibilidade imediata de energia, o que provavelmente resultaria em maior produção de leite.

Os resultados obtidos com os coprodutos do pinhão manso, da moringa e da mamona permitem inferir que estes alimentos apresentam o mesmo comportamento quanto à fermentação ruminal, além do que acordam com Abdalla et al. (2008), que em pesquisa realizada com estes coprodutos apresentam que acima de 50% de substituição à forragem, menor será a produção total de gases.

CONCLUSÃO

Nas análises *in vitro*, os coprodutos oriundos da produção de biodiesel estudados, apresentaram características adequadas para inclusão na dieta de ruminantes em até 30%,

porém o coproduto da moringa pode substituir o capim elefante em até 70% mantendo uma redução na emissão de gases e nas perdas energéticas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), a FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de Minas Gerais) e a EMBRAPA Gado de Leite pelo auxílio ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C.; GODÓI, A.R.; CARMO, C.A.; EDUARDO, J.L.P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, especial, p.260-258, 2008.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP. **Boletim Mensal do Biodiesel**. Brasília, DF, 2010.
- ANDRADE JÚNIOR, P.P; MARTINS, C.A. Biodiesel and its strategic role in the Brazilian energy matrix: A Literature Review. **Engineering Research: Technical reports**, Los Angeles, v.4, n.5, p.1-18, 2013.
- BEAUCHEMIN, K.A and MCGINN, S.M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. **Journal of Animal Science**, Columbia, v.83, n.3, p.653-661, 2005.
- BONFIM, M.A.D.; SILVA, M.M.C.; SANTOS, S.F. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.4, p.15-26, 2009.
- FARIAS, M.S.; PRADO, I.N.; VALERO, M.V.; ZAWADZKI, F.; SILVA, R.R.; EIRAS, C.E.; RIVAROLI, D.C.; LIMA, B.S. Níveis de glicerina para novilhas suplementadas em pastagens: desempenho, ingestão, eficiência alimentar e digestibilidade. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.3, p.1177-1188, 2012.
- GETACHEW, G.; DePETERS, E.J.; ROBINSON, P.H.; FADEL, J.G. Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.123, n.1, p.547-559, 2005.
- GOES, R.; SOUZA, K.; PATUSSI, R.; CORNELIO, T.; OLIVEIRA, E.; BRABES, K. Degradabilidade *in situ* dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus coprodutos em ovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v.32, n.3, p.271-277, 2010.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 216 p.

MAKKAR, H.P.S.; ADERIBIGBE, A.O.; BECKER, K. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chemistry**, Philadelphia, v.62, n.2, p.207-215, 1998.

MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Plant toxins and detoxification methods to improve feed quality of tropical seeds - Review. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Korea, v.12, n.3, p.467-480, 1999.

MANIK, Y.; LEAHY, J.; HALOG, A. Social life cycle assessment of palm oil biodiesel: a case study in Jambi Province of Indonesia. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v.18, n.7, p.1386-1392, 2013.

NJIDDA, A.A.; NASIRU, A. *In vitro* gas production and dry matter digestibility of tannin-containing forages of semi-arid region of north-eastern Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, Pakistan, v.9, n.1, p.60-66, 2010.

MIZUBUTI, I.Y.; RIBEIRO, E. L. A.; PEREIRA, E. S.; PINTO, A. P.; FRANCO, A. L. C.; SYPPERCK, M. A.; DÓREA, J. R.; CUNHA, G. E.; CAPELARI, M. G. M.; MUNIZ E. B. Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alguns coprodutos gerados na cadeia do biodiesel pela técnica de produção de gás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.4, p.2021-2028, 2011.

OLIVEIRA, J.S.; ANTONIASSI, J.; FREITAS, S.C.; MÜLLER, M.D. Chemical composition of glycerin produced by biodiesel plants in Brazil and potential utilization in animal feeding. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.3, p.509-512, 2013.

SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **Institute Inc. User's Guide**, Cary, USA, 2003.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 2002. p.235.

SILVA, H.G.O.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F.; VELOSO, C.M.; CARVALHO, G.G.P.; CEZÁRIO, A.S.; SANTOS, C.C. Digestibilidade aparente de dietas contendo farelo de cacau ou torta de dendê em cabras lactantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.4, p.405-411, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II - Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Columbia, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOUZA, A.D.; FÁVARO, S.P.; VINHAS, ÍTAVO, L.C.V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo-forageiro e crambe. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.10, p.1328-1335, 2009.

VAN CLEEF, E.H.C.B. **Tortas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) e pinhão manso (*Jatropha curcas*): caracterização e utilização como aditivos na ensilagem de capim elefante**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, p.77, 2008.

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

VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C.; DEL MASTRO, N.L.; MAURICIO, R.; OWEN, E.; MOULD, F. L. Misleading relationships between in situ rumen dry matter disappearance, chemical analyzed and *in vitro* gas production and digestibility, of sugarcane baggage treated with varying levels of electron irradiation and ammonia. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.79, n.1, p.145-153, 1999.

CAPÍTULO II
FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA
DE COPRODUTOS DA CADEIA DO BIODIESEL EM SUBSTITUIÇÃO AO
CAPIM ELEFANTE.

A versão em inglês desse manuscrito será enviada ao periódico *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*

FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DE COPRODUTOS DA CADEIA DO BIODIESEL EM SUBSTITUIÇÃO AO CAPIM ELEFANTE.

Raissa Kiara Oliveira de Morais¹, Aderbal Marcos de Azevêdo Silva², Heloisa Carneiro³,
Leilson Rocha Bezerra⁴, Fabíola Franklin de Medeiros¹, Milenna Nunes Moreira¹

* Autor para correspondência

¹Estudante de pós graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brazil, email: raissa_kiara@hotmail.com

²Professor doutor do departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.

³Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais.

⁴Professor Doutor do departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Piauí, Piauí.

RESUMO

Objetivou-se neste experimento avaliar a fermentação ruminal *in vitro*, a produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e índices de pH e nitrogênio amoniacal (NH₃) de diferentes coprodutos gerados na cadeia produtiva do biodiesel, mediante o uso da técnica semiautomática da produção de gases *in vitro*, usando um delineamento estatístico com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos constituíram na substituição do *Pennisetum purpureum* pelos níveis crescentes 0%, 30%, 50% e 70% dos coprodutos do *Gossypium hirsutum*, da *Ricinus communis*, da *Moringa oleifera*, do *Jatropha curcas* e do *Helianthus annuus*. O coproduto do *Helianthus annuus* apresentou a maior produção de acetato e butirato, conseqüentemente a maior produção de CO₂ e CH₄. O coproduto da *Moringa oleifera* apresentou a maior produção de propionato e menor produção de gases de efeito estufa. O coproduto da *Moringa oleifera* pode substituir o capim elefante em até 70% e, ainda assim, reduzir a emissão de gases poluentes e diminuir as perdas energéticas para o animal.

Palavras-chave: Acetato, propionato, CH₄, CO₂, NH₃.

INTRODUÇÃO

Os ruminantes têm como base alimentar as forrageiras tropicais em virtude da capacidade de ingerirem e digerirem alimentos ricos em fibras, portanto, para se conseguir uma elevada eficiência da produção animal necessita-se maximizar a utilização da energia fornecida pelas plantas forrageiras, porém observam-se índices zootécnicos abaixo do potencial produtivo. Além disso, os ruminantes, por todo mundo, são fontes permanentes de discussão e continuam sendo apontados como principais produtores de gases de efeito estufa (GEE), devido ao processo digestivo de fermentação entérica, produzindo principalmente CH_4 e CO_2 , isso porque o acúmulo desses gases é considerado a principal causa do aquecimento global (Chizzotti et al., 2008).

O Brasil vem realizando cada vez mais pesquisas para avaliar o valor nutritivo das forragens e buscar alimentos alternativos que permitam deduzir estratégias de manejo. Isto porque o País possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e atualmente é alvo de várias críticas baseadas no desflorestamento para expansão de pastagens e nos baixos índices zootécnicos verificados em sistemas de exploração bovina que atualmente ocorrem baseados em pastagens degradadas ou que se encontram abaixo do seu potencial de produção, gerando como consequência maiores quantidades de GEE por quilo de carne e de leite produzidos (IPCC, 2013). Esses ajustes podem permitir maior desempenho produtivo dos animais e, ao mesmo tempo, reduzir a excreção de produtos para o ambiente, visto que a produção desses gases pode variar em função da dieta implantada na atividade de produção.

Uma das estratégias pesquisadas é a utilização de coprodutos da produção de biodiesel, uma vez que a maioria das tortas ou farelos das oleaginosas que vêm sendo utilizadas para produção de biodiesel são passíveis de utilização na alimentação animal (Abdalla et al., 2008), porém cada uma com suas particularidades no que diz respeito à digestibilidade e a alguns fatores antinutricionais que possuem.

Sendo assim, objetivou-se abordar os aspectos quantitativos da produção de CH_4 e CO_2 , bem como avaliar os índices fermentativos de coprodutos do biodiesel.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e Amostragem das forragens e do coproduto

O experimento foi conduzido em Abril de 2012, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, em Coronel Pacheco, de propriedade da Embrapa Gado de Leite (CNPGL), localizado na Zona da Mata de Minas Gerais/MG.

Amostras de, aproximadamente, 300g de cada coproduto resultante do processamento ou da extração do óleo vegetal foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG. Para as análises químicas e dos gases.

Os substratos utilizados para incubações *in vitro* foram o capim elefante (*Pennisetum purpureum*) como controle e os coprodutos: torta de algodão (*Gossypium hirsutum*), farelo de mamona (*Ricinus communis*), moringa (*Moringa oleifera*), farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*), torta de girassol (*Helianthus annuus*).

Foram formuladas dietas, substituindo capim elefante (controle) pelos coprodutos nas seguintes proporções 70/30, 50/50 e 70/30% (volumoso/coproduto). Os ingredientes das dietas após serem secos a 55°C durante 48 horas, posteriormente moídos a 1 mm. Em seguida pesados 0,5 g de matéria seca (MS) da amostra para um saco de ANKOM® (F57) com seis repetições / tratamento, selados e colocados dentro de frascos de vidro de soro do tipo cor âmbar de 50 mL, previamente lavados com água destilada, secos em estufa e identificados.

Análise química

Os substratos compostos pelos coprodutos e pela forragem foram pré-secos em estufas de ventilação forçada a 55°C por 48h. Depois moídos em moinho do tipo Wiley dotado de peneira com perfurações de 1,0 mm para determinação da matéria seca (MS) em estufa a 105°C de acordo com os procedimentos gerais descritos por Silva e Queiroz (2002), proteína bruta (PB) pelo método kjeldahl; fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método Van Soest (1991); e de extrato etéreo (EE). Os carboidratos totais (CHOT) foram obtidos por intermédio da equação $100 - (\% PB + \% EE + \% Cinzas)$ descrita por Sniffen et al. (1992). A composição química de todos os coprodutos e da forragem encontra-se no Tabela 1.

Determinação da degradabilidade in vitro da matéria seca

Utilizaram-se três vacas da raça Holandesa com peso médio de 600 kg e providas de fístulas no rúmen, para a coleta do líquido ruminal, que foi transferido para garrafas

térmicas previamente aquecidas a 39°C e levados imediatamente ao laboratório. No laboratório, o conteúdo ruminal foi homogenizado e filtrado em duas camadas de tecido de algodão, sendo mantido em banho-maria a 39°C sob saturação de CO₂, até serem adicionadas as demais soluções (tampão, macro e microminerais solução de resazurina e meio B) para o meio de cultura.

Para preparação do meio de cultura foi utilizado o líquido ruminal e solução tampão (Vitti et al., 1999) em uma proporção de 5:1. O inóculo (30 mL) foi então transferido para os frascos de incubação, posteriormente lacrados e colocados em um agitador orbital cremalheira fixado em 120 oscilações por minuto em uma incubadora a 39°C.

Ensaio in vitro de produção de gases e medição de pH

No início do ensaio, para determinar a produção de gás, foram pesados 0,5g de matéria seca (MS) da amostra, introduzidos para um saco de ANKOM[®] (F57) com seis repetições por tratamento, selados e colocados dentro de frascos de vidro de cor âmbar de 50 ml, previamente lavados com água destilada, secos em estufa e identificados.

O inóculo (30 ml) foi transferido para os frascos de incubação, sendo neste experimento utilizado 150 frascos referentes às seis repetições de cada tratamento, seia eram do grupo controle (brancos) que tiveram a função de determinar a produção de gás proveniente do conteúdo ruminal para futuras correções da produção líquida de gases. Posteriormente foram lacrados e colocados em uma incubadora de agitador orbital cremalheira, fixado em 120 oscilações por minuto, a 39° C.

Os parâmetros de produção de gases *in vitro* de cada frasco foram medidos às 48 horas após a incubação, utilizando um aparelho semiautomático de deslocamento de água graduado em ml.

Após a medição do gás, 48 horas pós-incubação, procedeu a coleta e armazenamento do gás proveniente de cada frasco, para determinação da concentração de CH₄ e CO₂. O gás contido em cada frasco foi removido por meio de seringas plásticas de 30 cc e transferido imediatamente para frascos de cor âmbar de 20 cc a vácuo, para conservação das amostras.

Posteriormente os frascos de fermentação foram abertos e feito a aferição do pH do meio de cultura utilizando um medidor de pH (Orion modelo 260A, Fisher Scientific, Toronto, ON, Canadá).

O percentual de CH₄ e CO₂ foi determinado no Laboratório de Cromatografia da EMBRAPA - Gado de Leite, localizada na cidade de Juiz de Fora – MG, utilizando um aparelho de cromatografia gasosa (Fedorak e Hrudey, 1983).

A partir do percentual da produção de gases, foi calculado o seu volume correspondente à produção acumulada de gás em 48 horas do processo fermentativo, corrigido para cada uma grama de matéria seca degradada. Os resultados de metano e o dióxido de carbono foram expressos em g/MS.

Determinação de ácidos graxos voláteis (AGVs) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃)

Para determinação, que identificava e quantificava os tipos e níveis dos ácidos graxos voláteis (AGVs), foi coletada uma porção (10 mL) líquida do meio de cultura após a degradabilidade (48 h) e adicionada ao meio de 2 mL de ácido metafosfórico (20%) para conservação da amostra, e em seguida armazenada em freezer até posteriores análises (Holtshausen et al., 2009).

Para identificação e quantificação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃), foi coletada uma fração líquida do meio de cultura (10 mL) após a digestibilidade (48 horas) e adicionada ao meio 0,4 mL do ácido sulfúrico, H₂SO₄, a 50% para conservação da amostra, em seguida armazenado em freezer para posteriores análises (Holtshausen et al., 2009).

Análise estatística experimental

O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso num arranjo fatorial 5 x 4 (coprodutos e níveis de substituição). As variáveis foram submetidas a uma análise de variância (PROC ANOVA), em que nos efeitos de interação aplicou-se o teste tukey (p<0,05) entre os coprodutos dentro de cada nível de substituição e dos níveis de substituição dentro de cada coproduto. Os resultados dos níveis crescentes foram interpretados estatisticamente por meio do modelos de regressão pelo PROC REG (SAS, 2003).

RESULTADOS

De acordo com os resultados observados na Tabela 1, verifica-se que os coprodutos analisados são passíveis de utilização na alimentação de ruminantes. Nota-se que o coproduto moringa apresentou maior concentração proteica, melhor DIVMS, baixos índices de fibras (FDN, FDA e lignina). Entre os coprodutos analisados, o do pinhão

manso e o do girassol apresentaram os menores valores de proteína bruta (356,9 e 329,4 g/Kg, respectivamente), os altos índices de FDN (423,3 e 439,7g/Kg) foram apresentados pelos coprodutos da mamona e do girassol, assim como os maiores valores de FDA (383,4 e 384,0 g/kg) e lignina (154,4 e 120,4 g/kg, respectivamente). Os valores mínimos de FDN foram apresentados pelo coproduto da moringa e do algodão (202,7 e 303,6 g/Kg, respectivamente).

Analisando a produção de ácidos graxos voláteis e os índices de pH (Tabela 2) observa-se interação dependente entre o efeito de alguns coprodutos e os níveis de substituição do capim elefante.

Nota-se que, entre os níveis de substituição, o coproduto do girassol apresentou maior produção de ácido acético ($p < 0,05$) ao nível de 50% de substituição ($34,32 \mu\text{mol mL}^{-1}$), não diferindo do coproduto do algodão ($p > 0,05$) que, ao nível de 30% de substituição produziu $32,92 \mu\text{mol mL}^{-1}$. O coproduto da moringa apresentou a menor produção desse AGV ($p > 0,05$), principalmente ao nível de 70% quando produziu apenas $26,25 \mu\text{mol mL}^{-1}$, porém não diferiu dos coprodutos da mamona e do pinhão manso.

A análise de regressão para a produção de acetato demonstrou que os coprodutos do algodão e do girassol, os quais obtiveram o maior volume produzido, foram representados pelo modelo quadrático. Para o coproduto do algodão observa-se que nível ótimo de produção só seria encontrado ao nível de 60% e para o coproduto girassol ao nível de 46,66% obtém-se o ponto de mínima com o volume de produção de $32,71 \mu\text{mol mL}^{-1}$.

Os resultados exibidos para a produção de propionato apresentaram comportamento linear para os coprodutos da mamona, da moringa e do girassol. Para o coproduto do algodão e o da mamona apresentaram efeito linear foi negativo, ou seja, à medida que se aumentava a unidade percentual de substituição, ocorria uma queda na produção desse gás de 0,003 e 0,02%, respectivamente. O efeito linear, para os coprodutos da moringa e do girassol, foi positivo, portanto quando se aumentava os níveis de substituição, acrescia na produção de propionato 0,05 e 0,04%, respectivamente. Analisando as médias de produção desse gás, nota-se que a maior produção ($p < 0,05$) foi apresentada pelo coproduto da moringa ($15,57 \mu\text{mol mL}^{-1}$) e a menor foi ($p < 0,05$) apresentada pelo coproduto da mamona ($9,81 \mu\text{mol mL}^{-1}$), ambas a 70% de substituição. Além disso, à medida que ocorria a substituição entre os níveis (30 a 70%) os coprodutos do algodão, da mamona e do pinhão manso diminuía a produção diferentemente do que ocorreu com os coprodutos da moringa e do girassol, que aumentaram o volume produzido com o aumento dos níveis.

As médias de produção do butirato apresentaram dependência entre os coprodutos e os níveis de substituição. O coproduto do algodão apresentou o maior ($p < 0,05$) volume produzido ($5,06 \mu\text{mol mL}^{-1}$), por outro lado o coproduto da moringa foi o que produziu o menor volume ($3,13 \mu\text{mol mL}^{-1}$), ambos ao nível de 30%. Observa-se na análise de regressão que os coprodutos da moringa e da mamona não apresentaram comportamentos expressivos. Mas, os coprodutos do algodão e do girassol apresentaram efeito quadrático, sendo o nível de 43,75% o de máxima produção de butirato para o do algodão e o nível de 42,85% o de menor produção para o do girassol. Para o coproduto do pinhão manso foi observado efeito linear negativo, decrescendo 0,003% a cada unidade percentual de substituição.

Observou-se neste estudo que ocorreu interação dos níveis de substituição pelos coprodutos para a variável pH apenas para o coproduto do girassol, em um intervalo de tempo de 48 horas. Analisando os coprodutos dentro dos níveis de substituição ao capim elefante nota-se que, em todos os níveis de substituição, os coprodutos, exceto o girassol, apresentaram os maiores índices de pH, porém não diferindo entre si. O coproduto do girassol apresentou os menores índices ($p < 0,05$) em todos os níveis de substituição, demonstrando um comportamento quadrático, sendo o ponto máximo ($\text{pH} = 7,42$) obtido ao nível de 50%.

Os resultados obtidos para a produção de gases de efeito estufa (CO_2 e CH_4) estão apresentados na Tabela 3. Ao analisar o volume de produção desses gases, verifica-se uma interação dependente entre o efeito dos coprodutos e os níveis de substituição do capim elefante.

Analisando as médias de produção do dióxido de carbono (CO_2) dentro de cada coproduto, nota-se que a maior produção ocorreu com o coproduto do girassol, que variou de 76.44 a 61.38 mL/g MS, entre os níveis 30 e 70% de substituição. As menores médias de produção foram reveladas pelos coproduto do pinhão manso, da moringa e da mamona em todos os níveis. Porém, ao analisar cada nível de substituição, individualmente, nota-se que nos níveis de 30% e 50% a maior e a menor produção foram para os coprodutos do girassol (76.44 e 72.66 mL/g MS) e do pinhão manso (26.30 e 22.06 mL/g MS), respectivamente, diferenciando-se apenas do nível de 70% de substituição, quando a menor produção foi obtida para o coproduto da mamona (19.04 mL/g MS), o maior volume produzido permaneceu sendo do coproduto do girassol (61.38 mL/g MS).

As médias de produção de gás metano (CH_4) revelaram que a máxima produção foi obtida pelo coproduto do girassol em todos os níveis de substituição e a menor pelo coproduto da moringa. Analisando os níveis, nota-se que o maior índice de produção do girassol foi a 30% e a menor produção do coproduto da moringa foi a 70%.

Considerando as equações representativas de dióxido de carbono, atina-se que os coprodutos da mamona, da moringa, do pinhão manso e do girassol apresentaram comportamento quadrático. O comportamento quadrático do coproduto da mamona para a produção de CO_2 apresentou no nível de 49,5% a máxima produção (38,71 mL/g MS); O coproduto da moringa, quando substituído em 4,45% alcançaria a menor produção (12,57 mL/g MS) e para o coproduto do girassol, percebe-se que o ponto ótimo (produção de 84,71 mL/g MS) foi obtido ao nível de 49,16%. Já para o coproduto do pinhão manso a máxima produção seria obtida ao nível de 43,2%.

Analisando o efeito da adição dos coprodutos em relação à produção de metano, nota-se que já para a produção de CH_4 , as equações de regressão apresentaram comportamentos diferentes entre os coprodutos. O coproduto da moringa apresentou um comportamento quadrático, a menor produção (1,53 mL/g MS) seria obtida ao nível de 8,12% de substituição.

Os coprodutos do algodão, do pinhão manso e do girassol apresentaram efeito linear positivo para a produção de CH_4 , isso é à medida que se aumentavam a inclusão de coprodutos, por unidades percentuais, era acrescido à produção 0,06; 0,014 e 0,11, respectivamente para estes coprodutos.

Observou-se para a produção de amônia que houve efeito de interação dos níveis de substituição do capim elefante pelos coprodutos do biodiesel. Analisando os coprodutos dentro dos níveis de substituição que os coprodutos do algodão, da moringa e do girassol foram os que mais produziram NNH_3 , enquanto que a menor produção foi verificada para o coproduto do pinhão manso ($p < 0,05$).

Os coprodutos do algodão e do girassol foram afetados ($p < 0,05$) pelos níveis de substituição, apresentando resposta linear crescente, visto que a cada unidade percentual do nível de substituição desses coprodutos ocorrerá um aumento de 0,32 mg/dL na produção de NNH_3 . Porém, os coprodutos da mamona e da moringa apresentaram resposta quadrática em relação à produção de NNH_3 , pelos níveis de substituição ao capim elefante. Sendo 54,28% o nível que promoveu o ponto de máxima produção (41 mg/dL) da

produção de NH_3 para o coproduto da moringa. Para o coproduto da mamona o ponto de interseção foi obtido ao nível de 54%.

DISCUSSÃO

Os estudos demonstram o adequado valor nutricional de coprodutos da produção de biodiesel (Silva et al., 2005; Souza et al., 2009) surgindo como alternativa para diminuir os custos com dietas balanceadas para alimentação de ruminantes.

Um dos principais fatores negativos à sua utilização na dieta dos animais é a presença de elevados teores de lignina e de gordura, o que provavelmente influenciam negativamente na degradação de carboidratos fibrosos e não fibrosos (Mizubuti et al., 2011; Oliveira et al., 2013). Os valores dos constituintes fibrosos (FDN, FDA e lignina) apresentados neste trabalho foram superiores aos valores relatados por Goes et al. (2010), exceto para os coprodutos da moringa e do algodão.

O processo de fermentação, que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos ingeridos pelos ruminantes, efetuado pelos microrganismos ruminais, converte os carboidratos em ácidos graxos voláteis (AGVs), ácidos acético, propiônico e butírico, como também outros produtos como CO_2 e CH_4 (Berchielli et al., 2006). A produção desses ácidos é considerada a principal fonte de energia para os ruminantes (Getachew et al., 2004).

Rações com alta proporção de carboidratos estruturais favorecem a produção de acetato e butirato (Lin et al., 2013). Os resultados obtidos nesse estudo para o coproduto do girassol confirmam a citação anterior, uma vez que apresentou altos índices de compostos fibrosos e a maior produção para acetato, porém não confirmam a baixa produção para o coproduto da mamona e, neste caso, o que pode justificar a baixa produção de acetato é provavelmente o menor teor de celulose e, como observado na Tabela 1, o alto teor de lignina desse coproduto que tende a aumentar a fração indigestível e reduzir a porção digestível, além disso, a presença de compostos antinutricionais como a proteína da ricina, por ser altamente tóxica, o que também pode ter influenciado negativamente a degradabilidade deste alimento corroborando com os dados obtidos por Madeira et al. (2011).

Já a alta produção de acetato pelo coproduto do algodão está de acordo com a citação de Horner et al. (1988), que relataram que dietas contendo caroço de algodão aumentam de 15 a 30% a produção de acetato. Logo, pode-se dizer que o coproduto do

girassol e o do algodão podem ser considerados, entre os coprodutos analisados, os que proporcionam maior síntese de gordura na produção animal, uma vez que o ácido acético é o precursor da gordura do leite e da carne

Estudos demonstram que diminuições na produção de butirato têm sido relacionadas a altas porcentagens de carboidratos solúveis e ao uso de fontes oleaginosas na dieta de bovinos, indicando queda no número ou na atividade de alguns microrganismos, em razão do efeito tóxico dos lipídios (Balieiro Neto e Melotti, 2007; Patra e Yu, 2012; Hristov et al., 2011). Este efeito pode ser observado, neste trabalho uma vez que os coprodutos apresentaram diminuição na produção de butirato à medida que crescia os níveis de substituição, principalmente o coproduto do pinhão manso ao nível de 70%, que resultou no menor índice de produção, justamente pela alta quantidade de extrato etéreo e carboidratos apresentados na composição química (Tabela 1), além disso a presença de compostos antinutricionais podem ter influenciado negativamente essa produção.

Devido aos carboidratos rapidamente fermentáveis, o coproduto da moringa apresentou as maiores concentrações de propionato, diminuindo a relação acetato:propionato (A:P), como observado na Tabela 3, isso porque a síntese de propionato é um bom indicativo para sua possível utilização em dietas de vacas leiteiras, uma vez que a alta taxa de produção desse AGV promoveria aumento na disponibilidade imediata de energia, o que provavelmente resultaria em maior produção de leite, assim como encontrado por Melesse et al. (2013).

Corroborando com os resultados apresentados por Olivares-Palma et al. (2011), o coproduto da mamona resultou em níveis mais elevados na relação A:P, isso porque quanto maior for a quantidade de compostos fibrosos, maior será essa relação, sendo assim percebe-se que a produção de propionato pode estar relacionada à alta qualidade da matéria orgânica (Relling et al., 2001).

Os índices de pH, provenientes da substituição do capim elefante pelos coprodutos estão de acordo com os valores citados por Van Soest (1994), de $6,7 \pm 0,5$, tornando o ambiente satisfatório para que a atividade microbiana ocorra normalmente

Na análise de produção do CO_2 (Tabela 4), a alta produção apresentada pelo coproduto do girassol, reflete diretamente a produção do acetato, isso porque a produção de acetato gera dois moles de CO_2 por mol de glicose (Kozloski, 2009). Por outro lado o baixo volume de produção apresentado pelo coproduto da moringa ao nível de 70% pode

ser explicado por duas hipóteses: a primeira é que a síntese de propionato é a única que necessita da presença de hidrogênio e não gera dióxido de carbono (Pedreira et al., 2005; Velásquez et al., 2010); a segunda é devido ao alto valor proteico deste coproduto (577,0 g/Kg), pois, de acordo com Khazaal et al. (1995), a incubação de substratos ricos em proteína resultaria na formação de bicarbonato de amônio, a partir de CO₂ e amônia, reduzindo, assim, a contribuição de CO₂ para a produção total de gás.

O elevado teor de carboidratos não fibrosos e baixas concentrações de FDN e FDA, podem caracterizar a qualidade de um alimento e estão geralmente relacionados a uma menor proporção da energia dietética que é convertida para metano (Eun et al., 2004; Machado et al., 2011). Estudos *in vitro* têm demonstrado acréscimo na produção de CH₄ com o aumento no teor de FDN (Getachew et al., 2005; Rivera et al., 2010). Sendo assim, no presente estudo, a inclusão do coproduto da moringa, a partir de 50% de substituição, resultou em menor quantidade de metano, sendo proporcionalmente igual a relação de acetato:propionato, o que resulta em menor desperdício de energia na forma de CH₄.

A produção de CH₄, para o coproduto do girassol e do algodão (Tabela 4), foi diretamente relacionada à produção de acetato e butirato, isso porque o excesso H₂ liberado pela produção desses AGVs é aproveitado pelas bactérias metanogênicas produzindo o metano (Tedeschi et al., 2003). Resultados semelhantes a esse também foram encontrados por Franco et al. (2013), que encontraram maiores valores de produção de metano por grama de MS degradada em dietas de melhores valores nutricionais, ao avaliarem, por meio da técnica *in vitro* semi automática de produção de gases.

Os microrganismos ruminais catabolizam proteínas e produzem amônia no rúmen, principalmente como fonte de energia para a síntese microbiana (Mohammed et al., 2004). Sabe-se que o nível de amônia ruminal ótimo é em torno de 10 mg/dL (Van Soest, 1994), os resultados obtidos nesse trabalho, acima de 28 mg/dL para todos os coprodutos em substituição ao capim elefante, estão acima dos níveis recomendados. A partir desse nível considerado ótimo o nitrogênio em excesso será absorvido pela corrente sanguínea e, no fígado, será metabolizado para sua excreção na forma de ureia, com gastos de, em média, 2 ATP para cada molécula de amônia, portanto, trazendo prejuízo energético para o animal.

CONCLUSÃO

Os coprodutos do algodão e do girassol permitem maior biodisponibilidade de gordura para produção animal, porém, são maiores produtores de gases efeito estufa.

O coproduto da moringa é o mais indicado para substituição do capim elefante podendo contribuir na redução de emissão de gases poluentes.

O principal fator limitante para o uso desses coprodutos é a produção de amônia.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), a FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de Minas Gerais) e a EMBRAPA Gado de Leite pelo auxílio ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

Abdalla, A.L.; Silva Filho, J.C.; Godói, A.R.; Carmo, C.A.; Eduardo, J.L.P., 2008: Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, p.260-258.

Baleiro Neto, G.; Melloti, L., 2007: Produção de ácidos graxos voláteis e contagem de protozoários ruminais em bovinos suplementados com gordura. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 44, 115-121.

Berchielli, T. T.; Pires, V.A.; Oliveira, S.G., 2006: *Nutrição de Ruminantes*. Funep, Jaboticabal, BRA.

Chizzotti, M. L.; Tedeschi, L. O.; Valadares Filho, S. C., 2008: A metaanalysis of energy and protein requirements for maintenance and growth of Nellore cattle. *Journal of Animal Science* 86, 1588-1597.

Eun, J.S.; Fellner, V.; Gumpertz, M.L., 2004: Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual flow fermentors. *Journal of Dairy Science* 87, 112-121.

Franco, A.L.C.; Mizubuti, I.Y.; Azevêdo, J.A.G.; Ribeiro, E.L.A.; Pereira, E.S.; Peixoto, E.L.T.; Ferreira, D.M.F.; Andrade Neto, A.Q., 2013: Fermentação ruminal e produção de metano *in vitro* de dietas contendo torta de algodão. *Semina: Ciências Agrárias* 34, 1955-1966.

Getachew, G.; Depeters, E.J.; Robinson, P.H.; Fadel, J.G., 2005: Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. *Animal Feed Science and Technology* 123, 547-559.

Goes, R.; Souza, K.; Patussi, R.; Cornelio, T.; Oliveira, E.; Brabes, K., 2010: Degradabilidade *in situ* dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus coprodutos em ovinos. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 32, 271-277.

Horner, J. L.; Coppock, C. E.; Schelling, G.T.; Labore, J.M.; Nave, D.H. 1998: Effects of whole cottonseed on ruminal fermentation, protein degradability, milk yield and composition and responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71, 1239-1247.

Holtshausen, L.; Chaves, A.V.; Beauchemin, K.A.; McGinn, S.M.; McCallister, T.A.; Odongo, N.E.; Cheeke, P.A.; Benchaar, C., 2009: Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92, 2809-2821.

Hristov, A.N.; Domitrovich, C.; Wachter, A.; Cassidy, T.; Lee, C.; Shingfield, J.; Kairenius, P.; Davis, J.; Brown, J., 2011: Effect of replacing solvent-extracted canola meal with high-oil traditional canola, high-oleic acid canola, or high-erucic acid rapeseed meals on rumen fermentation, digestibility, milk production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94, 4057-4074.

IPCC. The SRES emission scenarios: the IPCC Data Distribution Centre. Disponível em: <<http://sedac.ciesin.columbia.edu/ddc/sres/index.html>>. Acesso em: 27 de out. 2013.

Khazaal, K.; Dentinho, M.T.; Ribeiro, J.M., 1995: Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fiber components, *in vitro* digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. *Animal Science* 61, 527-538.

Kozloski, G.V., 2009: *Bioquímica dos ruminantes*, 2.ed. UFSM, Santa Maria, BRA.

Lin, B.; Wang, J.H.; Lu, Y.; Liang, Q.; Liu, J.X., 2013: *In vitro* rumen fermentation and methane production are influenced by active components of essential oils combined with fumarate. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 97, 1-9.

Machado, F.S.; Pereira, L.G.R.; Guimarães Júnior, R.; Lopes, F.C.F.; Chaves, A.V.; Campos, M.M.; Morenz, M.J.F., 2011: *Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação*. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, BRA.

Madeira, J.V.; Macedo, J.A.; Macedo, G.A., 2011: Detoxification of castor bean residues and the simultaneous production of tannase and phytase by solid-state fermentation using *Paecilomyces variotii*. *Bioresour Technology* 102, 7343-7348.

Melesse, A.; Steingass, H.; Boguhn, J.; Rodehutschord, M., 2013: *In vitro* fermentation characteristics and effective utilizable crude protein in leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* cultivated at low and mid-altitudes. *Animal Physiology and Animal Nutrition* 97, 1439-0396.

Mizubuti, I.Y.; Ribeiro, E. L. A.; Pereira, E. S.; Pinto, A. P.; Franco, A. L. C.; Syperreck, M. A.; Dórea, J. R.; Cunha, G. E.; Capelari, M. G. M.; Muniz, E. B., 2011: Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alguns coprodutos gerados na cadeia do biodiesel pela técnica de produção de gás. *Semina: Ciências Agrárias* 32, 2021-2028.

Mohammed, N.; Onodera, R.; Itabashi, H.; Lila, Z.A., 2004: Effects of ionophores, vitamin B6 and distiller's grains on *in vitro* tryptophan biosynthesis from indolepyruvic acid, and

production of other related compounds by ruminal bacteria and protozoa. *Animal Feed Science and Technology* 116, 301-311.

Olivares-Palma, S.M.; Meale, S.J.; Pereira, L.G.R.; Machado, F.S.; Carneiro, H.; Lopes, F.C.F.; Mauricio, R.M.; Chaves, A.V., 2013: *In vitro* Fermentation, Digestion Kinetics and Methane Production of Oilseed Press Cakes from Biodiesel Production. *Asian Australian Journal of Animal Sciences* 26, 1102-1110.

Oliveira, J.S.; Antoniassi, J.; Freitas, S.C.; Müller, M.D., 2013: Composição química da glicerina produzida por usinas de biodiesel no Brasil e potencial de uso na alimentação animal. *Ciência Rural* 43, 509-512.

Patra, A.K.; Yu, Z., 2012: Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and Abundance and Diversity of, Rumen Microbial Populations. *Applied and Environmental microbiology* 78, 4271-4280.

Pedreira, M.S.; Oliveira, S.G.; Berchielli, T.T.; Primavesi, O., 2005: Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. *Archives of Veterinary Science* 10, 24-35.

Relling, E. A.; Van Niekerk, W. A.; Coertze, R. J.; Rethman, N.F.G., 2001 An evaluation of *Panicum maximum* cv. Gatton: 2. The influence of stage of maturity on diet selection, intake and rumen fermentation in sheep. *Journal of Animal Science* 31, 85-91.

Rivera, A.R.; Berchielli, T.T.; Messana, J.D.; Velasquez, P.T.; Franco, A.V.M.; Fernandez, L.B., 2010: Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 617-624.

SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. *Institute Inc. User's Guide*, Cary, USA, 2003.

Silva, D.J.; Queiroz, A.C., 2002: *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*, Editora UFV, Viçosa, BRA.

Silva, H.G.O.; Pires, A.J.V.; Silva, F.F.; Veloso, C.M.; Carvalho, G.G.P.; Cezário, A.S.; Santos, C.C., 2005: Digestibilidade aparente de dietas contendo farelo de cacau ou torta de dendê em cabras lactantes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40, 405-411.

Souza, A.D. de; Fávaro, S.P.; Vinhas, Ítavo, L.C.V.; ROSCOE, R., 2009: Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forageiro e crambe. *Pesquisa agropecuária brasileira* 44, 1328-1335.

Sniffen, C.J.; O'connor, J.D.; Van Soest, P.J.; Fox, D.G.; Russell, J.B., 1992: A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II - Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science* 70, 3562-3577.

Van Soest, P.J., 1994: *Nutritional ecology of the ruminant*, 2^a ed. Comstock Publishing Associates, London, GBR.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A., 1991: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.

Velásquez, P.A.T.; Berchielli, T.T.; Reis, R.A.; Rivera, A.R.; Dian, P.H.M.; Almeida, I.A.M., 2010: Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade *in vitro* de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1206-1213.

Vitti, D.M.S.S.; Abdalla, A.L.; Silva Filho, J.C.; Del Mastro, N.L.; Mauricio, R.; Owen, E.; Mould, F., 1999: Misleading relationships between *in situ* rumen dry matter disappearance, chemical analyzed and *in vitro* gas production and digestibility, of sugarcane baggage treated with varying levels of electron irradiation and ammonia. *Animal Feed Science and Technology* 79, 145-153.

Tedeschi, L.O.; Fox, D.G.; Tylutki, T.P., 2003: Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. *Journal Environment Quarterly* 32, 1591-1602.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Composição química (g/Kg) do capim elefante (controle), algodão, moringa, pinhão manso, girassol e mamoma.....	42
Tabela 2. Valores médios e equações de regressão das concentrações de acetato, propionato, butirato e pH do meio de cultura, após 48 horas de incubação.....	43
Tabela 3. Efeito da inclusão de coprodutos sobre a relação acetato: propionato.....	44
Tabela 4. Valores médios e equações de regressão das concentrações de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e nitrogênio amoniacal (NNH₃), após 48 horas de incubação.....	45

Tabela 1. Composição química (g/Kg) do capim elefante (controle), algodão, moringa, pinhão manso, girassol e mamona

Coproduto	MS	PB	FDN	FDA	LIG	EE	CZ	CHOT	CNF	DIVMS
C. elefante	882,3	126,1	555,0	351,1	144,4	14,2	25,4	834,3	279,3	591,4
Algodão	929,1	549,9	303,6	207,7	32,1	40,3	68,3	341,5	37,9	595,6
Moringa	901,2	577,6	202,7	80,5	10,3	84,8	49,8	287,8	85,1	791,3
Pinhão manso	920,7	356,9	391,4	334,5	43,4	110,6	79,5	453,0	61,6	571,3
Girassol	914,5	329,4	439,7	384,0	120,4	162,0	41,3	467,3	27,6	463,1
Mamona	912,6	420,2	423,3	383,4	154,4	43,8	42,3	493,6	70,3	497,1

***MS**- matéria seca; **PB**- proteína bruta; **FDN**- fibra em detergente neutro; **FDA**- fibra em detergente ácido; **LIG**- lignina; **EE**- extrato etéreo; **CZ**- cinzas; **DIVMS**- digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Tabela 2: Valores médios e equações de regressão das concentrações de acetato, propionato, butirato e pH do meio de cultura, após 48 horas de incubação.

	Coproductos	Níveis de substituição do capim elefante				Equações	R ²	P-value
		0	30	50	70			
Acetato ($\mu\text{mol/mL}$)	Algodão	26,51	32,92 ^A	30,01 ^A	30,33 ^A	Y= 26,84+0,24x-0,002x ²	0,56	0,02
	Mamona	26,51	29,06 ^A	29,04 ^A	27,87 ^{AB}	Y= 27,33	0,05	0,48
	Moringa	26,51	25,98 ^B	26,65 ^B	26,25 ^B	Y=26,39	0,0001	0,97
	Pinhão manso	26,51	31,03 ^A	26,76 ^{AB}	26,65 ^B	Y= 28,11	0,007	0,78
	Girassol	26,51	30,47 ^A	34,32 ^A	30,16 ^A	Y= 26,18+0,28-0,003x ²	0,57	0,03
Propionato ($\mu\text{mol/mL}$)	Algodão	11,76	13,34 ^A	11,94 ^{AB}	11,76 ^{AB}	Y= 12,34-0,003x	0,39	0,03
	Mamona	11,76	11,76 ^A	10,53 ^B	9,81 ^B	Y= 12,07-0,02x	0,37	0,03
	Moringa	11,76	12,55 ^A	14,26 ^A	15,57 ^A	Y= 11,44+0,05X	0,33	0,04
	Pinhão manso	11,76	12,74 ^A	10,73 ^{AB}	10,94 ^{AB}	Y= 12,20	0,08	0,36
	Girassol	11,76	13,33 ^A	15,51 ^A	14,41 ^A	Y= 12,05+0,04x	0,53	0,0069
Butirato ($\mu\text{mol/mL}$)	Algodão	3,34	5,06 ^A	4,73 ^A	4,52 ^A	Y=3,39+0,074x-0,0008x ²	0,86	0,0003
	Mamona	3,34	3,85 ^{AB}	3,75 ^{AB}	3,68 ^{AB}	Y= 3,48	0,11	0,29
	Moringa	3,34	3,13 ^B	3,60 ^{AB}	3,26 ^B	Y=3,30	0,004	0,84
	Pinhão manso	3,34	4,25 ^{AB}	3,40 ^B	3,18 ^B	Y= 3,70-0,003x	0,46	0,02
	Girassol	3,34	4,46 ^{AB}	4,74 ^A	4,05 ^{AB}	Y= 3,32+0,06x-0,0007x ²	0,75	0,022
pH	Algodão	6,65	6,62 ^A	6,63 ^{AB}	6,68 ^A	Y= 6,63	0,009	0,65
	Mamona	6,65	6,64 ^A	6,69 ^A	6,72 ^A	Y=6,64+0,001x	0,20	0,02
	Moringa	6,65	6,61 ^A	6,66 ^{AB}	6,66 ^A	Y= 6,64	0,01	0,06
	Pinhão manso	6,65	6,53 ^A	6,57 ^A	6,57 ^A	Y= 6,62	0,01	0,06
	Girassol	6,65	6,44 ^B	6,39 ^C	6,47 ^B	Y=6,67-0,01x+0,0001x ²	0,81	<0001

*Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey. R², coeficiente de regressão e p, probabilidade.

Tabela 3: Efeito da inclusão de coprodutos sobre a relação acetato: propionato (A:P)

Coprodutos	Níveis de substituição do capim elefante			
	0	30	50	70
Algodão	2,25	2,46	2,51	2,57
Mamona	2,25	2,47	2,75	2,84
Moringa	2,25	2,07	1,86	1,68
Pinhão manso	2,25	2,43	2,49	2,44
Girassol	2,25	2,28	2,21	2,08

Tabela 4: Valores médios e equações de regressão das concentrações de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e nitrogênio amoniacal (NH₃), após 48 horas de incubação.

	Coproductos	Níveis de substituição do capim elefante				Equações	R ²	P-value
		0	30	50	70			
CO₂ (mL/g MS)	Algodão	10,45	47,23 ^B	41,19 ^B	37,39 ^B	Y= 47,72	0,005	0,73
	Mamona	10,45	34,82 ^A	26,78 ^B	19,04 ^C	Y= 14,21+0,99x-0,01x ²	0,65	<0001
	Moringa	10,45	28,72 ^A	28,67 ^B	22,44 ^C	Y= 10,59+0,89x-0,10x ²	0,88	<0001
	Pinhão manso	10,45	26,30 ^B	22,06 ^C	19,26 ^D	Y= 10,95+0,69x-0,008x ²	0,77	<0001
	Girassol	10,45	76,44 ^A	72,66 ^A	61,38 ^A	Y=12,19+2,95x-0,03x ²	0,87	<0001
CH₄ (mL/g MS)	Algodão	0,86 ^A	6,49 ^B	6,99 ^B	7,81 ^A	Y= 3,61+0,06x	0,59	<0001
	Mamona	0,86 ^A	5,86 ^B	4,68 ^{BC}	4,06 ^B	Y= 3,06	0,12	0,09
	Moringa	0,86 ^A	4,15 ^{BC}	2,67 ^C	2,11 ^C	Y= 1,005+0,13x-0,001x ²	0,69	<0001
	Pinhão manso	0,86 ^A	5,17 ^{BC}	4,05 ^C	4,15 ^B	Y= 1,91+0,014x	0,81	<0001
	Girassol	0,86 ^A	12,06 ^A	10,64 ^A	9,99 ^A	Y= 4,168+0,11x	0,49	0,001
NH₃ (mg/dL)	Algodão	21,46	33,60 ^A	38,26 ^{AB}	44,33 ^A	Y= 22,33+0,32x	0,94	<0001
	Mamona	21,46	29,16 ^B	34,76 ^{AB}	31,96 ^{AB}	Y= 21,14+0,42x-0,003x ²	0,76	0,042
	Moringa	21,46	36,40 ^A	41,76 ^A	37,33 ^{AB}	Y= 21,24+0,76x-0,007x ²	0,96	<0001
	Pinhão manso	21,46	28,70 ^B	26,60 ^B	28,00 ^B	Y=23,07	0,27	0,07
	Girassol	21,46	32,90 ^A	37,10 ^{AB}	44,80 ^A	Y=21,89+0,32x	0,96	<0001

*Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey. R², coeficiente de regressão e p, probabilidade.

CONCLUSÃO GERAL

Os coprodutos oriundos da produção de biodiesel apresentam características nutricionais adequadas para inclusão na dieta de ruminantes, salvo se os níveis de substituição não ultrapassarem 30%.

Os coprodutos do algodão e do girassol podem permitir maior biodisponibilidade de gordura para produção animal, porém, são maiores produtores de gases provedores do efeito estufa.

O coproduto da moringa que, por conter baixos níveis de fibras e alto teor proteico revelou um bom perfil no que diz respeito à degradação *in vitro* da matéria seca e baixa produção de gases totais, podendo substituir o capim elefante e apresentar as melhores características fermentativas para inclusão na dieta de ruminantes, isso porque além de apresentar um bom perfil no que diz respeito à produção de ácidos graxos voláteis, diminuiu perdas energéticas, melhorando o aproveitamento para o aporte de energia do animal além de produzir baixos índices de gases considerados de efeito estufa, porém o melhor nível de substituição deve ser respeitado para que a moringa produza as menores concentrações de amônia, por isso estudos *in vivo* devem ser considerados para que se confirme esta hipótese

ANEXOS

ANEXO I

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS REVISTA CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA

1. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).
2. A revista “Ciência e Agrotecnologia”, editada bimestralmente pela Editora da Universidade Federal de Lavras (Editora UFLA), publica artigos científicos nas áreas de “Ciências Agrárias, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Economia e Administração do Agronegócio, Engenharia Rural, Medicina Veterinária e Zootecnia”, elaborados por membros da comunidade científica nacional e internacional. É condição fundamental que os artigos submetidos à apreciação da “Revista Ciência e Agrotecnologia” não tenham sido e nem serão publicados simultaneamente em outro lugar. Com a aceitação do artigo para publicação, os editores adquirem amplos e exclusivos direitos sobre o artigo para todas as línguas e países. A publicação de artigos dependerá da observância das Normas Editoriais, dos pareceres do Corpo Editorial e da Comissão *ad hoc*. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial e, tanto os autores, quanto os membros do Corpo Editorial e/ou Comissão *ad hoc* não obtêm informações identificadoras entre si.
3. **Custo para publicação:** O custo da publicação é de R\$30,00 (trinta reais) por página editorada (página impressa no formato final) até seis páginas e R\$60,00 (sessenta reais) por página adicional. No encaminhamento inicial, efetuar o pagamento de R\$80,00 (oitenta reais), **não reembolsável**, valor esse a ser descontado no custo final do artigo editorado (formato final). Por ocasião da submissão, deverá ser encaminhado o comprovante de depósito ou transferência bancária a favor de FUNDECC/Editora, Banco do Brasil, agência 0364-6, conta corrente 58.382-0. **O comprovante de depósito ou transferência bancária deve ser anexado no campo “Transferência de Documentos Suplementares”.**
4. Os artigos submetidos para publicação deverão ser encaminhados via **eletrônica** (www.editora.ufla.br), editados em **língua inglesa** e usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas. O trabalho deverá ser digitado no processador de texto Microsoft Word for Windows (versão 98, 2000, 2003 ou XP), tamanho A4 (21cm x 29,7cm), espaço duplo entre linhas, fonte: Times New Roman, tamanho: 12, observada uma margem de 2,5 cm para o lado esquerdo e de 2,5 cm para o direito, 2,5 cm para margem superior e inferior, 2,5 cm para o cabeçalho e 2,5 cm para o rodapé. Cada trabalho deverá ter no **máximo 16 páginas** e junto do mesmo deverá ser encaminhado ofício dirigido ao Diretor da Editora UFLA, solicitando a publicação do artigo. Esse ofício deverá ser assinado por todos os autores, constar nome dos autores sem abreviação, a titulação e o endereço profissional completo (rua, nº, bairro, caixa postal, cep, cidade, estado) telefone e email de todos; **ao submeter o artigo, o ofício deverá ser anexado no campo “Transferência de Documentos Suplementares”.** Qualquer inclusão, exclusão ou alteração na ordem dos autores deverá ser notificada mediante ofício assinado por todos os autores (inclusive do autor excluído).
5. O **artigo científico** deverá conter os seguintes tópicos: a) **TÍTULO** (em letras maiúsculas) **em inglês e português**, escrito de maneira clara, concisa e completa, sem abreviaturas e palavras supérfluas. Recomenda-se começar pelo termo que represente o aspecto mais importante do trabalho, com os demais termos em ordem decrescente de importância; b) **NOME(S) DO(S) AUTOR(ES)** listados no lado direito, um abaixo do outro, **sendo o máximo de 6** (seis); c) **ABSTRACT** não deve ultrapassar **250** (duzentos e

cinquenta) palavras e estar em um único parágrafo. **Deve conter pelo menos, breve introdução, objetivo e resultados;** d) **INDEX TERMS** contendo entre 3 (três) e 5 (cinco) palavras-chave em inglês que identifiquem o conteúdo do artigo, diferentes daquelas constantes no título e separadas por vírgula; e) **RESUMO** (tradução para o português do abstract); f) **TERMOS PARA INDEXAÇÃO** (tradução para o português do index terms); g) **INTRODUCTION** (incluindo a revisão de literatura e objetivo); h) **MATERIAL AND METHODS**; i) **RESULTS AND DISCUSSION**(podendo conter tabelas e figuras); j) **CONCLUSION**; k) **ACKNOWLEDGEMENTS** (opcional);l) **REFERENCES** (sem citações de teses e dissertações).

6. **RODAPÉ**: Deve constar formação, titulação, instituição de vínculo empregatício, contendo endereço comercial completo (rua, número, bairro, Cx. P., CEP, cidade, estado) e e-mail do autor correspondente. Os demais autores devem informar a formação, titulação e instituição de vínculo empregatício.

7. **AGRADECIMENTOS (acknowledgements)**: ao fim do texto e, antes das Referências Bibliográficas, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições. O estilo, também aqui, deve ser sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais se fazem os agradecimentos.

8. **TABELAS E QUADROS**: deverão ser feitos no Word e inseridos após citação dos mesmos dentro do próprio texto, salvo em doc.

9. **CASO O ARTIGO CONTENHA FOTOGRAFIAS, GRÁFICOS, FIGURAS, SÍMBOLOS E FÓRMULAS, ESSAS DEVERÃO OBEDECER ÀS SEGUINTE NORMAS**:

9.1 **Fotografias** podem ser **coloridas ou em preto e branco**, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão “TIFF” ou “JPEG” com resolução de 300 dpi**. Na versão impressa da revista, as fotografias sairão em **preto e branco**.

9.2 **Figuras** podem ser **coloridas ou em preto e branco**, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão “TIFF” ou “JPEG” com resolução de 300 dpi**. As figuras deverão ser elaboradas com letra **Times New Roman, tamanho 10, sem negrito; sem caixa de textos e agrupadas**. Na versão impressa da revista, as figuras sairão em **preto e branco**.

9.3 **Gráficos** deverão ser inseridos no texto após a citação dos mesmos. Esses deverão ser elaborados preferencialmente em Excel, com letra Times New Roman, tamanho 10, **sem negrito, salvos em extensão XLS e transformados em TIFF ou JPG**, com resolução de 300 dpi.

9.4 **Símbolos e Fórmulas Químicas** deverão ser feitas em processador que possibilite a formatação para o programa **Page Maker** (ex: MathType, Equation), sem perda de suas formas originais.

10. **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**: a partir do Volume 18, Número 1 de 1994, a normalização das referências bibliográficas é baseada na NBR6023/2002 da ABNT. **A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es) do artigo**.

Orientações gerais:

- Devem-se apresentar todos os autores do documento científico (fonte);
- O nome do periódico deve ser descrito por extenso, não deve ser abreviado;
- Em todas as referências deve-se apresentar o local de publicação (cidade), a ser descrito

- no lugar adequado para cada tipo de documento;
- As referências devem ser ordenadas alfabeticamente e “alinhadas à margem esquerda”, conforme NBR6023/2002 (ABNT, 2002, p.3).
 - Deve-se deixar espaçamento simples nas entrelinhas e duplo entre as referências.

EXEMPLIFICAÇÃO (TIPOS MAIS COMUNS):

ARTIGO DE PERIÓDICO:

DINIZ, E.R.; SANTOS, R.H.S.; URQUIAGA, S.S.; PETERNELLI, L.A.; BARRELLA, T.P.; FREITAS, G.B. de. Crescimento e produção de brócolis em sistema orgânico em função de doses de composto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1428-1434, 2008.

LIVRO:

a) Livro no todo:

FERREIRA, D.F. **Estatística multivariada**. Lavras: UFLA, 2008. 672p.

b) Parte de livro com autoria específica: BERGEN, W.G.; MERKEL, R.A. Protein accretion. In: PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Growth regulation in farm animals: advances in meat research**. London: Elsevier Science, 1991. v.7, p.169-202.

c) Parte de livro sem autoria específica: JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido muscular. In: _____. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

DISSERTAÇÃO E TESE:

Não utilizar citações de dissertações e teses.

TRABALHOS DE CONGRESSO E OUTROS EVENTOS:

Não utilizar citações de trabalhos de congressos e outros eventos.

DOCUMENTOS ELETRÔNICOS:

As obras consultadas *online* são referenciadas conforme normas específicas para cada tipo de documento, **acrescidas de informações sobre o endereço eletrônico apresentado entre braquetes (< >), precedido da expressão “Disponível em:” e da data de acesso ao documento, precedida da expressão “Acesso em:”**. Nota: “Não se recomenda referenciar material eletrônico de curta duração nas redes” (ABNT, NBR6023/2000, p. 4). Segundo padrões internacionais, a divisão de endereço eletrônico, no fim da linha, deve ocorrer sempre após barra (/).

a) Livro no todo

TAKAHASHI, T. (Coord.). **Tecnologia em foco**. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. Disponível em: . Acesso em: 22 ago. 2000.

b) Parte de livro

TAKAHASHI, T. Mercado, trabalho e oportunidades. In: _____. **Sociedade da informação no Brasil**: livro verde. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. cap.2. Disponível em:

c) Artigo de periódico (acesso online): JASPER, S.P.; BIAGGIONI, M.A.M.; RIBEIRO, J.P. Avaliação do desempenho de um sistema de secagem projetado para os pequenos produtores rurais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.4, p.1055-1061, jul./ago. 2008. Disponível em:

CITAÇÃO: PELO SISTEMA ALFABÉTICO (AUTOR-DATA) (baseado na ABNT, NBR10520/2002)

Dois autores - Silva & Leão (2008) ou (Silva & Leão, 2008).
Três ou mais autores - Ribeiro et al. (2008) ou (Ribeiro et al., 2008).
Obs.: Quando forem citados dois autores de uma mesma obra deve-se separá-los pelo sinal & (comercial). Se houver mais de uma citação no mesmo texto, deve-se apresentar os autores em ordem cronológica crescente, por exemplo: Souza (2004), Pereira (2006), Araújo (2007) e Nunes Júnior (2008); ou: (Souza, 2004; Pereira, 2006; Araújo, 2007; Nunes Júnior, 2008).

11. Processo para publicação de artigos: O artigo submetido para publicação, será encaminhado ao Conselho Editorial, para que seja inicialmente avaliado quanto à relevância comparativa a outros manuscritos da área de conhecimento submetidos para publicação. Apresentando relevância comparativa, o artigo é avaliado por consultores 'ad hoc' para emitirem seus pareceres. Aprovado por consultores e, caso necessário, o artigo é enviado ao autor correspondente para correções e/ou sugestões. Caso as correções não sejam retornadas à revista no prazo solicitado, a tramitação do artigo será automaticamente cancelada. O não atendimento as solicitações dos consultores sem justificativas também leva ao cancelamento automático do artigo. Após a aprovação das correções, o artigo é revisto quanto a Nomenclatura Científica, Inglês, Referências Bibliográficas e Português, sendo então encaminhado para editoração e publicação.

ANEXO II

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS JOURNAL OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND ANIMAL NUTRITION

Author Guidelines

The *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to the Journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism.

1. GENERAL

As an international forum for hypothesis-driven scientific research, the journal publishes original papers on basic research in the fields of animal physiology, the biochemistry and physiology of nutrition, animal nutrition, feed technology, and feed preservation. In addition, reviews of the most important specialized literature are included. The language of publication is English.

2. SUBMISSION AND ACCEPTANCE OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site [ScholarOne Manuscripts \(formerly known as Manuscript Central\)](#). The use of an online submission and peer review site speeds up the decision-making process, enables immediate distribution and allows authors to track the status of their own manuscripts. If assistance is needed (or if for some reason online submission is not possible), the Editorial Office can be contacted and will readily provide any help users need to upload their manuscripts.

Editorial

Prof.
University

Dr.

of

Munich,

Michel

Munich,

Office:

Goldberg
Germany

E-mail: michel-goldberg@t-online.de

2.1 Online Submission

To submit a manuscript, please follow the instructions below.

Getting Started

1. Launch your web browser (Internet Explorer 5 or higher or Netscape 7 or higher) and go to the journal's ScholarOne Manuscripts homepage (<http://mc.manuscriptcentral.com/japan>).
2. Log-in or click the "Create Account" option if you are a first-time user of ScholarOne Manuscripts.
3. If you are creating a new account:
 - After clicking on "Create Account", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next."
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click "Finish".
4. Log-in and select "Author Center."

Submitting Your Manuscript

5. After you have logged in, click the “Submit a Manuscript” link in the menu bar.
6. Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
7. Click the “Next” button on each screen to save your work and advance to the next screen.
8. Give the contact details of at least three reviewers who are independent from your group.
9. Upload your files:
 - Click on the “Browse” button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the “Upload Files” button.
10. Review your submission (in PDF format) before sending to the Journal. Click the “Submit” button when you are finished reviewing.

You may suspend a submission at any phase before clicking the “Submit” button and save it to submit later. After submission, you will receive a confirmation e-mail. You can also access ScholarOne Manuscripts at any time to check the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc/.docx) or Rich Text Format (.rtf) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to a PDF document on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. Figure tags should be included in the file. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

2.2 Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author

Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

2.3 Page Charges

Original research articles exceeding 8 pages when in proof will be subject to a page charge of GBP100 per additional page. The first 8 print pages will be published free of charge. An average 8-page article will have approximately 6300 words in manuscript, with approximately 5 figures or tables and 40 references. Once your article has been typeset and you receive confirmation of the page extent, please complete the [Page Charge Form](#) if your article exceeds 8 pages. An invoice will be sent to authors for these charges upon print publication of their article. Invited and review articles are excluded from this charge.

2.4 Authorship

All authors listed must conform to the authorship requirements as set out by the ICMJE [here](#).

3. REQUIREMENTS FOR MANUSCRIPTS

3.1. Types of Articles

Original Articles

Original articles represent the most common form of articles published in the journal. Typically they describe the results of experiments carried out in order to test a novel hypothesis. Original articles should contain the following sections: Summary, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, References.

Review Articles

The journal welcomes review articles on topics of high current interest within the scope of the journal. Review articles must also include a Summary, Introduction and References, but the other headings may be chosen depending on the structure of the article.

Short Communications

Short communications are brief articles that present particularly novel or exciting results, introduce new theories or ideas, or offer new methodological approaches. This format provides an opportunity for authors to (a) provide important results in concise form or (b) introduce significant new concepts or methods that are supported by a limited empirical data set. The papers should be highly original and represent ideas that will challenge current paradigms or approaches. They should stimulate thought, serving as precursors to new research programs or working groups. In these manuscripts the headings required for original articles may be omitted, but the structure of the paper should more or less be the same. The length of the short communication should not exceed 3500 words plus 1-2 tables or figures.

3.2. General Guidelines on Format

Prepare your manuscript by numbering lines and pages consecutively and use double spacing throughout the text body. It is strongly advised that you consult other articles in the journal showing the format required. A free sample issue of the journal can be accessed for this purpose from the link at the left of the journal's [home page](#).

Title _____ page

The title should not exceed 35 words. Please provide a short title of 60 characters or less for the running head. List all the authors and their affiliations, and indicate the corresponding author by a footnote named “correspondence” where name, the complete postal address, telephone and fax numbers as well as e-mail address are given.

Summary

The summary should not exceed 300 words, while giving the major objectives, methods, results, conclusions and practical applications of the research.

Keywords

Include up to 6 keywords. Keywords will be used for indexing purposes, as will the title; therefore please select words that are not included in the title.

Acknowledgements

Include any acknowledgement before the reference list.

Figures _____ and _____ table _____ captions

Each figure and table must have a reference in the text and should be numbered in accordance with their appearance in text. Please do not insert figures into the text file. The legends of all figures should be given on a separate page after the list of references.

Tables

Use separate pages for each table and put them at the end of the manuscript. Use no vertical lines and few horizontal lines (mainly above and below the table heading and at the end of the table). Footnotes have to be written below the table body. They should be given by using the following symbols in this order: *, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡, etc.

Supporting _____ Information

Supporting Information can be a useful way for an author to include important but ancillary information with the online version of an article. Examples of Supporting Information include additional tables, data sets, figures, movie files, audio clips, 3D structures, and other related nonessential multimedia files. Supporting Information should be cited within the article text, and a descriptive legend should be included. It is published as supplied by the author, and a proof is not made available prior to publication; for these reasons, authors should provide any Supporting Information in the desired final format. For further information on recommended file types and requirements for submission, please visit: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/supinfo.asp>

3.3. Statistics, Units, Abbreviations and Nomenclature

Descriptions of the statistical evaluation of results should be accompanied by the name of the computer software and the procedures applied (one- two-factorial ANOVA, Tukey's test etc.). Average values given in tables should be accompanied by the standard deviation (SD) values, or in experiments where the greater number of samples (animals, units etc.) have been considered, the SEM value as well as probability P should be given.

All units of measurement must follow the SI system. Concentrations of solutions should be given as molar concentrations. All other concentrations should be expressed as percentages.

Abbreviations of biological, medical, chemical, and other terms should only be used when such abbreviations are both internationally recognized and unambiguous. The first use of an abbreviation must be explained by also giving the unabbreviated term. All biological, medical, chemical, and other names should be given in keeping with the latest international nomenclature. If an animal is being mentioned in the text for the first time, the binomial name should be given, e.g. carp (*Cyprinus carpio* L.). Thereafter, this can be abbreviated to *C. carpio*.

3.4. Figures and Illustrations

Do not display the same information in both a table and figure. Use separate pages for each figure and illustration.

Figures should be saved in a neutral data format such as TIFF or EPS. Powerpoint and Word graphics are unsuitable for reproduction. Please do not use any pixel-oriented programmes. Scanned figures (only in TIFF format) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size. Photographic material should be of such quality that high-contrast reproductions can be made; photostats of photographs are unacceptable.

Figures printed in colour are subject to an added charge. Colour print charges are explained on the [Colour Work Agreement Form](#). Colour graphics should be in RGB mode. RGB stands for Red, Green and Blue – these are the colours that are displayed by computer monitors. Monochrome art (black on white) should be in ‘bitmap’ mode (also called 1-bit). Grayscale art should be in ‘grayscale’ mode, a palette of colours that has 256 shades ranging from white to black (also called 8-bit). There is a charge for alterations to figures when carried out by the publisher.

Please note that figures will generally be reduced to fit within the column-width or the print area. This means that numbering and lettering must still be readable when reduced (e.g. maps) and that the scale might not correspond with the original (microscopic pictures), thereby invalidating references to scale in the text.

Graphs with an x and y axis should not be enclosed in frames; only 2-dimensional representations.

Do not forget the labels and units. Captions for the figures should give a precise description of the content and should not be repeated within the figure. If figures or tables are taken from another publication, the source must be mentioned.

3.5. References

Each original contribution and short communication should contain a bibliography, reduced to the essential minimum. All references in text must have a corresponding bibliographic entry in the list of references. The name of a journal in which a paper appears should be written out in full.

The references should be given in alphabetical order, and should give the full title of the paper. If there is more than one reference by the same author(s) the name(s) must not be substituted by a dash but given in full. Prefixed names such as O'Brien, Van der Fecht,

D'Estaing etc. should be arranged on the basis of the first letter of the main part of the name, thus, D'Estaing would appear under 'E', not 'D'. Anonymous articles should be cited at the beginning of the bibliography.

References should be given in the following form:

a. From journals: Surname, initials of the author(s) first name(s), year of publication, title of article, title of journal, volume number in bold, page range of the article. Please pay attention to the punctuation in the following example:

Revy, P.S.; Jondreville, C.; Dourmad, J.Y.; Guinotte, F.; Nys, Y., 2002: Bioavailability of two sources of zinc in weanling pigs. *Animal Research* 51, 315–326.

b. From books and other non-serial publications: Surname, initials of author(s) first name(s), year of publication: title, edition number (if it is not the first edition), volume number (if the title contains more than one volume), publisher, and place of publication. Please pay attention to the punctuation in the following examples:

Underwood, E. J.; Suttle, N. F., 1999: *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd edn. CABI publishing, NY, USA.

Citations from handbooks, serial books, and proceedings must contain the names of the editors:

Edwards, C., 1990: Mechanisms of action on dietary fibre on small intestinal absorption and motility. In: Furda, I. (ed.), *New Developments in Dietary Fiber*. Plenum Press, New York. *Advances in Experimental Medicine and Biology* Vol. 270, 95–104.

Unpublished works must have already been accepted for publication and marked as 'in press'. The citation of personal communications and unpublished data must be confined to the body of the text.

Within the text, citations should be made by putting the surname of the author and the year of publication in parentheses, e.g. (Kienzle, 1998). With two authors, the surnames of the authors should be given, e.g. (Kienzle and Maiwald, 1998); with more than two authors, the surname of the first author should be given and followed by 'et al.', e.g. (Kirchgessner et al., 1998). If the author(s) name(s) are given within the context of the script, the year of publication should be given in parentheses, e.g. ...as described by Kienzle and Maiwald, (1998).

If various publications by the same author(s) and published in the same year are cited, a, b, c etc. must be added to the year of publication, e.g. (Kirchgessner et al., 1998 a, b). This lettering must also correspond to the same lettering within the bibliography.

We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Please note that incorrectly formatted references in a submitted paper may result in the paper being unsubmitted.

3.6. Animal Experiments

Animal experiments are to be undertaken only with the purpose of advancing knowledge and in a manner that avoids unnecessary discomfort to the animals by the use of proper management and laboratory techniques. They shall be conducted in compliance with federal, state and local laws and regulations, and in accordance with the internationally

accepted principles and guidelines for the care and use of agricultural, laboratory or experimental animals.

In the interests of the reproducibility of results, accurate information about any test animals used in the experiments (origin, genotype, etc.), as well as information about the housing conditions (diet, environment, etc.), should be given.

3.7. Use of the English Language

Authors whose native language is not English should have a native English speaker read and correct their manuscript. Spelling and phraseology should conform to standard British usage and should be consistent throughout the paper. Visit [our site](#) to learn about the options. Please note that using the Wiley English Language Editing Service does not guarantee that your paper will be accepted by this journal.

4. AFTER ACCEPTANCE

4.1 Proof Correction

When the proof is ready for correction, the corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: <http://get.adobe.com/reader>

This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Office within three days of receipt.

As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher.

4.2 Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: http://offprint.cosprinters.com/cos/bw/main.jsp?SITE_ID=bw&FID=USER_HOME_PG

If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

4.3 Early View (Publication Prior to Print)

The Journal is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page

numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

4.4 Online Open

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley InterScience, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-406241.html>.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp. Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

4.5 Author Services

Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with [Wiley-Blackwell's Author Services](#).