



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS COM
COPRODUTOS DA CADEIA PRODUTIVA DO BIODIESEL**

LUIZ HENRIQUE XAVIER DA SILVA

Dissertação apresentada á
Faculdade de Ciências Agrárias da
Universidade Federal da Grande
Dourados, como requisito a obtenção do
título de Mestre em Zootecnia. Área de
Concentração: Produção animal

Dourados
Mato Grosso do Sul – Brasil
Fevereiro - 2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS COM
COPRODUTOS DA CADEIA PRODUTIVA DO BIODIESEL**

LUIZ HENRIQUE XAVIER DA SILVA
ZOOTECNISTA

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Co-orientador: Antonio Ferriani Branco

Dissertação apresentada á
Faculdade de Ciências Agrárias da
Universidade Federal da Grande
Dourados, como requisito a obtenção do
título de Mestre em Zootecnia. Área de
Concentração: Produção animal

Dourados
Mato Grosso do Sul – Brasil
Fevereiro - 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

S586c Silva, Luiz Henrique Xavier.
Cinética de fermentação ruminal de dietas com coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel / Luiz Henrique Xavier da Silva. – Dourados, MS : UFGD, 2014.
72 f.

Orientadora: Profa. Dra. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Alimentação de ruminantes – Produção. I. Goes, Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de. II. Título.

CDD: 636.2

“Cinética de fermentação ruminal de dietas com coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel”

por

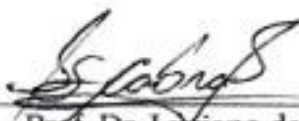
LUIZ HENRIQUE XAVIER DA SILVA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA

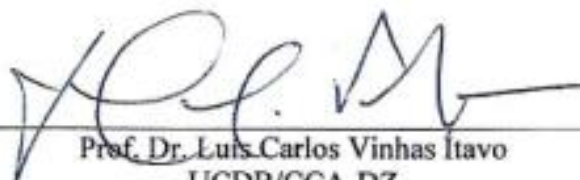
Aprovada em: 03/02/2014



Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Orientador – UEGD/FCA



Prof. Dr. Luciano da Silva Cabral
UFMT/DZER



Prof. Dr. Luis Carlos Vinhas Itavo
UCDB/CCA-DZ

DEDICATÓRIA

À Deus,

Meus Pais, Maria Zilma Xavier de Barros da Silva e João Pereira da Silva

Minha irmã, Paula Cristina Xavier da Silva Matos

Aos meu avós paternos, Maria Aparecida da Silva e Luiz Pereira da Silva (*in memória*)

À minha avó materna Raimunda de Barros

Enfim, a toda a minha família

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela vida e coisas maravilhosas que me foram concedidas. Pela saúde e amparo em todos os momentos e, principalmente por colocar em meu caminho pessoas companheiras e especiais;

Aos meus pais e irmã, porque sempre me ofereceram o melhor através dos ensinamentos e formação. Que mantiveram do meu lado com amor, incentivando-me para continuar a cada dia apesar dos obstáculos.

A minha companheira, amiga e namorada Aline Dias Maidana, por todo o amor, apoio, companheirismo, e incentivo, além de muita paciência e compreensão.

Ao Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, pela orientação e sua valiosa influência na minha formação, pela dedicação e confiança depositados em mim;

Ao Professor Dr. Antonio Ferriani Branco, pela co-orientação, ensinamentos e ajuda na realização do meu trabalho, assim como ao professor Luis Carlos Vinhas Ítavo pelos esclarecimentos e auxílio nas análises estatísticas;

Ao Programa de Pós- graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados pelo acolhimento e oportunidade de realizar meus estudos de mestrado, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá pelo apoio técnico e estrutural para realização de parte dos meus trabalhos experimentais;

Aos professores do Programa de Pós- graduação em Zootecnia, por contribuir com minha formação acadêmica. Em especial, ao Professor Dr. Elias Nunes Martins, pela disposição e apoio nas análises estatísticas.

À minha amiga Mayara Mitiko Yoshihara, pelo carinho e amizade sincera, pelos conselhos e dedicação, nunca medindo esforços para me ajudar. Foi essencial para meu crescimento pessoal e profissional.

À minhas amigas Ana Lucia Teodoro e Tatiane Garcia Diaz, pela ajuda na realização do meu experimento, compreensão e companheirismo;

Aos meus amigos Kennyson Alves de Souza, Nathan Machado Cavalcante, Denes dos Santos e Diogo Antignani Coutinho por contribuir com a realização do meu sonho, pela ajuda e pela confiança;

Aos meus colegas de trabalho, Raquel Tenório, Luciana Rodrigues, Laiz Fiorilli, Beryk Salab, Francine Giotto, Rodrigo Vargas Macedo, Vitor Leite, pelo convívio nas jornadas realizadas.

Ao Ronaldo Pasquim de Araújo, secretário do Programa de Pós- graduação em Zootecnia, pela ajuda, paciência e amizade.

Aos funcionários do LANA (Laboratório de Análises de Alimentos – UEM e UFGD), Cleusa Volpato, Creuza Souza Azevedo, Hermógenes Augusto de Carmago Neto, Roberto Carlos, Maria Gizelma Gressler pela grande ajuda na condução do meu experimento e conselhos.

Ao funcionário da FEI (Fazenda Experimental de Iguatemi - UEM), Sr. Wilson Marsola, pela disposição em colaborar sempre que precisei;

Aos amigos, Graziela Gonçalves, Simone Almeida e Dany de Faria pela amizade, apoio e carinho;

A todos os que, de uma ou outra maneira, contribuíram com a elaboração deste trabalho.

OBRIGADO!

BIOGRAFIA

LUIZ HENRIQUE XAVIER DA SILVA, filho de João Pereira da Silva e Maria Zilma Xavier de Barros da Silva, nasceu em Fátima do Sul, Mato Grosso do Sul, em 08 de março de 1989.

Em Agosto de 2007, ingressou na Universidade Federal da Grande Dourados, no curso de Zootecnia, colando grau em 09 de julho de 2011.

Em março de 2012, iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados, desenvolvendo estudos na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 03 de fevereiro de 2014.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT	16
1.1 INTRODUÇÃO	18
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
1.2.1 Uso de oleaginosas e seus coprodutos.....	19
1.2.2 Girassol.....	20
1.2.3 Crambe	21
1.2.4 Digestibilidade.....	22
1.2.5 Degradabilidade e digestibilidade <i>in vitro</i>	22
1.2.6 Produção de gases <i>in vitro</i>	23
1.3 OBJETIVO	26
1.4 OBJETIVO ESPECÍFICO	26
1.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO 2.....	30
Resumo:	31
Abstract:.....	32
2.1 Introdução	33
2.2 Material e Métodos	34
2.3 Resultados e Discussão	40
2.4 Conclusão.....	48
2.5 Referências Bibliográficas	49
CAPÍTULO 3.....	51
Resumo:	52
Abstract:.....	53
3.1 Introdução	54

3.2	Material e Métodos	55
3.3	Resultados e Discussão	61
3.4	Conclusões	69
3.5	Referências Bibliográficas	70
3.6	Considerações Finais	72

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no experimento 1 (g/kg de ms).....	34
TABELA 2. Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no experimento 2 (g/kg de ms).....	35
TABELA 3. Reagente e suas respectivas quantidades para preparação das soluções tampão.....	36
TABELA 4. Coeficientes de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) em g/g do (experimento 1).	40
TABELA 5. Médias dos parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com níveis crescentes de torta de girassol em substituição ao farelo de soja (experimento 1).....	41
TABELA 6. Valores médios de N-amoniaco (mg/dl) da digestibilidade <i>in vitro</i> de dietas com torta de girassol em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 1).....	43
TABELA 7. Coeficientes de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) em g/g do experimento 2.	43
TABELA 8. Média dos parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com níveis crescentes de inclusão da torta de girassol no concentrado (experimento 2).	44
TABELA 9. Valores médios de pH ruminal da digestibilidade <i>in vitro</i> de dietas com torta de girassol adicionados a dieta e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 2).	46
TABELA 10. Valores médios de n-amoniaco (mg/dl) da digestibilidade <i>in vitro</i> de dietas com torta de girassol em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 2).....	47
TABELA 11. Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no experimento 1 (g/kg de ms).....	56
TABELA 12. Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no experimento 2 (g/kg de ms).....	56
TABELA 13. Reagente e as suas respectivas quantidades para preparação da solução tampão.....	57
TABELA 14. Coeficientes de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) em g/g do experimento 1.	61

TABELA 15. Média da produção cumulativa de gás in vitro (ml/100mg ms) para os tratamentos com níveis crescentes de inclusão da torta de crambe no concentrado (experimento 1), no período de 24 horas obtida por duplicatas de amostras.	62
TABELA 16. Valores médios de ph ruminal da digestibilidade in vitro de dietas com torta de crambe em substituição ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 1).....	63
TABELA 17. Valores médios de n-amoniacal (mg/dl) da digestibilidade in vitro de dietas com torta de crambe em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 1).	64
TABELA 18. Coeficientes de digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) em g/g do experimento 2.	65
TABELA 19. Média da produção cumulativa de gás in vitro (ml/100mg ms) para os tratamentos com níveis crescentes de inclusão da torta de crambe no concentrado (experimento 2), no período de 24 horas obtida por duplicatas de amostras.	66
TABELA 20. Valores médios de pH do líquido ruminal da digestibilidade in vitro de dietas com torta de crambe em substituição ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 2).	67
TABELA 21. Valores médios de n-amoniacal (mg/dl) do líquido ruminal da digestibilidade in vitro de dietas com torta de crambe em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 2).	68

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

CAPÍTULO 1

RESUMO36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70

SILVA, Luiz Henrique Xavier, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Novembro de 2013. **Cinética de fermentação ruminal de dietas com coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel.** Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes; Co-orientador: Antônio Ferriani Branco.

Resumo: Objetivou-se com o presente trabalho determinar o efeito de níveis crescentes de coproduto (torta de girassol e torta de crambe) em dietas utilizadas na alimentação de ruminantes (bovinos e ovinos) sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO), proteína bruta (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*. Foram utilizadas duas dietas para o experimento com torta de girassol, sendo que, na dieta experimental 1: caracterizada pela presença de *Brachiaria brizantha* cv Marandu como volumoso e os concentrados que apresentavam diferentes proporções de torta de girassol sendo; 0 g/kg, 200 g/kg, 400 g/kg e 600 g/kg em substituição parcial ao farelo de soja em uma relação volumoso concentrado de 60 : 40. A dieta experimental 2, utilizou feno de Tiflon como volumoso e os concentrados caracterizaram-se pela presença de 0 g/kg, 100 g/kg, 200 g/kg e 300 g/kg de inclusão da torta de girassol no concentrado, a relação volumoso concentrado adotada foi de 50 : 50. Na avaliação da torta de crambe foram utilizadas duas dietas, sendo que, a dieta experimental 1: caracterizada pela presença de *Brachiaria brizantha* cv Marandu como volumoso e os concentrados que apresentavam diferentes proporções de torta de crambe sendo; 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg em substituição ao farelo de soja em uma relação volumoso concentrado de 40 : 60. A dieta experimental 2: utilizou silagem de milho como volumoso e os concentrados caracterizaram-se pela presença de 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg de inclusão da torta de crambe em substituição ao farelo de soja no concentrado, a relação volumoso concentrado adotada foi de 30 : 70. A metodologia empregada para realizar as incubações, coletas e análises do trabalho com torta de girassol foi a mesma usada para torta de crambe, e seguiram as seguintes regras: Os coeficientes da DIVMS, N-amoniaco (N-NH₃) e pH do líquido ruminal, produção cumulativa de gases e parâmetros cinéticos da fermentação ruminal foram determinados utilizando o inóculo ruminal e a solução tampão. Para a determinação da produção total de gás e os parâmetros da cinética da fermentação ruminal, foi utilizada a técnica automática *in vitro*. O aumento da pressão produzido dentro dos frascos durante a incubação foi mensurado em libras por polegada quadrada (psi) utilizando sistema automático RF: Gás Production System® (ANKOM). Foi realizado uma adaptação nas tampas de jarros de vidros utilizados para simular as condições do rúmem em uma

71 digestibilidade *in vitro*, podendo desta forma, determinar a concentração de N-amoniaco e do pH
72 do líquido ruminal. O ajuste das curvas e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foram
73 realizados utilizando-se o processo iterativo do Gauss-Newton por meio do procedimento para
74 modelos não lineares do programa SAEG. As DIVMS e DIVMO apresentaram efeito quadrático
75 para as dois experimentos com torta de girassol, no experimento 1 o ponto máximo foi para a dieta
76 com 200 g/kg de torta de girassol, no experimento 2 o ponto máximo de DIVMS foi para a dieta
77 com 200 g/kg e para DIVMO a dieta com 0 g/kg foi a que apresentou o ponto máximo de
78 digestibilidade. Os parâmetros cinéticos do experimento 1 não apresentaram efeito quadrático
79 diferente do experimento 2 em que os parâmetros C(horas), D(mL/gás), E(/h) apresentaram efeito
80 quadrático. Nos experimentos com torta de crumbe observou-se efeito quadrático para a DIVMO do
81 experimento 1, sendo a dieta de 150 g/kg com o ponto máximo. No experimento 2 houve efeito
82 quadrático para DIVMS e DIVMO sendo o ponto de máximo para a dieta com 0 g/kg. O uso da
83 dieta experimental 1 com torta de girassol, reduziu a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e
84 matéria orgânica, e aumentou para proteína bruta, não interferiu nos parâmetros cinéticos, reduziu o
85 pH e aumentou o N-amoniaco. Na dieta experimental 2 com torta de girassol, apresentou
86 diminuição da digestibilidade da MS e MO assim como a dieta experimental 1, porém não interferiu
87 na digestibilidade da proteína bruta, restringiu a produção de gás oriundos da degradação da fração
88 dos carboidratos fibrosos e reduziu os parâmetros pH e N- amoniaco. A torta de crumbe é um co-
89 produto com um bom perfil de cinética de fermentação ruminal no que diz respeito à degradação de
90 carboidratos não fibrosos e carboidratos fibrosos, sendo potenciais fornecedores de energia e
91 proteína na dieta de ruminantes. A substituição do farelo de soja pela torta de crumbe suscitou uma
92 redução da digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta, porém, esta redução
93 não impede que o mesmo seja utilizado em até 150 g/kg de substituição ao farelo de soja. O uso de
94 dietas com substituição parcial e inclusão da torta de girassol no concentrado reduziu a
95 digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, e aumentou para proteína bruta,
96 restringiu a produção de gás oriundos da degradação da fração dos carboidratos fibrosos, reduziu o
97 pH e aumentou o N-amoniaco.

98

99 **Palavras chaves:** Digestibilidade *in vitro*, parâmetros ruminais, produção de gases, taxa de
100 degradação.

101

102

103

ABSTRACT

104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138

The objective of the present work was to determine the effect of increasing levels of coproduct (sunflower crushed and crambe crushed) in diets fed to ruminants (cattle and sheep) on in vitro dry matter digestibility (IVDMD), organic matter (IVDOM), crude protein (IVDCP), the kinetics of cumulative gas production, ruminal fermentation parameters, concentration of ammonia-N (NH₃-N) and pH in vitro. Two diets were used for the experiment with sunflower crushed, and, in the experimental diet 1: characterized by the presence of *Brachiaria brizantha marandu* as roughage and concentrates that had different proportions of sunflower crushed being; 0 g/kg, 200 g/kg, 400 g/kg and 600 g/kg in partial replacement of soybean meal in a roughage concentrate 60 : 40. The experimental diet 2, Tiflon used hay as roughage and concentrates were characterized by the presence of 0 g/kg, 100 g/kg, 200 g/kg and 300 g/kg inclusion of sunflower crushed in the concentrate, the concentrate roughage used was 50 : 50. As in the experiment with sunflower crushed, crushed in working with crambe used two diets, whereas the experimental diet 1 : characterized by the presence of *Brachiaria brizantha marandu* as roughage and concentrates that had different proportions of crambe crushed being; 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg and 150 g/kg replacement of soybean meal in a roughage concentrate 40 : 60. The experimental diet 2 : used corn silage as roughage and concentrates were characterized by the presence of 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg and 150 g/kg inclusion crambe crushed to replace soybean meal in the concentrate to roughage concentrate adopted was 30 : 70. The methodology used to perform the incubations, collection and analysis of working with sunflower crushed was the same used for crambe crushed, and follow the following rules: The coefficients of IVDMD, ammonia-N (NH₃-N) and ruminal pH, cumulative gas production and ruminal fermentation kinetic parameters were determined using ruminal and Buffer. To determine the total gas production and ruminal fermentation, ruminal technique was used automatic in vitro. The increased pressure inside the bottles produced during the incubation was measured in pounds per square inch (psi) using automatic RF: Gas Production System ® (ANKOM). Was performed in an adaptation covers glass jars used to simulate the conditions of the rumen in a digestibilidade in vitro, and can thus determine the concentration of ammonia-N and the pH of the rumen fluid. The fit of the curves and the parameter estimates of biological interest were performed using the iterative Gauss-Newton through the procedure for non-linear models program SAEG. The IVDMD and IVDOM quadratic effect for two experiments with sunflower crushed in experiment 1 was the peak for the diet with 200 g/kg of sunflower crushed, in experiment 2 the maximum point of IVDMD was for the diet with 200 g/kg and IVDOM the diet with 0 g/kg showed the maximum point of digestibility. The kinetic parameters of experiment 1 showed no different quadratic effect in Experiment 2 where C (hours), d (mL/gas), E (/ h) parameters showed a quadratic effect. In experiments with crambe crushed observed quadratic effect for IVDOM of

139 experiment 1, with the diet of 150 g/kg with the maximum point. In experiment 2, there was a
140 quadratic effect on IVDMD and IVDOM being the maximum point of the diet with 0 g/kg The use
141 of experimental diet 1 with sunflower crushed, reduced the in vitro digestibility of dry matter and
142 organic matter, and increased crude protein, did not affect the kinetic parameters, reduced pH and
143 increased ammonia-N. In two experimental diet with sunflower crushed, exhibited reduced
144 digestibility of DM and OM as well as the experimental diet 1, but did not affect the digestibility of
145 crude protein, restricted gas production resulting from the degradation of the fiber fraction and
146 reduced parameters pH and ammonia-N. The crambe crushed is a coproduct with a good profile of
147 ruminal fermentation kinetics with respect to the degradation of non-fiber carbohydrates and fibrous
148 carbohydrates, and potential suppliers of energy and protein in the diet of ruminants. Replacement
149 of soybean meal with crambe crushed elicited a reduction in digestibility of dry matter, organic
150 matter and crude protein, however, this reduction does not prevent it from being used in up to 150
151 g/kg substitution of soybean meal. The use of diets with partial replacement and inclusion of
152 sunflower crushed in the concentrate reduced the in vitro digestibility of dry matter and organic
153 matter, and increased crude protein, restricted gas production coming from the degradation of the
154 fiber fraction, reduced the pH and increased ammonia-N.

155

156 **Key words:** in vitro digestibility, ruminal fermentation, gas production, degradation rate.

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

1.1 INTRODUÇÃO

173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207

Os custos elevados de alimentos como milho e farelo de soja que são largamente utilizados na alimentação animal provocaram aumento nos custos de produção, com isso, torna-se necessário avaliar as possibilidades de utilização de alimentos alternativos de boa qualidade, que apresentam menor custo, permitindo manter ou melhorar o patamar atual de produção dos rebanhos.

Pioneiro mundial no uso de biocombustíveis, o Brasil alcançou uma posição almejada por muitos países que buscam por fontes renováveis de energia, como alternativas estratégicas ao petróleo, além destas informações de acordo com (ANP, 2010), dezenas de espécies vegetais presentes no Brasil podem ser usadas na produção do biodiesel tais como o girassol, mamona, pinhão manso, soja, crambe e entre outras.

Segundo Goes *et al.* (2010), o beneficiamento de produtos agroindustriais produz coprodutos que contribuem com alternativas para o sistema de produção de animais ruminantes. Dentre estes possíveis coprodutos de utilização na alimentação de ruminantes destacam-se os farelos e tortas, sendo diferenciados pelo sistema de extração utilizado pela indústria produtora de biodiesel. A extração mecânica resulta na torta com uma maior concentração de óleo (20%) e a extração por solvente resulta no farelo com menor teor de óleo, porém alta concentração proteica.

A não utilização de farelos e tortas oriundos do processamento de extração de óleo de fontes não usuais, certamente está relacionada com a falta da informação nutricional presentes nos coprodutos.

O valor nutricional do alimento é determinado pela biodisponibilidade de nutrientes, a solubilização e processos de hidrólise no trato gastrointestinal. Os parâmetros cinéticos de fermentação são caracterizados pela degradação e propriedades intrínsecas do alimento, que limitam a sua disponibilidade para o ruminante, determinar a proporção de alimentos consumidos que pode ser absorvida e utilizada pelo animal dependem um crescimento ativo e desenvolvimento da população microbiana no rúmen.

Para determinação da qualidade nutricional de dietas contendo coprodutos utiliza-se de técnicas *in vitro* ou *in situ*, porém os resultados são interpretados com base na análise de resíduos não digeridos ou fermentados a diferentes tempos de incubação, e apresentam como desvantagem a dificuldade de estudar estágios iniciais de fermentação (Pell & Schofield, 1993).

Como opção para o desaparecimento do substrato, medir a produção acumulada de gás como um indicador do metabolismo do carbono, é uma escolha de estudo, este sistema possui duas principais vantagens: o produto final medido (gás) é um resultado direto do metabolismo microbiano, em vez de gravar o desaparecimento do substrato e a formação de produtos final da fermentação pode ser monitorada em intervalos curto de tempo e, por conseguinte, a cinética de fermentação pode ser descrita com precisão principalmente nos estágios iniciais.

208 Quando se deseja simular uma atividade contínua como a degradação do alimento no
209 Rúmen, a determinação do substrato de fermentação residual após um determinado período de
210 incubação é inadequado. A utilização da técnica de produção de gás *in vitro* apresenta elevada
211 capacidade de operação e baixo custo, podendo ser determinado pelo método semi ou totalmente
212 automatizado.

213 O método semi automatizado necessita de maior trabalho, sendo necessária uma seringa
214 adequada para medir o deslocamento do embolo e partir disso determinar a produção de gás,
215 diferente do método totalmente automatizado, onde o sistema presente na tampa (módulo) do
216 recipiente informa ao programa do computador a produção de acordo com o tempo pré-
217 determinado.

218 No estudo de alimentos que apresentam pouca informação, sobre a avaliação nutricional,
219 técnicas como os métodos *in vitro*, são escolhas para avaliar, a cinética de fermentação no líquido
220 ruminal, evitando os métodos *in vivo*, que poderiam acarretar problemas metabólicos decorrentes de
221 fatores antinutricionais desconhecidos.

222

223 1.2 REVISÃO DE LITERATURA

224 1.2.1 Uso de oleaginosas e seus coprodutos

225 A utilização das oleaginosas na cadeia do biodiesel com intuito de amenizar os efeitos da
226 poluição alavancou sua produção e favoreceu no aumento de coprodutos possíveis de utilização na
227 alimentação animal.

228 As oleaginosas são plantas que contém um alto teor de óleo, tanto a partir de suas sementes
229 (soja, colza/canola, girassol e crambe) como a partir de seus frutos (palma, babaçu, coco), podendo
230 ser utilizadas para a produção de óleo vegetal. Outra característica importante de algumas dessas
231 plantas é o fato de que após a extração do óleo, os coprodutos podem ser utilizados para diferentes
232 aplicações.

233 Campos & Carmélio (2009) afirmaram que as oleaginosas são compostas por uma parte
234 proteica e outra de óleo. No processo de produção do biodiesel depois da extração do óleo sobra
235 torta ou farelo, fartamente utilizados na alimentação animal, para geração de fontes de proteína
236 como carne e leite.

237 Porém alguns coprodutos apresentam poucas informações de sua capacidade nutricional
238 impedindo - os de serem utilizadas com uma frequência maior, oleaginosas essas como: crambe,
239 girassol, canola entre outras.

240

241 1.2.2 Girassol

242 Segundo Castro *et al.* (1997), o girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea anual,
243 originária da América Central e do Norte, destaca-se como a quarta oleaginosa em produção de
244 grãos e a quinta em área cultivada no mundo. Até o ano de 1997, não em vista como produção
245 econômica, pois apresentava baixa produção por tonelada, baixos teores de óleos, susceptibilidade
246 ao ataque de insetos e pouca comercialização (Carvalho, 2006).

247 Um aspecto importante a ser considerado é que o girassol, após a extração do óleo, permite
248 o aproveitamento da torta ou do farelo restante, sendo a principal opção disponível no arraçoamento
249 animal. A extração do óleo através de prensas, que deve ser a opção preferencial na pequena
250 produção de biocombustíveis, gera uma torta que contém aproximadamente 15% de óleo e que
251 apresenta características bromatológicas importantes, apresentando elevados princípios nutricionais
252 para alimentação animal (Oliveira & Cáceres, 2005).

253 Este subproduto é uma fonte alternativa de nutrientes, apresentam 22% de PB, 22,5% de EE
254 e digestibilidade em torno de 68% (Oliveira & Vieira, 2004); porém apresenta extrema variação no
255 seu conteúdo de lipídeos (6-30%), se assemelhando as características das sementes integrais devido
256 ao teor de lipídeos poliinsaturados. O óleo de girassol apresenta alta relação de ácidos graxos
257 poliinsaturados/saturados (65,3%/ 11,6%) (Fernandes *et al.*, 1998). O teor de poliinsaturados é
258 constituído, em sua quase totalidade pelo ácido linoléico (65%) que por não ser sintetizado pelo
259 organismo é classificado como essencial, participando das funções fisiológicas do organismo.

260 Stein (2003), ao substituir 25% e 50% da proteína bruta do farelo de soja pela torta de
261 girassol, com 15,5% de extrato etéreo na matéria seca, em concentrados contendo o milho grão
262 como fonte energética, verificou efeito significativo sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca
263 (DIVMS), apresentando valores de 92,14%; 85,42% e 85,09%, para os tratamentos controle, com
264 25% e com 50%, respectivamente; para a digestibilidade *in vitro* da proteína bruta (DIVPB), a
265 média foi de 67,65%.

266 Mizubuti *et al.*, (2011) ao analisar a cinética de fermentação dos coprodutos; farelo de
267 crambe; farelo de algodão; torta de crambe; torta de soja e torta de girassol, verificou que a torta de
268 girassol foi a que apresentou as menores taxas de degradação de carboidratos fibrosos, o que poderá
269 reduzir o fluxo de alimentos no trato gastro intestinal, interferindo diretamente no consumo.

270 Lima *et al.*, (2013), trabalhando com torta de girassol em substituição ao farelo de soja nos
271 níveis de 0% 20% 40% e 60% concluiu que a suplementação com torta de girassol para novilhos de
272 corte em pastejo, em substituição parcial ao farelo de soja não altera os parâmetros ruminais e o
273 consumo de matéria seca total, mantendo assim valores normais para novilhos suplementados a
274 pasto.

275 Para certificar da qualidade da torta de girassol é necessário maior número de pesquisas
276 principalmente devido a sua despadronização característica de coprodutos, necessitando de
277 melhores informações.

278

279 1.2.3 Crambe

280 O crambe (*Crambe abyssinica Hochst*) é uma espécie vegetal da família das crucíferas,
281 sendo uma planta de inverno, originária do Mediterrâneo e tem sido cultivada na África, Ásia,
282 Europa, Estados Unidos, México e América do Sul, como cultura para cobertura do solo (Perry *et*
283 *al.*, 1979). Tem despertado interesse dos produtores brasileiros, por ser mais uma alternativa para a
284 safrinha, semeada após a colheita da soja em março/abril.

285 De acordo com Pitol & Roscoe (2010), as pesquisas e sua produção comercial se
286 intensificaram a partir dos anos 80, após introdução nos Estados Unidos da América, no Reino
287 Unido e em alguns países da Europa, como a Itália, França e Portugal. Contudo, as áreas plantadas
288 nesses países não aumentaram expressivamente, porque essa planta compete por área com as
289 principais culturas de safra, como o milho, a soja e o trigo, sendo que nessas regiões não é possível
290 cultivar o crambe em safrinhas (período de entressafra compreendido entre as culturas principais e
291 iniciada após a cultura de verão). Dessa forma, o crambe vem se difundindo para outros países,
292 como a Austrália, a África do Sul, o Paraguai e o Brasil.

293 No Brasil, a partir da criação do programa nacional de uso e produção de biodiesel, o
294 crambe mostrou-se como uma oleaginosa com potencial para este fim, produzindo sementes com
295 bom teor de óleo (26% a 40%) e com ótima qualidade para a produção deste combustível.

296 Devido às variadas utilidades citadas, houve um crescente interesse pela produção de óleo
297 vegetal via cultura do crambe antes, basicamente, destinada à produção de forragem. Atualmente
298 apresenta-se em expansão de cultivo, o que alavanca os estudos em relação ao manejo da cultura,
299 produção de óleo e o destino ideal para os coprodutos produzido pelas indústrias envolvidas na
300 produção de biodiesel.

301 Mizubuti *et al.*, (2011) ao avaliar a cinética de fermentação *in vitro* dos coprodutos; farelo
302 de crambe; farelo de algodão; torta de crambe; torta de soja e torta de girassol, verificaram que a
303 torta de soja e torta de crambe foram os alimentos com as maiores taxas de degradação para os
304 carboidratos fibrosos, isso significa que as dietas com presença desses coprodutos apresentaram
305 maior taxa de degradação, ou seja maior disponibilidade e nutrientes.

306 Souza (2011) observou concentração proteica de 37,12% e 4,94% para extrato etéreo no seu
307 estudo com farelo de crambe na alimentação bovina, evidenciando o potencial deste coproduto
308 como fonte proteica e energética para ruminantes.

309 Os coprodutos oriundos da extração do óleo do crambe apresentam características
310 interessantes (alto valor energético e proteico e boas taxas de degradação), as quais poderá
311 possibilitar o uso na alimentação de ruminantes. Carrera *et al.*, (2012) trabalharam com crambe na
312 alimentação de ruminantes e observam valores de 43,11% e 32,61% de proteína bruta (PB) assim
313 como 0,56% e 18,40% de extrato etéreo (EE) para farelo e torta de crambe respectivamente.

314 Silva (2013) trabalhou com inclusão de torta de crambe nas proporções de 4%, 8% e 12% na
315 matéria seca para ovinos e verificou que a torta de crambe com 28,7% de PB e 28% de EE o que
316 deprimiu o consumo de matéria seca, o ganho diário de peso e a digestibilidade.

317

318 **1.2.4 Digestibilidade**

319 Os sistemas atuais de adequação de dietas para ruminantes necessitam de informações sobre o
320 alimento no que diz respeito às suas frações de carboidratos e proteínas, bem como de suas taxas de
321 digestão, para que se possa estimar com maior exatidão o desempenho dos animais e maximizar a
322 eficiência de utilização dos nutrientes (Russell *et al.*, 1992; Sniffen *et al.*, 1992; Fox *et al.*, 1992).

323 Uma das maneiras de estimar a qualidade dos alimentos, assim como a taxa de digestão, é
324 através da digestibilidade e degradabilidade, as quais podem ser verificadas em quatro maneiras,
325 sendo elas: digestibilidade *in vivo* consiste na utilização de animais quanto maior a quantidade de
326 animais melhor será a confiabilidade dos resultados do trabalho, degradabilidade *in situ* esta
327 necessita de animais em menor quantidade, sendo necessário um processo cirúrgico antes
328 (Rumenotomia), degradabilidade ou digestibilidade *in vitro* trabalha com equipamentos capazes de
329 simular um dos principais compartimentos (Rúmen) dos animais ruminantes, necessitando apenas
330 de dois animais responsáveis pelo fornecimento do inoculo e por ultimo a degradabilidade *in vitro*
331 com produção de gás, utiliza de equipamentos que determinarão a fração digestível dos alimentos
332 via produção cumulativa de gás.

333 A digestibilidade *in vivo* pode ser influenciada por efeitos associativos, nível de consumo,
334 taxa de passagem e interações destes fatores; por isso, comumente é difícil imitar essas condições
335 nas metodologias *in vitro* (Cochran *et al.*, 1986).

336 No entanto busca-se cada vez mais aumentar o uso de novas tecnologias, as quais apresentam
337 não somente a facilidade de manuseio e posteriores resultados próximos da realidade, bem como,
338 menor uso de animais impossibilitando qualquer prática contra o bem estar animal.

339

340 **1.2.5 Degradabilidade e digestibilidade *in vitro***

341 Os métodos *in vivo* são os mais precisos para determinar a digestibilidade dos alimentos,
342 mas apresenta um custo muito alto, sendo assim, metodologias como digestibilidade ou

343 degradabilidade *in vitro* e degradabilidade *in situ* são utilizadas para possibilitar o desenvolvimento
344 de pesquisas com um grande numero de amostras, a tendência é ocorrer diminuição do uso de
345 animais para ensaios de degradabilidade *in situ* devido à preocupação com o bem estar animal.
346 Diante desta informação, metodologias utilizadas para determinar a digestibilidade ou
347 degradabilidade *in vitro* são cada vez mais apreciadas e aperfeiçoadas.

348 A degradabilidade *in vitro* tenta simular a atividade realizada no ambiente ruminal, podendo
349 assim, de acordo com os resultados fornecer esse alimento e saber quais seriam os possíveis
350 parâmetros de desempenho que o animal irá responder ao mesmo. O princípio deste método
351 consiste em deixar amostras de alimentos em contato com o inóculo ruminal em ambientes, onde
352 simulam as condições predominantes do rúmen dos animais (presença de microorganismos,
353 anaerobiose, temperatura de 39°C, solução de saliva artificial e pH de 6,9) por 48 horas. Se for
354 necessário passar de 48 horas, quando deseja determinar a digestibilidade, é realizada a adição de
355 pepsina e ácido clorídrico e as amostras são mantidas por mais 24 horas. Logo a seguir é feita a
356 filtração, recuperando-se o material residual, ou seja, a fração que não sofreu digestão.

357 Têm sido feitos estudos para comparar o método *in vitro* com o *in situ* para determinação da
358 degradabilidade dos alimentos. O método *in vitro* é comumente utilizado pela conveniência, ou
359 quando grande escala de testes de alimentos é requerida (Udén, 1992). Entretanto, a acumulação de
360 produtos finais da fermentação e dieta do animal doador do líquido ruminal pode afetar a
361 digestibilidade *in vitro* da matéria seca, pois estes são fatores que interfere na população microbiana
362 (Cherney *et al.*, 1993). Daí a necessidade da adaptação do animal doador.

363 A eficiência dos ruminantes está diretamente ligada à formulação ideal de dietas para as
364 diferentes categorias, precisando para isso, um conhecimento adequado do valor nutricional dos
365 alimentos. Com o intuito de contribuir na formação de conhecimentos sobre os alimentos, o
366 surgimento de novas técnicas de avaliação desses é um processo constante. No caso de bovinos, a
367 digestão ruminal progrediu para a degradação das diversas frações alimentares, inclusive solúveis e
368 insolúveis (Campos *et al.*, 2000).

369

370 1.2.6 Produção de gases *in vitro*

371 A estreita associação entre a fermentação ruminal e produção de gases tem sido reconhecido
372 Marston, (1948), mas a história da técnica de fermentação ruminal pela medição de gases começou
373 no início dos anos 1940 (Quin de 1943). A técnica de medição de gases foi considerada de rotina na
374 avaliação de alimentos, após o trabalho de Menke *et al.*, (1979), onde uma elevada correlação entre
375 a produção de gás *in vitro* e digestibilidade aparente *in vivo* foi relatado.

376 A produção de gases é basicamente o resultado da fermentação de carboidratos para acetato,
377 propionato e butirato (Wolin, 1960; Beuvinck e Spoelstra, 1992; Blummel e Ørskov, 1993). A
378 produção de gases a partir da fermentação de proteínas é relativamente pequena em comparação
379 com a fermentação de hidratos de carbono (Wolin, 1960).

380 Os gases produzidos nesta técnica é o resultado direto da fermentação de carboidratos e além
381 da produção indireta do buffer de ácidos graxos de cadeia curta e CO₂ liberado do tampão utilizado.

382 Este é considerado um método alternativo que vem sendo utilizado o qual se limita a um
383 único animal doador de inóculo, e foi proposto por Maurício *et al.* (1999); Menke & Steingass
384 (1988); Pell & Sochfield (1993).

385 A digestão anaeróbica pelos microorganismos ruminais produz, ácidos graxos de cadeias
386 curtas, CO₂, CH₄ e vestígios de H₂. De acordo com Hungate (1966), a medição da produção de
387 gases *in vitro* pode ser utilizada para estudar a taxa e a extensão da degradação dos alimentos.

388 A produção de gases é diretamente proporcional à fermentação microbiana do alimento e,
389 como pode ser medida a intervalos frequentes, permite avaliar o modo como ocorre o ataque
390 microbiano na produção do alimento no rúmen.

391 A técnica *in vitro* com produção de gases é semelhante a técnica *in situ*, pois as duas se
392 baseiam na degradação dos alimentos pelos microorganismos ruminais. A técnica consiste em
393 determinar produção de gases pelos microorganismos durante o processo de degradação. Esta
394 técnica permite estimar a qualidade nutricional dos alimentos por meio da degradabilidade do
395 alimento *in vitro*, em função da produção cumulativa dos gases CO₂ e CH₄ liberados durante a
396 fermentação da amostra incubada em líquido ruminal tamponado (Pell; Schofield, 1993;
397 Theodourou *et al.*, 1994).

398 Trei *et al.* (1970) afirmaram que a produção de gases foi altamente correlacionada com o
399 desaparecimento da MS do milho, a produção de ácidos graxos voláteis e a digestão de amido. No
400 sistema manométrico utilizado pelos autores supracitados, o amido representou a grande porção do
401 substrato; conseqüentemente, a maior porção dos gases produzidos. Portanto, a técnica de produção
402 de gases *in vitro* oferece rápida estimativa da taxa de degradação e pode ser útil para estimar a
403 degradabilidade dos alimentos pelos bovinos.

404 Segundo Campos *et al.*, (2000) esse sistema de digestibilidade *in vitro* com produção de
405 gases, oferece a vantagem de fornecer dados de duas digestibilidades (digestibilidade aparente e
406 verdadeira) dos alimentos com apenas uma incubação; o volume de gases produzido pode ser
407 indicador da digestibilidade aparente do alimento pela perda de MS, e o resíduo que sobra pode ser
408 quantificado para se calcular a digestibilidade “verdadeira” do alimento, medida após tratamento do
409 resíduo com detergente neutro para remoção dos microrganismos que podem ser em quantidade

410 relativamente grande, após 24 ou 48 horas de incubação seguindo a metodologia de Blummel *et al*
411 (1993).

412 A técnica consiste em utilizar substrato moído, meio de cultura anaeróbico e inóculo
413 microbiano proveniente do fluido ruminal. O substrato pré-pesado é suspenso no meio anaeróbico,
414 mantido a 39°C e o fluido ruminal fresco é adicionado como inóculo. A partir deste momento, a
415 produção de gases da fermentação começa a ser registrada possibilitando a descrição da cinética de
416 fermentação (Williams 2000).

417 Tendo em mente a necessidade de desenvolver um sistema *in vitro* capaz de descrever a
418 cinética de fermentação ruminal, Pell & Schofield (1993) desenvolveram um sistema automático
419 para medição da produção de gases no qual cada frasco um sensor de pressão com capacidade de
420 leitura de 0 a 15 psi (pressão por polegada quadrada) e uma agulha metálica não conectada, sendo
421 sensores capazes de converter mudanças na pressão em sinal eletrônico que é enviado ao
422 computador programado para converter voltagem em volume de gases.

423 A técnica de produção de gases é simples e de baixo custo, o que a torna atrativa para
424 qualquer laboratório envolvido em estudos de alimentos para ruminantes. A sua investigação
425 envolve um animal canulado no rúmen e permite o trabalho com várias amostras por corrida. São
426 vantagens da técnica de produção de gases e a possibilidade de processar grande número de
427 amostras em curto espaço de tempo (Barcelos *et al.*, 2001).

428 De acordo com Getachew *et al.* (1998) os gases formados e medidos no rúmen, pela técnica
429 *in vitro* de produção de gases, podem ser de origem direta ou indireta. A produção direta de gases é
430 originada da fermentação dos carboidratos (pentoses e hexoses) no rúmen e a produção indireta,
431 pela neutralização dos ácidos graxos voláteis pelo tampão bicarbonato presente no líquido ruminal
432 ou saliva artificial.

433 Os gases são produzidos principalmente quando o substrato é fermentado a acetato e
434 butirato. De acordo com Fondevilla e Barrios (2001) para cada mmol de ácido butírico produzido
435 pela fermentação *in vitro* são gerados um total de 3 mmol de CO₂, e para cada mmol de ácido
436 acético são produzidos 2 mmol de CO₂, enquanto que o ácido propiônico e o ácido lático ambos
437 apresentam produção total de 1 mmol de CO₂ cada.

438

439

440

441

442

443

444
445
446
447
448
449

450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476

1.3 OBJETIVO

Objetivou-se com o presente trabalho determinar o efeito de níveis crescentes de coproduto (torta de girassol e torta de crambe) em dietas utilizadas na alimentação de ruminantes (bovinos e ovinos) sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO), proteína bruta (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*.

1.4 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar a digestibilidade de dietas com diferentes níveis de coprodutos (torta de girassol e torta de crambe), assim como os parâmetros (pH e N-Amoniacal) de líquido ruminal proveniente da digestibilidade *in vitro*. Avaliar os parâmetros cinéticos pelo método da produção de gás *in vitro*.

1.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

477

- 478 AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO – ANP, 2010 disponível em: <http://www.anp.gov.br/>
479 acessado em 22/08/2013.
- 480 BARCELOS A. F., PAIVA P. C. A., PERÉZ J. R. O., TEIXEIRA J. C., CARDOSO R. M.
481 Avaliação da Casca e da Polpa Desidratada de Café (*Coffea arabica* L.) pela Técnica de
482 Degradabilidade In vitro de Produção de Gás. **Revista brasileira de zootecnia**, 30(6):1829-
483 1836, 2001.
- 484 BLUMMEL, M., ORSKOV, E.R. Comparison of in vitro gas production and nylon bag
485 degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science and**
486 **Technology**, 40(3):109-119, 1993.
- 487 CAMPOS F., P. BOSE M., L., V. BOIN C. LANNA D., P., D. MORAIS J., P., G.. Avaliação do
488 Sistema de Monitoramento Computadorizado de Digestão *In Vitro*. 3. Desaparecimento da
489 Matéria Seca e/ou FDN pela Produção de Gás. **Revista brasileira de zootecnia**, 29(2):537-544,
490 2000.
- 491 CAMPOS, A. A., CARMÉLIO, E. C. Construir a diversidade da matriz energética: o Biodiesel no
492 Brasil, publicado no livro Biocombustíveis. Biocombustíveis: a energia da controvérsia.
493 Abramovay; R. (organizador). São Paulo: **Editora Senac**. São Paulo. Páginas 60 -97. 2009.
- 494 CARRERA, R. A. B., VELOSO, C. M., KNUPP, L. S., SOUZA, A. H., DETMANN, E., LANA,
495 R., P. Protein co-products and by products of the biodiesel industry for ruminants feeding.
496 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.5, p.1202-1211, 2012.
- 497 CASTRO, C., CASTIGLIONI, V. B. R., BALLA, A. A cultura do girassol. Londrina: **EMBRAPA-**
498 **CNPSO**, 1997. 36 p.
- 499 CHERNEY, D.J.R., SICILIANO, J.J., PELL, A.N.. Technical note: forage in vitro dry matter
500 digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. **Journal Animal Science**, 71(5):
501 1993, 1335-1338.
- 502 COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D., GALYEAN, M. L. Predicting digestibility of
503 different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal Animal**
504 **Science**. 1986. 63(5):1476-1483.
- 505 FERNANDES, F.D.; MABILE, R.F.; GOMES, A.C.; CABRAL, M.A.C. Composição química de
506 sementes de dois genótipos de girassol (*Heliantus annuus* L.) cultivados nos cerrados do Distrito
507 Federal. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Forragicultura, 35, 1998,
508 **Anais**. Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998, p. 602-604.
- 509 FONDEVILLA, M.; BARRIOS, A. The gas production and its application to the study of the
510 nutritive value of forages. Cuban **Journal of Agricultural Science**. v.35, n.3, p.187-199, 2001.
- 511 FOX, D.G. *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III – Cattle
512 requirements and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3578-3596, 1992.
- 513 FUNDAÇÃO MS Tecnologia e produção: Crambe 2010. Maracaju – MS. 60 p.
- 514 GETACHEW, G., BLÜMMEL, M., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. *In vitro* gas measuring
515 techniques for assesment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and**
516 **Technology**, v.72, p.261-281, 1998.
- 517 GOES R., H., T., B. SOUZA K., A. PATUSSI R., A. CORNELIO T., C. OLIVEIRA E., R.
518 BRABES K., C., S. Degradabilidade in situ dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus
519 coprodutos em ovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 32, n. 3, p. 271-277,
520 2010.

- 521 HUNGATE, R. E. **The Rumen and Its Microbes**. Academic Press, New York. 1966.
- 522 MARSTON, H.R. The fermentation of cellulose by organisms from the rumen of sheep. **Biochem.**
523 **J.** 42,564–574. 1948.
- 524 MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S. M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.;
525 THEODOROU, M. K. A semi-automated in vitro gases production technique for ruminants
526 feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.
- 527 MENKE, K. H., STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical
528 analysis and in vitro gas production using rumen fluid. **Animal Research Development**, v. 28,
529 n. 1, p. 7-55, 1988.
- 530 MENKE, K.H., RAAB, L., SALEWSKI, A., STEINGASS, H., FRITZ, D., SCHNEIDER, W. The
531 estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from
532 the gas production when they are incubated with rumen liquor. *J. Agric. Sci.* 93, 217–222. 1979.
- 533 MIZUBUTI, I. Y., RIBEIRO, E. L. A., PEREIRA, E. S., PINTO, A. P., FRANCO, A. L. C.,
534 SYPPERRECK, M. A., DÓREA, J. R. R., CUNHA, G. E., CAPELARI, M. G. M., MUNIZ, E. B.
535 Cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do
536 biodiesel pela técnica de produção de gás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32,
537 suplemento 1, p. 2021-2028, 2011.
- 538 NATIONAL RESERCH COUNCIL – NRC. Nutrient requeriment of dairy cattle. 7.rev.ed.
539 Washington, D.C.:2001. 381p.
- 540 NATIONAL RESERCH COUNCIL – NRC. Nutrients requeriments of beef cattle. 7.ed.
541 Washington, D.C.:1996. 244p.
- 542 OLIVEIRA, M. D. S.; CACERES, D.R. Girassol na alimentação de bovinos. Jaboticabal: **FUNEP**.
543 20 p. 2005.
- 544 OLIVIERA, M. F.; VIEIRA, O. V. Extração do óleo de girassol utilizando miniprensa. Londrina:
545 **EMBRAPA-CNPSO**. 27p. 2004.
- 546 PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage
547 digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 1063- 1073, 1993.
- 548 PITOL, C.; ROSCOE, R. Introdução e melhoramento do crambe no brasil. In: FUNDAÇÃO MS.
549 Tecnologia e produção: crambe 2010. Maracajú: **FUNDAÇÃO MS**, 2010. p.4-6.
- 550 QUIN, J.I., 1943. Studies on the alimentary tract of merino sheep in south Africa: VII. Fermentation
551 in the forestomachs of sheep. Onderstepoort *J. Vet. Sci. Anim. Industry* 2, 91–117.
- 552 ROSCOE, R.; DELMONTES, A. M. A. Crambe é nova opção para biodiesel. **Agrianual**. São
553 Paulo: Instituto FNP, 2008. p. 40-41. 2009
- 554 RUSSELL, J.B.; O’CONNOR, D.J.; FOX, D.G. VAN SOEST, P. J., SNIFFEN, C. J. A net
555 carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: ruminal fermentation. **Journal of**
556 **Animal Science**, v.70, n.12, p.3551-3581, 1992.
- 557 SILVA, R. B. Substituição do farelo de soja por torta de crambe para ovinos em crescimento.
558 **Dissertação** (Mestrado em Produção e Nutrição de Ruminantes) Universidade Federal de
559 Lavras, UFLA, Lavras – MG 2013.
- 560 SNIFFEN, C.J.; O’CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J; FOX D. G., RUSSELL, J. B. A net
561 carbohydrate and protein system for evaluating cattle dietes: II Carbohydrate and protein
562 availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

- 563 SOUZA, A.D.V. Farelo de Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) em Substituição ao Farelo de Soja
564 na Dieta de Ruminantes. 2011, 159 p. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade
565 Católica Dom Bosco, UCDB, Campo Grande – MS.
- 566 STEIN, M. S. Digestibilidade *in vitro* de concentrados com diferentes níveis de torta de girassol. 43
567 f. **Monografia** (Trabalho de graduação em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e
568 Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- 569 THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A.B.; FRANCE, J. A
570 simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics
571 of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, v.12, n.48, p.185-197, 1994.
- 572 TREI, J., HALE, W.H., THEURER, B.. Effect of grain processing on *in vitro* gas production.
573 **Journal Animal Science**, 30(5):825-831, 1970.
- 574 UDÉN, P. The influence of leaf and stem particle size *in vitro* and of sample size in sacco on
575 neutral detergent fiber fermentation kinetics. **Animal Feed Science and Technology**, 37:85-94,
576 1992.
- 577 WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal Dairy Science**. 43, 1452–1459.
578 1960.
- 579 BEUVINK, J.M.W., SPOELSTRA, S.F. Interactions between substrate, fermentation end-products,
580 buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed
581 rumen microorganisms *in vitro*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 37, 505–509. 1992.
- 582 BLUMMEL, M., ØRSKOV, E.R. Comparison of gas production and nylon bag degradability of
583 roughages in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science Technology** 40, 109–119.
584 1993.
- 585
- 586
- 587
- 588
- 589
- 590
- 591
- 592
- 593
- 594
- 595
- 596
- 597
- 598
- 599
- 600
- 601

602
603
604
605
606
607
608
609

610

611

612

613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629

CAPÍTULO 2

630 **CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS COM TORTA DE**
631 **GIRASSOL**

632
633 **RUMINAL FERMENTATION KINETIC DIETS WITH GIRASSOL CRUSHED IN**
634 **THE SOYBEAN MEAL REPLACEMENT BY GAS PRODUCTION TECHNIQUE**

635

636 **Resumo:** Objetivou-se determinar o efeito de níveis crescentes de torta de girassol em dietas para
637 ruminantes sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO),
638 proteína bruta (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação
639 ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*. Foram utilizadas duas dietas sendo
640 que, na dieta experimental 1: caracterizada pela presença de *Brachiaria brizantha* cv Marandu e os
641 concentrados que apresentavam diferentes proporções de torta de girassol sendo; 0 g/kg, 200 g/kg,
642 400 g/kg e 600 g/kg em substituição parcial ao farelo de soja. A dieta experimental 2: utilizou feno
643 de Tifton e os concentrados caracterizaram-se pela presença de 0 g/kg, 100 g/kg, 200 g/kg e 300
644 g/kg de inclusão da torta de girassol no concentrado. Na dieta experimental 1: não verificou efeito
645 linear (P>0,05) dos níveis de até 600 g/kg da torta de girassol sobre a DIVMS e DIVMO, no
646 entanto teve efeito quadrático. Para os coeficientes de DIVPB houve efeito (P<0,05) linear e
647 quadrático. As frações A e D (fração solúvel e fração insolúvel respectivamente), não foram
648 influenciadas pela torta de girassol (P>0,05), porém, foi observado efeito linear decrescente
649 (P<0,05) dos níveis de torta de girassol sobre a fração B (taxa de degradação da fração solúvel). Os
650 tratamento controle, 200 g/kg e 600 g/kg de torta de girassol influenciou (P<0,05) os valores de pH,
651 obsevou para esta dieta que a concentração de N-NH₃ ruminal, apresentou efeito para o tempo de
652 coleta (P>0,05). Para dieta experimental 2: Houve influência significativa (p<0,05) dos níveis de
653 torta de girassol sobre as médias de DIVMS e DIVMO das dietas. A fração A (mL/gás) e sua taxa
654 de degradação B não foi influenciada (P>0,05) pelas dietas experimentais, porém, houve efeito
655 linear decrescente (P<0,05) para degradação da fração D e sua respectiva taxa de degradação
656 (fração E). O pH do líquido ruminal teve uma queda linear (P<0,05) em função do tempo de
657 incubação, já a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) apresentou aumento linear crescente
658 (P<0,05) com o aumento do nível de torta de girassol na dieta. O uso de dietas com torta de girassol
659 não interferiu na DIVMS e DIVMO, porem, interveio na DIVPB, alterou a produção de gás bem
660 como os parâmetros (pH e N-Amoniacal), evidenciando seu potencial de uso em até 600 g/kg de
661 substituição ao farelo de soja e 300 g/kg de inclusão.

662 **Palavras chaves:** coproduto, digestibilidade *in vitro*, parâmetros ruminais, produção de gases.

663

664

665 **Abstract:** This study aimed to determine the effect of increasing levels of sunflower cake in diets
666 for ruminants on in vitro dry matter digestibility (IVDMD), organic matter (IVDOM), crude protein
667 (IVDCP), the kinetics of cumulative gas production, parameters ruminal fermentation,
668 concentration of ammonia-N ($\text{NH}_3\text{-N}$) and pH in vitro. Two diets were used and, in the
669 experimental diet 1: characterized by the presence of *Brachiaria brizantha marandu* and
670 concentrates that had different proportions of sunflower cake being ; 0 g/kg, 200 g/kg, 400 g/kg and
671 600 g/kg partially substituting bran soybeans. Experimental diet 2: used Bermuda grass hay and
672 concentrates characterized by the presence of 0 g/kg, 100 g/kg, 200 g/kg and 300 g/kg of sunflower
673 cake inclusion in the concentrate. The coefficients of IVDMD, ammonia-N ($\text{NH}_3\text{-N}$) and ruminal
674 pH, cumulative gas production and ruminal fermentation kinetic parameters were determined using
675 ruminal and Buffer. In experimental diet 1: not checked linear effect ($P > 0.05$) levels of up to 600
676 g/kg of sunflower cake on IVDMD and IVDOM, however had a quadratic effect. For the
677 coefficients IVDCP was no effect ($P < 0.05$) linear and quadratic. Fractions A and D (soluble
678 fraction and insoluble fraction, respectively), were not influenced by sunflower cake ($P > 0.05$),
679 however, was observed linear effect ($P < 0.05$) levels of sunflower cake on fraction B (degradation
680 rate of soluble fraction). The control treatment, 200 g/kg and 600 g/kg of sunflower cake influenced
681 ($P < 0.05$) pH values , observe to this diet the concentration of ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$, was seen at the
682 time of collection ($P > 0, 05$). Experimental diet for 2: There was a significant influence ($p < 0.05$)
683 levels of sunflower cake on the average IVDMD and IVDOM diets. Fraction A (mL / gas) and its
684 degradation rate B was not influenced ($P > 0.05$) by the diets, however, there was a negative linear
685 effect ($P < 0.05$) degradation of fraction D and their respective rate degradation (fraction E). The
686 ruminal pH had a linear decrease ($P < 0.05$) as a function of incubation time, since the concentration
687 of ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) increased linearly increased ($P < 0.05$) with increasing level of
688 sunflower cake in the diet. The use of diets with sunflower cake no effect on IVDMD and IVDOM,
689 however, intervened in IVDCP changed the gas production and the parameters (pH and Ammonia -
690 N). Demonstrating its potential use by up to 600 g/kg of replacing soybean meal and 30 g/kg
691 inclusion.

692 **Key words:** coproduct, in vitro digestibility, ruminal fermentation, gas production.

693

694

695

696

697

2.1 Introdução

698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732

As tortas de oleaginosas oriundas da produção de biodiesel apresentam potencial de uso na alimentação de ruminantes, haja vista as consideráveis concentrações de proteína e extrato etéreo, que as caracterizam como alimentos proteicos e/ou energéticos, capazes de suprir boa parte das exigências nutricionais de proteína e energia dos animais (Oliveira *et al.*, 2010).

A torta de girassol apresenta em média 22% de PB 22,5% de EE e digestibilidade em torno de 68% (Oliveira & Vieira, 2004). A PB da torta de girassol caracteriza-se por ser extensamente degradável, sendo seu teor de proteína não degradável no rúmen menor que 10% (Beran *et al.*, 2007). Goes *et al.*, (2008 e 2010), encontraram baixa e média degradabilidade ruminal da PB para a torta de girassol, pela técnica *in situ*, de 36,65% e 50,00%, respectivamente. Lima *et al.*, (2013) trabalhando com torta de girassol para bovinos verificou que este coproduto apresenta 30,93% de PB e 16,76% de EE e digestibilidade da matéria seca de 64,54%, esses resultados indicam a potencialidade de uso da torta de girassol na dieta de ruminantes, no entanto evidencia a necessidade de avaliação do mesmo, pois por se tratar de um coproduto não apresenta padronização da produção.

Para Meneghetti e Domingues, (2008), o uso bem sucedido dos coprodutos muitas vezes é limitado em função do escasso conhecimento sobre as características nutricionais destes. Os autores supracitados reafirmam que o termo coproduto foi originado para caracterizar aqueles produtos resultantes de um processamento industrial, onde o objetivo final da produção é outro produto. O uso desse termo traz sempre alguma conotação negativa a esses alimentos. Entretanto, quando analisados sob o prisma da nutrição, muitas vezes se apresentam como fontes nutricionais com qualidades excepcionais, como o farelo de soja, caroço de algodão, etc.

Para certificar da qualidade nutricional destes coprodutos algumas técnicas de avaliação devem ser empregadas, com intuito de evitar transtornos aos animais, por isso, a utilização desses alimentos em experimentos *in vitro* é utilizada, determinado assim à qualidade nutricional deste alimento, ao ponto de verificar possíveis problemas nutricionais, os quais podem ser observado por resultados como redução da degradação ou digestão, aumento de compostos nitrogenados, redução brusca de pH e entre outros.

Deste modo, objetivou-se determinar o efeito de níveis crescentes de torta de girassol em dietas para ruminantes sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO), proteína bruta (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*.

2.2 Material e Métodos

733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Alimentos (LANA) do setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e Universidade Estadual de Maringá (UEM), entre os meses de setembro e dezembro de 2012 e março a maio de 2013.

O delineamento experimental utilizado foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Foram avaliadas 8 dietas (quatro por experimento) com diferentes proporções de torta de girassol. Foram feitos 2 experimentos.

No experimento 1, utilizou-se *Brachiaria brizantha* cv Marandu in natura como volumoso e concentrados com 0 g/kg, 200 g/kg, 400 g/kg e 600 g/kg em substituição parcial ao farelo de soja, em uma proporção volumoso concentrado de 60 : 40 (Tabela 1).

No experimento 2, utilizou-se feno de Tifton como volumoso e concentrados com 0 g/kg, 100 g/kg, 200 g/kg e 300 g/kg de inclusão da torta de girassol no concentrado, em uma relação volumoso concentrado de 50 : 50 (Tabela 2).

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no experimento 1 (g/Kg de MS).

Ingredientes	MS*	PB*	EE*	FDN*	FDA*	MM*
<i>Brachiaria brizantha</i>	166,30	55,70	-	748,70	376,60	41,20
Farelo de soja	856,40	509,90	67,00	341,40	200,80	96,80
Milho	878,60	116,80	32,80	139,30	54,30	17,00
Torta de girassol	950,50	309,30	167,60	426,90	312,70	47,20
Núcleo mineral	963,10	-	-	-	-	-
Componentes	0	200	400	600		
MS*	919,7	903,5	905,6	917,8		
PB*	165,00	159,10	159,20	157,40		
FDN*	488,50	497,90	502,30	516,00		
FDA*	55,10	138,60	171,60	187,30		
MM*	113,50	113,20	117,70	121,60		

MS= Matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA=fibra em detergente ácido, MM= matéria mineral. Silva & Queiroz (2002).

757 **Tabela 2.** Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no
758 experimento 2 (g/Kg de MS).

Ingredientes	MS*	PB*	EE*	FDN*	FDA*	MM*
Feno Tifton	883,90	80,10	8,80	559,20	237,10	67,30
Farelo de soja	863,10	508,20	69,20	207,40	97,20	76,90
Milho	892,10	97,40	15,19	139,40	54,30	18,90
Torta de girassol	892,60	242,70	235,40	414,90	113,60	55,60
Componentes	00	100	200	300		
MS*	872,40	872,60	883,70	887,70		
PB*	179,80	181,50	179,70	176,60		
EE*	12,70	34,30	56,30	71,80		
FDN*	602,20	619,60	625,40	603,30		
FDA*	305,10	298,30	295,10	268,00		
MM*	66,30	70,10	65,00	67,20		

759 MS*= Matéria seca, PB*= proteína bruta, EE*= extrato etéreo, FDN*= fibra em detergente neutro, FDA*=fibra em detergente ácido,
760 MM*= matéria mineral. Silva & Queiroz (2002).

761

762 Os coeficientes digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), N-amoniacal (N-NH₃) e
763 pH do líquido ruminal, produção cumulativa de gases e parâmetros cinéticos da fermentação
764 ruminal foram determinados utilizando o inóculo ruminal e a solução tampão (Tabela 3).

765 O inóculo ruminal era proveniente de dois bovinos da raça Holandesa, adultos, castrados,
766 com peso corporal médio de 380 kg, e providos de cânula ruminal. Os animais receberam uma dieta
767 composta por 80% de volumoso (silagem de milho) e 20% de concentrado (milho, farelo de soja e
768 suplemento mineral). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 8 horas e às 16 horas.

769 A coleta de líquido ruminal foi realizada no período da manhã antes da primeira refeição via
770 cânula ruminal. O líquido ruminal foi mantido em banho-maria a 39°C e o recipiente purgado com
771 CO₂ antes e após a coleta. Foram coletados 4 litros de líquido ruminal, sendo dois litros por animal
772 misturados e incluindo uma fração sólida do conteúdo ruminal. O material coletado foi transferido
773 para uma garrafa térmica pré-aquecida previamente purgada com CO₂ e fechada hermeticamente.
774 Todo o material coletado foi homogeneizado durante 10 segundos utilizando um liquidificador.
775 Posteriormente, o material foi filtrado em quatro camadas de tecido de algodão (gaze) e utilizado
776 nas incubações.

777 As soluções A e B foram misturadas na relação 1:5 atingindo o pH de 6,8 na temperatura
778 constante de 39°C.

779 A DIVMS das dietas foi determinada de acordo com metodologia descrita por Tilley &
 780 Terry (1963) modificada por Goering e Van Soest (1970), utilizando o rúmen artificial (DaisyII
 781 Fermenter®, Ankom).

782

783 **Tabela 3.** Reagente e suas respectivas quantidades para preparação das soluções tampão.

Solução A (g/litro)			Solução B (g/100mL)		
Reagentes			Reagentes		
Nome	Fórmula	Quantidade	Nome	Fórmula	Quantidade
Dihidrogenofosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	10,0g	Carbonato de sódio	Na ₂ CO ₃	15,0g
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5g	Sulfeto de sódio	Na ₂ S·9H ₂ O	1,0g
Cloreto de sódio	NaCl	0,5g			
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1g			
	uréia	0,5g			

784

785 Foram pesados 0,5 gramas de amostra em saquinhos de TNT -100 g/m, cortados e selados a
 786 um tamanho de 5,0 x 5,0 cm, conforme Casali et al. (2008). Foram utilizados dois saquinhos sem
 787 amostra (brancos) em cada jarro para correção dos dados. Os saquinhos com amostra foram
 788 colocados nos jarros, distribuídas equitativamente 10 saquinhos/jarro (8 saquinhos com amostra e
 789 dois saquinhos sem amostra ou brancos), totalizando 80 saquinhos. Em seguida, eram adicionados
 790 615,4 mL da solução tampão e 154 mL do inoculo ruminal e, acrescentado CO₂ para manter as
 791 condições anaeróbias. Após este procedimento, os jarros permaneceram no rúmen artificial DaisyII
 792 Fermenter® (Ankom) a 39°C durante 48 horas com agitação continua de acordo com o método
 793 descrito por Tilley & Terry (1963) modificada por Goering e Van Soest (1970).

794 A incubação foi interrompida após 48 horas, e os saquinhos submetidos a solução de
 795 detergente neutro durante 1 hora. Após a lavagem com esta solução os mesmos foram lavados 2
 796 vezes com água destilada quente e 1 vez com acetona, sendo transferida para estufa 105 °C por 12
 797 horas e por diferença de peso foi determinado a digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

798 A DIVMS foi calculada utilizando o resíduo após a incubação, através da fórmula:

799

$$DIVMS = \frac{A - (B - Br) \times 100}{A}$$

800

801 Em que:

802 A: matéria seca inicial = peso da amostra x 2ªMS/100;

803 B: matéria seca residual = peso do cadinho com resíduo seco – peso do cadinho – Br;

804 Br: é o branco, consiste em saquinhos vazios.

805 Após determinação da digestibilidade verdadeira da matéria seca, 4 saquinhos com amostras
806 foram abertos e de peso conhecido transferidos para cadinhos de porcelana e levados para a mufla
807 permanecendo durante 4 horas a 550° C determinando assim, a digestibilidade verdadeira *in vitro*
808 da matéria orgânica (DIVMO).

809 A DIVMO foi calculada utilizando o resíduo após a mufla, através da fórmula:

810

$$DIVMO = \frac{(A \times MO) - (B - Br) \times 100}{A}$$

811

812 Em que:

813 A: matéria seca inicial = peso da amostra x 2^aMS/100;

814 MO: matéria orgânica inicial = 2^aMS da amostra (%) - % de cinzas na base seca;

815 B: matéria orgânica residual = peso do resíduo seco – peso do resíduo calcinado (cinzas) –
816 Br (descontar peso dos cadinhos);

817 Br: matéria orgânica residual do branco = peso do resíduo seco e Br – peso do resíduo
818 calcinado do Br (descontar peso dos cadinhos).

819 Os outros 4 saquinhos restantes após a determinação da digestibilidade verdadeira da
820 matéria seca e da matéria orgânica foram utilizados na determinação da digestibilidade *in vitro* da
821 proteína bruta (DIVPB), o resíduo dos saquinhos, com peso conhecido, foram transferidos para os
822 tubos de ensaios e submetidos ao procedimento de determinação da proteína bruta com digestão,
823 destilação e titulação segundo Silva & Queiroz (2002).

824

$$DIVPB = \frac{(PBIN) - (PBRES)}{(PBIN)}$$

825

826 Em que:

827 PBIN: proteína bruta inicial;

828 PBRES: proteína bruta residual;

829 Para a determinação da produção total de gás e os parâmetros da cinética da fermentação
830 ruminal, foi utilizada a técnica automática *in vitro*. Foram utilizados oito frascos de vidro, com
831 capacidade de 250 mL, onde foram adicionados 0,5 gramas de amostra das dietas em duplicata, 100
832 mL da solução tampão, 25 mL de inócuo ruminal e CO₂. Para cada incubação realizada, foram
833 utilizados dois frascos como brancos, contendo apenas inócuo ruminal e solução tampão, com o
834 objetivo de ajustar os valores de pressão.

835 O aumento da pressão produzido dentro dos frascos durante a incubação foi mensurado em
 836 libras por polegada quadrada (psi) utilizando sistema automático RF: Gás Production System®
 837 (ANKOM). A pressão de gás dentro dos frascos foi registrada por sensores de pressão localizados
 838 nas tampas dos frascos ou módulos, os quais transferiram as informações de cada frasco por meio
 839 de uma base coordenadora conectada a um computador, a intervalos de 5 minutos, totalizando 288
 840 leituras durante 24 horas de incubação.

841 Os dados obtidos de produção de gás foram mensurados em psi, foram transformados para
 842 moles de gás por meio da equação do gás ideal:

843

$$n = \frac{VP}{RT}$$

844

845 Em que, n = quantidade de gás em moles; V = volume de gás ocupado em litros; P = pressão
 846 em pascal (KPa); T = temperatura em Kelvin ($^{\circ}\text{K}$); R = constante dos gases (8.314472 kPa·L· K⁻¹
 847 mol⁻¹).

848 Logo após, os moles foram convertido em mL de gás produzido em condições normais de
 849 temperatura e pressão (STP) utilizando a seguinte equação:

850

$$V = \frac{nRT}{P}$$

851

852 São utilizados os seguintes valores de referencia das condições de STP: 273,15°K (0°C) e
 853 101 325 Pa (1 atm = 760 mmHg).

854 Para calcular a produção de gás em mL utilizou a pressão corrigida dos frascos, a pressão
 855 atmosférica da região (96,538 kPa) e a pressão atmosférica em condições normais (101,325 kPa),
 856 sendo este o valor de P .

857 Na determinação da extensão e a taxa de produção de gás decorrente da degradação do
 858 alimento, utilizou um modelo logístico bicompartimental exponencial proposto por Pell &
 859 Schofield et al. (1994):

860

$$y = \left[\frac{A}{\{1 + \text{Exp}^{[2+4*B*(C-T)]}\}} + \frac{D}{\{1 + \text{Exp}^{[2+4*E*(C-T)]}\}} \right]$$

861

862 Sendo, y = Volume total de gás no tempo T (extensão da degradação); A e D = volume de
 863 gás (mL) das frações de degradação rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose,

864 hemicelulose), respectivamente; B e E = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta
865 (/h), respectivamente; e C = tempo de colonização das bactérias.

866 O ajuste das curvas e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foram realizados
867 utilizando-se o processo iterativo de Gauss-Newton por meio do procedimento para modelos não
868 lineares do programa SAEG (UFV, 2000).

869 Foi realizado uma adaptação nas tampas de jarros de vidros utilizados para simular as
870 condições do rúmex em uma digestibilidade *in vitro* (Anexo 1), conforme descrito por Díaz (2012)
871 podendo desta forma, determinar a concentração de N-amoniaco e do pH do líquido ruminal, Os
872 jarros foram providos de tampas com válvulas e um sistema de três vias para permitir a coleta do
873 líquido ruminal tamponado, assim como uma válvula tipo Büsen que permitia a liberação dos
874 gases produzidos durante a fermentação.

875 Foram pesadas 10 g de amostra, em cada jarro e incubado em duplicatas, junto com 1600
876 mL de solução tampão e 400 mL de inóculo ruminal. Os jarros foram mantidos em um ambiente a
877 39°C sob agitação contínua.

878 Durante a incubação, foram coletadas amostras de 20 mL do líquido ruminal tamponado
879 utilizando-se uma seringa e a torneira de três vias instalada na tampa de cada jarro. As amostras
880 foram coletas nos horários; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas após do início da incubação.

881 Em cada horário, foram utilizados 10 mL do líquido ruminal tamponado para mensurar o pH
882 das amostras em duplicata utilizando-se um pHmetro digital. O líquido ruminal restante (10 mL) foi
883 armazenado em potes plásticos contendo 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1:1, interrompendo o
884 processo fermentativo e reduzindo o pH, evitando assim a volatilização do nitrogênio amoniaco (N-
885 NH₃).

886 Para determinação do nitrogênio amoniaco do líquido ruminal pela fermentação *in vitro*,
887 utilizou a metodologia de Ferner (1965) modificada por Vieira (1980).

888 As amostras foram descongeladas e logo após transferiu 10 ml para os tubos, estes foram
889 centrifugados a 3000 rpm, durante 15 minutos, em seguida foi pipetada em duplicata uma alíquota
890 de 2,0 ml do líquido sobrenadante e colocados em tubo digestor. Posteriormente, procedeu com a
891 etapa da destilação utilizando o hidróxido de potássio com normalidade de 2N para desprender o
892 nitrogênio da amostra, os tubos com o líquido ruminal mais 20 ml de água destilada foram levados
893 ao aparelho tipo Micro – Kjeldahl, com os erlenmeyer contendo 10,0 ml de ácido bórico a 2% para
894 receber o destilado, até um volume de 50,0 ml. Na titulação utilizou ácido clorídrico a 0,05N. Só
895 assim, determinou a concentração de N- amoniaco presente no líquido ruminal. As variáveis pH e
896 N-amoniaco foram avaliadas pela análise de regressão multivariada do programa estatístico SAEG.

897

898

2.3 Resultados e Discussão

899

900 Foi observada influência significativa ($P < 0,05$) da inclusão de torta de girassol sobre a
 901 digestibilidade da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB)
 902 (Tabela 4).

903 Verificou-se que a DIVMS e DIVMO foram influenciadas da forma quadrática pelos níveis
 904 da TG ($Y = 0,695144 + 0,0797265x - 0,0167448x^2$ e $Y = 0,760157 + 0,0570422x - 0,0129689x^2$), e que
 905 o nível de até 200 g/kg apresentou os maiores coeficientes de digestibilidade. Goes *et al.* (2008)
 906 avaliando a degradação ruminal *in situ* de diferentes coprodutos agroindustriais utilizados na
 907 alimentação de bovinos, verificaram que, a fração potencialmente degradável da MS para a torta de
 908 girassol foi de 40,2%, o que proporcionou média degradação ruminal.

909

910 **Tabela 4.** Coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria
 911 orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) em g/g do (experimento 1).

Variável(g/g)	Níveis de inclusão da torta de girassol (g/kg)				Média	CV%	P<0,05	
	0	200	400	600			L	Q
DIVMS	0,76	0,79	0,78	0,74	0,77	1,80	0,230 ^{ns}	0,000*
DIVMO	0,80	0,82	0,80	0,78	0,80	1,60	0,080 ^{ns}	0,001**
DIVPB	0,19	0,56	0,58	0,63	0,50	10,04	0,000***	0,000***

912 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; NS – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

913 -Equações de efeito linear = ***Y = 0,163285+0,131404x; $r^2 = 0,68$.

914 -Equações de efeito quadrático = *Y = 0,695144+0,0797265x-0,0167448x²; $r^2 = 0,71$; **Y = 0,760157+0,0570422x-0,0129689x²; r^2
 915 = 0,63; ***Y = -0,241649+0,536338x-0,0809868x²; $r^2 = 0,89$.

916

917 Mertens (1992) relatou que o conteúdo de fibras dos alimentos é altamente correlacionada
 918 com muitos dos fatores que influenciam a produtividade tais como a sua digestibilidade, consumo
 919 de ração, taxa de passagem, ruminação e alimentação, e função ruminal. Como os valores de FDN e
 920 FDA (Tabela1), das dietas do experimento 1 apresentaram aumento a medida que elevou o nível de
 921 substituição, este talvez tenha sido o motivo que interferiu na redução da digestibilidade, já que o
 922 coeficiente com menor degradação foi para o tratamento com 600 g/kg e o ponto máximo de
 923 degradação para a dieta com 200 g/kg de TG.

924 Para os coeficientes de DIVPB houve efeito ($P < 0,05$) linear e quadrático, sendo possível
 925 visualizar um aumento de acordo com a elevação da concentração de torta de girassol, onde o maior
 926 valor de coeficiente de digestibilidade foi para o nível de 600 g/kg com 0,63 g/g. De acordo com
 927 Beran *et al.*, (2007) a torta de girassol é caracterizada como uma fonte de proteína degradável no
 928 rúmen (PDR), isso contribui com o resultado encontrado neste trabalho, visto que os valores
 929 estiveram acima da média de 0,50 g/g.

930 Sobre a cinética da fermentação ruminal (Tabela 5) verificou-se que as frações A e D (fração
931 solúvel e fração insolúvel, respectivamente), não diferiram ($P>0,05$) entre as dietas, isso mostra que
932 a presença da torta de girassol não influencia a produção de gás oriunda da degradabilidade da
933 fração solúvel (PB e CNF) e insolúvel (FDN potencialmente digestível).

934 Foi observado efeito linear decrescente ($P<0,05$) dos níveis de torta de girassol sobre a
935 fração B (taxa de degradação da fração solúvel), certamente esse resultado esteve ligado a presença
936 de fibras na dieta tendo em vista que o FDN aumentou com a elevação da concentração de torta na
937 dieta. Porém a taxa de degradação da fração de digestão lenta (E), não foi influenciada ($P>0,05$)
938 pelo coproduto.

939

940 **Tabela 5.** Médias dos parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com níveis
941 crescentes de torta de girassol em substituição ao farelo de soja (experimento 1).

Parâmetros	Dietas (g/kg)				Média	CV%	P<0,05	
	0	200	400	600			L	Q
	A (mL/gás)	4,32	6,15	3,58			4,84	4,84
B (/h)	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	15,34	0,0503*	ns
C (horas)	0,09	0,09	0,05	0,09	0,09	39,48	ns	ns
D (mL/gás)	5,94	3,77	2,95	2,43	3,78	81,22	ns	ns
E (/h)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	8,94	ns	ns

942 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; ns – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

943 -Equações efeito linear = *Y = 0,0614500-0,00505500x; $r^2 = 0,50$

944

945 Não houve efeito ($P>0,05$) da torta de girassol sobre o tempo de colonização com uma
946 média de 0,09 horas, evidenciando que a inclusão da torta de girassol em substituição ao farelo de
947 soja não interfere no tempo de colonização dos microrganismos na digestibilidade in vitro.

948 Mizubuti *et al.* (2011), avaliando a produção de gás dos coprodutos (torta de girassol, farelo
949 de algodão, torta de soja, torta de crambe e farelo de crambe) verificou maior tempo de colonização
950 (*lag time*), para torta de soja (7,01 horas) e menor tempo em torta de girassol (2,49 horas),
951 resultados este acima do observado neste trabalho, porém os autores avaliaram durante 144 horas de
952 incubação.

953 Quanto ao pH não houve efeito ($P>0,05$) da substituição do farelo de soja pela torta de
954 girassol. Lima *et al.*, (2013) trabalhando com a mesma dieta (0 g/kg, 200 g/kg, 400 g/kg e 600 g/kg)
955 com digestibilidade in situ, verificaram que a substituição parcial do farelo de soja pela torta de
956 girassol não alterou os valores de pH ruminal dos animais, apresentando média geral de 6,41, sendo
957 este resultado semelhante com o observado neste trabalho.

958 Os valores de pH deste trabalho ficaram acima (6,2) do ideal para um bom desenvolvimento
959 e atuação das bactérias celulolíticas refletindo no aumento da digestão e redução da taxa de

960 colonização para degradação da parede celular, favorecendo a taxa de passagem e melhorando a
961 eficiência dos microrganismos (Van Soest, 1994).

962 A concentração de N - amoniacal apresentou efeito linear crescente ($P < 0,05$), para os
963 tratamentos com 0 g/kg, 200 g/kg e 600 g/kg de inclusão da torta, observando médias de 24,5
964 mg/dL, 25,92 mg/dL e 25, 72 mg/dL respectivamente (Tabela 7). Beran *et al.* (2007) observaram
965 que a torta de girassol apresenta proteína altamente degradável, isso talvez poderia justificar os
966 resultados observados neste trabalho, apesar de não ter ocorrido variação da concentração de
967 proteína bruta das dietas (Tabela 1), houve aumento da proporção da torta em relação ao farelo de
968 soja, favorecendo no aumento de compostos nitrogenados (amônia).

969 Verificou-se neste trabalho que a concentração de N-NH₃ ruminal, foi influenciada pelo
970 tempo de coleta ($P < 0,05$). Os maiores picos ocorreram às 3 horas após a suplementação, com
971 valores de 34,63. Domingues *et al.* (2010), não encontraram diferença entre os níveis de 0, 25, 50,
972 75 e 100% de inclusão da torta de girassol, mas sim para os tempos de coleta. Possivelmente esta
973 relação é decorrente ao metabolismo dos microrganismos ruminais após o fornecimento do
974 concentrado, já que a atividade máxima microbiana ocorre com pH de 6,5.

975 Lima *et al.* (2013), trabalhando com as mesmas dietas deste trabalho com digestibilidade in
976 situ não encontraram diferença entre os níveis de inclusão de torta de girassol, porém observaram
977 significância para os tempos de coleta com os maiores picos ocorrendo entre 2 e 4 horas após a
978 suplementação com os valores de 22,56 mg/dL e 21,41 mg/dL.

979 Leng (1990) e Detmann *et al.* (2007) verificaram que o mínimo requerido de N-NH₃, no
980 líquido ruminal, para o máximo crescimento microbiano e de digestão ruminal é de 10 mg/dL,
981 sendo assim, todos os tratamentos desta dieta experimental apresentaram valores acima do mínimo
982 necessário, porém, Assis *et al.* (2004), afirmaram que altas concentrações de amônia ruminal
983 resultam em maior absorção líquida de nitrogênio amoniacal pelas paredes do rúmen, conversão em
984 uréia e conseqüentes perdas através da excreção urinária.

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995 **Tabela 6.** Valores médios de N-amoniaco (mg/dL) da digestibilidade *in vitro* de dietas com
 996 torta de girassol em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação
 997 (experimento 1).

Horas	Tratamentos (g/kg)				Média
	0	200	400	600	
0	7,29	7,29	7,29	7,29	7,29
1	20,05	21,87	20,05	18,23	20,05
2	25,52	21,87	32,81	29,17	27,34
3	29,17	34,63	32,81	34,63	32,81
4	32,81	30,99	29,17	30,99	30,99
5	29,17	29,16	23,69	32,81	28,7
6	23,69	23,69	21,87	23,69	23,23
7	21,87	32,81	23,69	23,69	25,51
8	30,99	30,99	23,70	30,99	29,16
Média	24,50	25,92	23,90	25,72	25,01
CV (%)			14,96		
L	0,0201*	0,0039**	0,3144ns	0,0365***	-
r^{2L}	0,29	0,41	0,063	0,24	-

998 L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

999 -Equações de efeito linear = *Y=18,0666+1,61017x; **Y= 17,5368+2,09692x; ***Y=19,1617+1,64042x.

1000

1001 Sobre o experimento 2, verificou-se que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e
 1002 matéria orgânica (Tabela 8), foram influenciados (p<0,05) pela inclusão da torta de girassol na
 1003 dieta, certamente está relacionado com o aumento do EE e FDN da dieta, sendo que, este
 1004 componente elevou a medida que incluiu a torta. A concentração alta de EE na dieta dificulta o
 1005 acesso do microrganismo às partículas alimentares reduzindo a sua degradação.

1006

1007 **Tabela 7.** Coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), Matéria
 1008 Orgânica (DIVMO) e Proteína Bruta (DIVPB) em g/g do experimento 2.

Variável (g/g)	Níveis de inclusão da torta de girassol (g/kg)				Média	CV%	P<0,05	
	0	100	200	300			L	Q
DIVMS	0,78	0,69	0,80	0,67	0,74	7,50	0,002*	0,011*
DIVMO	0,81	0,71	0,76	0,68	0,74	0,97	0,000**	0,002**
DIVPB	0,58	0,74	0,54	0,75	0,65	23,77	ns	ns

1009 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; NS – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

1010 -Equações de efeito linear = *Y = 0,804505-0,0287081x; r² = 0,26; **Y = 0,827447-0,0324949x; r² = 0,26.

1011 -Equações de efeito quadrático = *Y = 0,793156-0,0173591x-0,00226982x²; r² = 0,60; **Y = 0,846639-0,0516869x+0,00383840x²;
 1012 r² = 0,60.

1013

1014 Oliveira *et al.*, (2007), ao substituir 25 e 50% do farelo de soja pela torta de girassol, com
 1015 15,5% de extrato etéreo na matéria seca, em concentrados contendo o milho grão como fonte

1016 energética, verificou efeito significativo sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS),
 1017 apresentando valores de 0,9214, 0,8542 e 0,8509, para os tratamentos controle, 25% e 50%,
 1018 respectivamente, valores estes próximos do observado neste trabalho.

1019 Apesar das variações ocorridas nas médias da DIVPB, os valores não diferiram
 1020 estatisticamente entre si ($P>0,05$), os mesmos autores citados acima, também não observaram
 1021 diferença significativa para DIVPB, com médias de 0,6719, 0,6316 e 0,7162 respectivamente, sendo
 1022 observada maior taxa de digestibilidade para a dieta com maior nível de torta de girassol, sendo
 1023 estes resultados parecidos com os encontrados neste trabalho.

1024 Sobre a cinética da fermentação ruminal (Tabela 9). Verificou-se que a fração A (mL/gás) e
 1025 sua taxa de degradação B (taxa de degradação da fração solúvel A) não foram influenciadas
 1026 ($P>0,05$) pelas dietas experimentais, pois as frações solúveis não sofreram alterações com o
 1027 aumento da inclusão da torta de girassol nas dietas.

1028 Mizubuti *et al.*, (2011), ao comparar diferentes co-produtos da cadeia produtiva do biodiesel
 1029 (farelo cambre, farelo de algodão, torta de crambe, torta de soja e torta de girassol), verificou que a
 1030 torta de girassol foi o alimento que apresentou menor volume final da produção cumulativa de gás
 1031 com 96,97 mL/g MS incubada, isso mostra que este coproduto interfere diretamente na redução da
 1032 degradabilidade e apresentando como consequência a redução da produção de gás.

1034 **Tabela 8.** Média dos parâmetros cinéticos da fermentação ruminal de dietas com níveis
 1035 crescentes de inclusão da torta de girassol no concentrado (experimento 2).

Parâmetros	Dietas (g/kg MS)				Médias	CV(%)	P<0,05	
	0	100	200	300			L	Q
A (mL/gás)	7,67	6,12	4,90	7,81	6,62	37,88	ns	ns
B (/h)	0,15	0,16	0,85	0,58	0,11	81,60	ns	ns
C (horas)	0,02	0,02	0,09	0,09	0,50	3,85	0,002*	0,015*
D (mL/gás)	5,00	5,99	2,72	0,22	3,73	37,47	0,004**	0,012**
E (/h)	0,08	0,02	0,04	0,04	0,03	34,60	0,003***	0,017***

1036 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; ns – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

1037 -Equações de efeito linear = $*Y = 0,0480025+0,0393525x$; $r^2 = 0,81$; $**Y = 8,88145-2,05911x$; $r^2 = 0,77$; $***Y =$
 1038 $0,00399000+0,0140870x$; $r^2 = 0,78$.

1039 -Equações de efeito quadrático = $*Y = -0,0509462+0,0422962x-0,000588750x^2$; $r^2 = 0,81$; $**Y = 5,77457+1,04777x-0,621375x^2$; r^2
 1040 $= 0,83$; $***Y = -0,015977+0,0260745x-0,0023975x^2$; $r^2 = 0,80$.

1041

1042 Houve efeito linear decrescente ($P<0,05$) para degradação da fração de lenta degradação e
 1043 sua respectiva taxa de degradação (fração E), conforme aumentou a inclusão de torta de girassol nas
 1044 dietas. Mizubuti *et al.*, 2011, verificaram que a torta de girassol apresentou a menor taxa de

1045 degradação, podendo gerar um grande efeito de repleção ruminal, limitando o consumo de matéria
1046 seca e prejudicando a produção animal que exigem uma grande demanda nutricional.

1047 De acordo com o NRC (1996 a 2001) os limites máximos de inclusão de lipídios na dieta de
1048 bovinos de corte e de leite é de respectivamente 5% e 7%. Níveis acima dessas recomendações
1049 podem promover problemas nutricionais e metabólicos como, morte de bactérias ruminais
1050 especialmente as celulolíticas, dificuldade das bactérias fermentarem os componentes da dieta
1051 devido a gordura dificultar o acesso das bactérias à partícula do alimento, afetando assim a digestão
1052 dos compostos orgânicos da dieta, Dessa forma, o aumento dos níveis de torta de girassol na dieta
1053 aumentou a concentração de extrato etéreo (Tabela 2) e, conseqüentemente, pode influenciar
1054 negativamente na degradação da celulose e hemicelulose (Fração D) e sua velocidade de
1055 degradação (Fração E).

1056 Verificou-se efeito linear crescente ($P < 0,05$), ou seja, com o aumento do coproduto na dieta
1057 aumentou o tempo de colonização dos microrganismos ao substrato *lag time* (fração C). Mertens
1058 (1997) e Loften (1980), afirmaram que o tempo de colonização (*lag time*) é um parâmetro
1059 importante, pois está relacionado com a degradação da fração fibrosa. De acordo com Azevêdo *et*
1060 *al.* (2003), tempo de colonização é proporcional a concentração de fibra em detergente neutro
1061 (FDN), porém neste trabalho não foi evidenciado o mesmo, já que o FDN e FDA reduziu com o
1062 aumento da torta de girassol, diferente do que aconteceu com o EE.

1063 O pH do líquido ruminal teve um efeito linear negativo ($P < 0,05$) em função do tempo de
1064 incubação (Tabela 10) devido certamente a relação volumoso concentrado usada (50:50). Estes
1065 resultados são devidos a diminuição que se segue às refeições é devida à produção de ácidos pela
1066 fermentação da matéria orgânica consumida, ou seja, a concentração de carboidratos solúveis que
1067 estimulam a produção de AGCC e ácido láctico, os quais se acumulam no líquido ruminal,
1068 reduzindo o pH.

1069 Neste trabalho apesar dos valores de pH terem apresentado variações entre os níveis de
1070 inclusão da torta de girassol das dietas a média de 6,73, esteve próximo ao desejado em um animal,
1071 no entanto deve ser levado em consideração que aqui fez uma simulação de como possivelmente
1072 seria o comportamento da variável pH, onde não há picos de alimentação e nem interações químicas
1073 com o ambiente estrutural (Rúmen). In vivo, na mesma dieta, podem ter variações relacionadas ao
1074 animal (apetite, seletividade, taxa de ruminação e secreção salivar, tamanho do rúmen e superfície
1075 papilar, bem como taxa de passagem), as quais podem afetar o pH ruminal sobre a mesma dieta.

1076 Em dietas com teores medianos de concentrado ou elevados de fibra, dificilmente se
1077 esperaria mudanças muito drásticas no pH, principalmente em sistemas *in vitro* que empregam
1078 eficientes soluções tamponantes, isso provavelmente justifica a pouca variação no pH aqui
1079 observado.

1080 **Tabela 9.** Valores médios de pH ruminal da digestibilidade in vitro de dietas com torta de
 1081 girassol adicionados a dieta e seu respectivo coeficiente de variação (experimento 2).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	100	200	300	
0	6,88	6,91	6,89	6,95	6,91
1	6,70	6,71	6,67	6,64	6,68
2	6,79	6,76	6,74	6,71	6,75
3	6,82	6,78	6,69	6,70	6,74
4	6,81	6,77	6,69	6,67	6,73
5	6,77	6,79	6,73	6,65	6,73
6	6,76	6,7	6,72	6,65	6,70
7	6,69	6,71	6,64	6,66	6,67
8	6,71	6,68	6,64	6,63	6,66
Média	6,77	6,76	6,71	6,69	6,73
CV (%)			0,71		
L	0,0350*	0,0171**	0,0082***	0,0109****	-
r^{2L}	0,25	0,31	0,36	0,34	-

1082 L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1083 -Equações de efeito linear = *Y=6,82722-0,0137500x; **Y= 6,82567-0,0168333x; ***Y= 6,78956-0,0185000x; ****Y= 6,79011-
 1084 0,0230833x.

1085

1086 A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) apresentou aumento linear crescente
 1087 (P<0,05) com o aumento do nível de torta de girassol na dieta (Tabela 11), era esperado um
 1088 crescimento não significativo devido a pouca variação proteica existente entre as dietas. Valadares
 1089 Filho *et al.* (1997) e Dias *et al.* (2000), também encontraram efeito linear positivo na concentração
 1090 de N-NH₃, porém, a ração utilizada neste trabalho apresentava níveis crescentes de proteína.

1091 Detmann *et al.* (2007) realizaram um levantamento sobre a concentração de N-amoniacal e
 1092 estabeleceram como mínimo a concentração de 10 mg/dL para maior adequação do meio de
 1093 crescimento à disponibilidade de compostos nitrogenados para o anabolismo microbiano. Já
 1094 segundo Gabara (2001), o nível ótimo de N-NH₃ varia conforme o alimento e a disponibilidade de
 1095 carboidratos fermentáveis no rúmen.

1096 Observou-se efeito linear crescente (P<0,05), do tempo de incubação sobre a produção de
 1097 amônia inferindo que o passar do tempo aumenta a produção de compostos nitrogenados
 1098 provenientes da atividade microbiana sobre as partículas alimentares.

1099

1100 **Tabela 10.** Valores médios de N-amoniaco (mg/dL) da digestibilidade *in vitro* de dietas
 1101 com torta de girassol em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de
 1102 variação (experimento 2).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	100	200	300	
0	10,94	18,23	9,11	9,11	11,85
1	14,58	12,76	14,58	16,4	14,58
2	25,52	29,16	32,81	25,52	28,25
3	30,99	32,81	34,63	34,63	33,26
4	30,99	30,99	30,99	32,81	31,44
5	30,99	32,81	36,45	30,99	32,81
6	27,34	30,99	29,17	34,63	30,53
7	30,99	36,46	36,46	34,63	34,63
8	34,61	32,81	41,93	36,46	36,45
Média	26,33	28,56	29,57	28,35	28,2
CV (%)			17,48		
L	0,0003*	0,0023**	0,0002***	0,0000****	-
r^{2L}	0,57	0,45	0,59	0,69	-

1103 L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1104 -Equações de efeito linear = *Y= 16,4887+2,46075x; **Y= 19,6864+2,21825x; ***Y= 16,8090+3,19067x; ****Y=
 1105 16,4458+2,97758x.

1106

1107

1108

1109

1110

1111

1112

1113

1114

1115

1116

1117

1118

1119

1120

1121

1122

1123

2.4 Conclusão

1124
1125
1126
1127
1128
1129
1130
1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145
1146
1147
1148
1149
1150
1151
1152
1153
1154
1155
1156

O uso de dietas com substituição parcial e inclusão da torta de girassol no concentrado reduziu a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, e aumentou para proteína bruta, restringiu a produção de gás oriundos da degradação da fração dos carboidratos fibrosos, reduziu o pH e aumentou o N-amoniacal.

2.5 Referências Bibliográficas

- 1157
- 1158 ASSIS, A. J.; CAMPOS, J. M. S.; QUEIROZ, A. C. et al. Polpa cítrica em dietas de vacas em
1159 lactação. 2. Digestibilidade dos nutrientes em dois períodos de coleta de fezes, pH e nitrogênio
1160 amoniacal do líquido ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 251-
1161 257, 2004.
- 1162 ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTIS. Official methods of the
1163 Association of the Agricultural Chemists. 18. ed. **Washington**, 2006. v. 2.
- 1164 AZEVÊDO, J.A.G.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C. et al. Composição químico- bromatológica,
1165 fracionamento de carboidratos e cinética da degradação *in vitro* da fibra de três variedades de
1166 cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1443-1453, 2003.
- 1167 BERAN, F. H. B.; SILVA, L. D. F.; RIBEIRO, E. L. A., et al. Avaliação da digestibilidade de
1168 nutrientes, em bovinos, de alguns alimentos concentrados pela técnica dos três estágios. **Revista**
1169 **Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 130-137, 2007.
- 1170 CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de
1171 incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e
1172 fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-
1173 342, 2008.
- 1174 CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Symposium: nitrogen metabolism and
1175 amino acid nutrition in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.75,p. 2304-2323, 1992.
- 1176 COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: grãos,
1177 quarto levantamento, janeiro 2013 / Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília: **Conab**,
1178 2013.
- 1179 DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.P., et al. Variáveis ruminais avaliadas por meio de
1180 funções matemáticas contínuas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.11, 2007.
- 1181 DIAS, H.L.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Consumo e digestões
1182 totais e parciais em novilhos F1 limousin x nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis
1183 de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.545-554, 2000.
- 1184 DÍAZ T.,G. Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da casca da castanha de caju em dietas para
1185 ruminantes. 59 p. **Dissertação** (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual de
1186 Maringá, UEM, Maringá – PR. 2012.
- 1187 GABARA, P.R. Digestibilidade de nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos de novilhos
1188 nelore alimentados com fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidades ruminais.
1189 SP: ESALQ, 94p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz
1190 de Queiroz, 2001.
- 1191 GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and
1192 some applications). Washington, DC: USDA, (Agricultural Handbook, 379). 1970.
- 1193 GOES, R. H. T. B.; TRAMONTINI, R. C. M.; ALMEIDA, G. D., et al. Degradabilidade ruminal da
1194 matéria seca e proteína bruta de diferentes subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação
1195 de bovinos. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.9, n.3, p. 715-725, out/dez, 2008.
- 1196 GOES, R. H. T. B.; SOUZA, K.A.; PATUSSI,R.A.; CORNELIO, T. C.; OLIVEIRA, E. R.;
1197 BRABES, K. C. S. Degradabilidade *in situ* dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus
1198 coprodutos em ovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá v. 32, n. 3, p. 271-277,
1199 2010.
- 1200 LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly
1201 under tropical conditions. **Nutrition Reserve Review**, v.3, n.3, p.277-303,1990.

- 1202 LIMA, H. L.; GOES, R. H. T. B.; OLIVEIRA, E. R.; GRESSLER, M. G. M.; BRABES, K. C. S.;
1203 GABRIEL, A. M. A. Nitrogenous compounds balance and microbial protein synthesis in steers
1204 supplemented with sunflower crushed in partial replacement of soybean meal. **Acta**
1205 **Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 281-288, July-Sept., 2013.
- 1206 MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L. Características nutricionais e uso de subprodutos da
1207 agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime.**, v.5, p.512-536, 2008.
- 1208 MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de
1209 rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, Lavras. Lavras: UFLA, p.188-
1210 219. 1992.
- 1211 MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of**
1212 **Dairy Science.**, v.80, p.1463-1481, 1997.
- 1213 MIZUBUTI I. Y.; RIBEIRO E.L.A.; PEREIRA E. S., et al., Cinética de fermentação ruminal *in*
1214 *vitro* de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de
1215 gás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 2021-2028, 2011.
- 1216 NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. ed. Washington, D. C.: **National Academy Press**,
1217 2001.
- 1218 NRC, Nutrient Requirement for Beef Cattle. Washington. **National Research Council**, 200
1219 p. 1996.
- 1220 OLIVEIRA, R.L.; LEÃO, A.G.; RIBEIRO, O.L. et al. Biodiesel industry by-products used for
1221 ruminant feed. **Revista Colombiana Ciencia e Pecuária** vol.25 n°4 Medellín Oct./Dec. 2012
- 1222 PELL, A.N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W.C. Rates of digestion of feeds measured *in vitro* with
1223 computers. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference**, v.13, p.74-81, 1994.
- 1224 QUEIROZ, M. S. A experiência brasileira em biocombustíveis – Petrobrás. In: CONFERÊNCIA E
1225 EXPOSIÇÃO BIENAL INICIATIVA DO AR LIMPO NAS CIDADES DA AMÉRICA
1226 LATINA. São Paulo, **Palestra.**, jul. 2006. Disponível em: <<http://www.cleanairnet.org/saopaulo/1759/articles-70466-resource-2-pdf>>. Acesso em 30 setembro
1227 2013.
- 1228
- 1229 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3ed. Viçosa,
1230 MG: **Editora UFV**, 235p. 2002.
- 1231 STEIN, M. S. Digestibilidade *in vitro* de concentrados com diferentes níveis de torta de girassol.
1232 2003. 43 f. **Monografia** (Trabalho de graduação em Zootecnia) – Faculdade de Ciências
1233 Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- 1234 TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage techniques for digestion of forage crops. **Journal of**
1235 **the British Grassland Society**, v. 18, p.104-111, 1963.
- 1236 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. SAEG – **Sistema de análises estatísticas e**
1237 **genéticas**. Versão 9.1. Viçosa, MG. (manual do usuário), 2007. 142p.
- 1238 VALADARES FILHO, S.C. Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para
1239 ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES,
1240 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA - FAEPE, Lavras, p.87-110. 1997.
- 1241 VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: **Cornell University Press**, 476
1242 p. 1994.
- 1243 VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para**
1244 **ruminantes**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 98p. Tese (Doutorado em
1245 Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1980.

1246

1247

1248

1249

1250

1251

1252

1253

1254

CAPÍTULO 3

1255

1256

1257

1258

1259

1260

1261

1262

1263

1264

1265

1266

1267

1268

1269

1270

1271 **CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS COM TORTA DE**
1272 **CRAMBE**

1273
1274 **RUMINAL FERMENTATION KINETIC DIETS WITH CRAMBE CRUSHED**

1275

1276 **Resumo:** objetivou-se determinar o efeito de níveis crescentes de torta de crambe em dietas sobre a
1277 digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO), proteína bruta
1278 (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação ruminal,
1279 concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*. A dieta experimental 1: caracterizada pela
1280 presença de *Brachiaria brizantha* cv Marandu e concentrados que apresentavam diferentes
1281 proporções de torta de crambe sendo; 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg em substituição ao farelo
1282 de soja. A dieta experimental 2: utilizou silagem de milho e os concentrados caracterizaram-se pela
1283 presença de 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg de inclusão da torta de crambe em substituição ao
1284 farelo de soja. Os coeficientes da DIVMS, N-amoniacal (N-NH₃) e pH do líquido ruminal,
1285 produção cumulativa de gases e parâmetros cinéticos da fermentação ruminal foram determinados
1286 utilizando o inóculo ruminal e a solução tampão. Na dieta experimental 1: Os valores referentes a
1287 digestibilidade *in vitro*, assim como os parâmetros cinéticos, frações A (rápida degradação), D
1288 (lenta degradação) e C (*lag time*) não foram influenciados (P>0,05) pelos níveis de inclusão da torta
1289 de crambe. O comportamento geral do pH ruminal não alteraria a digestibilidade da fibra dietética,
1290 porém, foi observado influencia com efeito linear crescente (P<0,05) da hora e dos níveis de torta
1291 de crambe sobre os valores médios de N-amoniacal. Para dieta experimental 2: As variáveis
1292 DIVMS, DIVMO e DIVPB foram influenciadas (P<0,05) pelos diferentes níveis de inclusão da
1293 torta de crambe. Não foi ressalvado influência (P>0,05) dos níveis de torta de crambe sobre os
1294 parâmetros cinéticos de digestão. A inclusão de crambe não interferiu na variável pH, porém, os
1295 valores médios do N – amoniacal, foram influenciadas (P<0,05). A torta de crambe é um co-
1296 produto com um bom perfil de cinética de fermentação ruminal no que diz respeito à degradação de
1297 carboidratos não fibrosos e carboidratos fibrosos, sendo potenciais fornecedores de energia e
1298 proteína na dieta de ruminantes.

1299 **Palavras chaves:** coproduto, digestibilidade *in vitro*, parâmetros ruminais, produção de gases.

1300

1301

1302

1303

1304

1305

1306 **Abstract:** aimed to determine the effect of increasing levels of crambe cake in diets on in vitro dry
1307 matter digestibility (IVDMD), organic matter (IVDOM), crude protein (IVDCP), the kinetics of
1308 cumulative gas production, fermentation parameters ruminal concentration of ammonia-N (NH₃-N)
1309 and pH in vitro. The experimental diet 1: characterized by the presence of *Brachiaria brizantha*
1310 marandu and concentrates that had different proportions of pie being crambe, 0 g/kg, 50 g/kg, 100
1311 g/kg and 150 g/kg replacement of soybean meal. The experimental diet 2: used corn silage and
1312 concentrates were characterized by the presence of 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg and 150 g/kg inclusion
1313 Pie crambe to replace soybean meal. The coefficients of IVDMD, ammonia-N (NH₃-N) and
1314 ruminal pH, cumulative gas production and ruminal fermentation kinetic parameters were
1315 determined using ruminal and Buffer. In experimental diet 1: The values for the in vitro as well as
1316 the kinetic parameters, fractions A (rapid degradation), D (slow degradation) and C (lag time) were
1317 not affected ($P > 0.05$) by the inclusion pie crambe. The general behavior of ruminal pH did not
1318 alter the digestibility of dietary fiber, however, was observed with influences increased linearly ($P <$
1319 0.05) time and levels of crambe pie on the values of ammonia-N. For experimental diet 2: Variables
1320 IVDMD, IVDOM and IVDCP were influenced ($P < 0.05$) by different levels of inclusion Pie
1321 crambe. It was not excepting influence ($P > 0.05$) levels of crambe pie on the kinetic parameters of
1322 digestion. The inclusion of crambe did not interfere with variable pH, however, the average values
1323 of ammonia - N were influenced ($P < 0.05$). The pie crambe is a co - product with a good profile of
1324 ruminal fermentation kinetics with respect to the degradation of non-fiber carbohydrates and fibrous
1325 carbohydrates, and potential suppliers of energy and protein in the diet of ruminants.

1326 **Key words:** coproduct, in vitro digestibility, ruminal fermentation, gas production.

1327

1328

1329

1330

1331

1332

1333

1334

1335

1336

1337

1338

1339

1340

3.1 Introdução

1341

1342

1343

1344

1345

1346

A necessidade em buscar um alimento capaz de reduzir os custos do sistema de produção de ruminantes é um ponto que ainda leva muitos pesquisadores a estudar os diferentes alimentos possíveis de sua utilização. Porém algumas características de valor nutritivo são necessárias que o alimento apresente e só assim é possível verificar a possibilidade de substituir os tradicionais alimentos (milho e soja) pelos prováveis substitutos.

1347

1348

1349

1350

1351

Nos atuais sistemas de adequação de dietas para ruminantes são necessárias informações relativas às proporções das frações dos alimentos, bem como suas taxas de digestão; para sincronizar a disponibilidade de energia e nitrogênio no rúmen, e maximizar a eficiência microbiana e a digestão dos alimentos que reduzem perdas decorrentes da fermentação ruminal, proporcionando os animais serem alimentados mais economicamente (Goes *et al.*, 2010).

1352

1353

1354

1355

Uma das maneiras de avaliar as frações digestíveis dos alimentos é através do uso de técnicas *in vitro*, sendo consideradas menos onerosas e que facilitam o controle das condições experimentais (Neiva *et al.*, 2010). Sendo assim, essas técnicas podem ser consideradas eficientes desde que sejam facilmente reproduzíveis.

1356

1357

1358

De acordo com Neiva *et al.*, (2010), a produção de gases é diretamente proporcional a fermentação microbiana do alimento e, como pode ser medida a intervalos frequentes, permite avaliar o modo como ocorre o ataque microbiano na degradação do alimento no rúmen.

1359

1360

1361

1362

A torta ou o farelo oriundo da extração do óleo (produção do biodiesel), de fontes não tradicionais, como o crambe, geralmente não passam por processo de agregação de valor principalmente pelo desconhecimento das potencialidades nutricionais, econômicas e possível toxidez.

1363

1364

1365

Entretanto, Goes *et al.* (2010) ao avaliarem a degradabilidade *in situ* de coprodutos verificaram que a torta e o farelo de crambe tiveram baixa degradação ruminal em relação a torta de soja, o que lhe pode conferir como um possível alimento com presença de PNDR.

1366

1367

Carrera *et al.*, (2012) observaram 32,61% e 43,11% de proteína bruta para torta e farelo de crambe respectivamente, evidenciando a capacidade nutricional desta cultura.

1368

1369

1370

1371

Deste modo, objetivou-se determinar o efeito de níveis crescentes de torta de crambe em dietas para ruminantes sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO), proteína bruta (DIVPB), a cinética da produção cumulativa de gases, parâmetros da fermentação ruminal, concentração de N- amoniacal (N-NH₃) e pH *in vitro*.

3.2 Material e Métodos

1372
1373
1374
1375
1376
1377
1378
1379
1380
1381
1382
1383
1384
1385
1386
1387
1388
1389
1390
1391
1392
1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Alimentos (LANA) do setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e Universidade Estadual de Maringá (UEM), entre os meses de setembro dezembro de 2012 e março a maio de 2013.

O delineamento experimental utilizado foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DBC). Foram avaliadas 8 dietas (4 no experimento 1 e 4 no experimento 2) com diferentes proporções de torta de crambe.

No experimento 1 utilizou-se *Brachiaria brizantha* cv Marandu como volumoso e concentrados com 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg de torta de crambe em substituição ao farelo de soja, em uma proporção volumoso concentrado de 40:60 (Tabela 12). No experimento 2, utilizou-se silagem de milho como volumoso e concentrados com 0 g/kg, 50 g/kg, 100 g/kg e 150 g/kg da torta de crambe em substituição ao farelo de soja no concentrado, em uma proporção volumoso concentrado de 30:70 (Tabela 13).

Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), N-amoniaco (N-NH₃) e pH do líquido ruminal, produção cumulativa de gases e parâmetros cinéticos da fermentação ruminal foram determinados utilizando o inóculo ruminal e a solução tampão (Tabela 14).

O inóculo ruminal era proveniente de dois bovinos da raça Holandesa, adultos, castrados, com peso corporal médio de 380 kg, e providos de cânula ruminal. Os animais receberam uma dieta composta por 80% de volumoso (silagem de milho) e 20% de concentrado (milho, farelo de soja e suplemento mineral). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 8 horas e às 16 horas.

A coleta de líquido ruminal foi realizada no período da manhã antes da primeira refeição via cânula ruminal. O líquido ruminal foi mantido em banho-maria a 39°C e o recipiente purgado com CO₂ antes e após a coleta. Foram coletados 4 litros de líquido ruminal, sendo dois litros por animal misturados e incluindo uma fração sólida do conteúdo ruminal. O material coletado foi transferido para uma garrafa térmica pré-aquecida previamente purgada com CO₂ e fechada hermeticamente. Todo o material coletado foi homogeneizado durante 10 segundos utilizando um liquidificador. Posteriormente, o material foi filtrado em quatro camadas de tecido de algodão (gaze) e utilizado nas incubações.

1407 **Tabela 11.** Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no
 1408 experimento 1 (g/Kg de MS).

Ingredientes	Componentes					
	MS*	PB*	EE*	FDN*	FDA*	MM*
Brachiaria brizantha	166,3	55,7	-	748,7	376,6	41,2
Torta de crambe	943,0	261,9	182,7	302,3	194,4	47,8
Farelo de soja	856,4	509,9	67,1	341,4	200,8	96,8
Farelo de arroz	887,1	139,5	161,4	241,1	140,6	84,8
Milho	878,6	116,8	32,8	139,3	54,3	17,0
Núcleo Mineral	963,1	-	-	-	-	-

Componentes	Dietas				
	0	50	100	150	Média
MS*	926,9	936,7	923,6	922	925,5
PB*	153,4	155	145,7	140	148,2
EE*	96	99,1	99,8	114,3	101,1
FDN*	518,7	421	363,9	390,8	412,5
FDA*	74,9	91,1	64,7	67,1	71,3
CNE ⁺	384,2	476,3	532,3	492,6	485,8
NDT ⁺	843,6	796,7	802,5	813,1	821,1
CHOT ⁺	636,5	618	631,2	620	630,9
MM*	137	126,1	123,3	125,6	129

1409 MS= Matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA=fibra em detergente ácido, MM=
 1410 matéria mineral. %CHOT = 100-(%PB+%EE+%MM); %CNE=%CT-%FDNcp; %NDT = 9,6134+0,829DMS. Silva e Queiroz
 1411 (2002).

1412

1413 **Tabela 12.** Composição bromatológica dos ingredientes e das dietas utilizados no
 1414 experimento 2 (g/Kg de MS).

Ingredientes	Componentes					
	MS*	PB*	EE*	FDN*	FDA*	MM*
Torta de crambe	923,4	286,5	188,4	549,8	243,5	57,8
Farelo de soja	892,1	485,1	17,8	149,0	70,0	72,3
Milho	877,0	105,7	31,9	182,1	43,7	16,7
Silagem de milho	287,3	59,6	26,1	446,4	245,3	54,1

Parâmetros	Dietas				
	0	50	100	150	Média
MS*	700,1	701,9	700,5	702,1	701,1
PB*	149,3	153,0	127,1	124,8	138,5
EE*	17,1	21,1	23,6	41,4	25,8
FDN*	294,1	307,0	295,9	294,2	297,8
FDA*	100,0	111,1	105,6	113,2	107,5
LIG*	25,9	27,8	30,9	34,9	29,9
MM*	49,6	50,2	48,7	69,8	54,6

1415 MS= Matéria seca, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA=fibra em detergente ácido, MM=
 1416 matéria mineral. Silva e Queiroz (2002).

1417 As soluções tampão foram misturadas na relação 1:5 atingindo o pH de 6,8 na temperatura
1418 constante de 39°C.

1419

1420 **Tabela 13.** Reagente e as suas respectivas quantidades para preparação da solução tampão.

Solução A (g/litro)			Solução B (g/100mL)		
Reagente		Quantidade	Reagente		Quantidade
Nome	Fórmula		Nome	Fórmula	
Dihidrogenofosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	10,0g	Carbonato de sódio	Na ₂ CO ₃	15,0g
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5g	Sulfeto de sódio	Na ₂ S·9H ₂ O	1,0g
Cloreto de sódio	NaCl	0,5g			
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1g			
	uréia	0,5g			

1421

1422 A DIVMS das dietas foi determinada de acordo com metodologia descrita por Tilley &
1423 Terry (1963) modificada por Goering e Van Soest (1970), utilizando o rúmen artificial (DaisyII
1424 Fermenter®, Ankom).

1425 Foram pesados 0,5 gramas de amostra em saquinhos de TNT -100 g/m, cortados e selados a
1426 um tamanho de 5,0 x 5,0 cm, conforme Casali et al. (2008). Foram utilizados dois saquinhos sem
1427 amostra (brancos) em cada jarro para correção dos dados. Os saquinhos com amostra foram
1428 colocados nos jarros, distribuídas equitativamente 10 saquinhos/jarro (8 saquinhos com amostra e
1429 dois saquinhos sem amostra ou brancos), totalizando 80 saquinhos. Em seguida, eram adicionados
1430 615,4 mL da solução tampão e 154 mL do inoculo ruminal e, acrescentado CO₂ para manter as
1431 condições anaeróbias. Após este procedimento, os jarros permaneceram no rúmen artificial DaisyII
1432 Fermenter® (Ankom) a 39°C durante 48 horas com agitação contínua.

1433 A incubação foi interrompida após 48 horas, e os saquinhos submetidos a solução de
1434 detergente neutro durante 1 hora. Após a lavagem com esta solução os mesmos foram lavados 2
1435 vezes com água destilada quente e 1 vez com acetona, sendo transferida para estufa 105 °C por 12
1436 horas e por diferença de peso foi determinado a digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca.

1437 A DIVMS foi calculada utilizando o resíduo após a incubação, através da fórmula:

1438

$$DIVMS = \frac{A - (B - Br) \times 100}{A}$$

1439

1440 Em que:

1441 A: matéria seca inicial = peso da amostra x 2^aMS/100;

1442 B: matéria seca residual = peso do cadinho com resíduo seco – peso do cadinho – Br;

1443 Br: é o branco, consiste em saquinhos vazios.

1444 Após determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca, 4 saquinhos com amostras
1445 foram abertos e de peso conhecido transferidos para cadinhos de porcelana e levados para a mufla
1446 permanecendo durante 4 horas a 550° C determinando assim, a digestibilidade *in vitro* da matéria
1447 orgânica (DIVMO).

1448 A DIVMO foi calculada utilizando o resíduo após a mufla, através da fórmula:

1449

$$DIVMO = \frac{(A \times MO) - (B - Br) \times 100}{A}$$

1450

1451 Em que:

1452 A: matéria seca inicial = peso da amostra x 2^aMS/100;

1453 MO: matéria orgânica inicial = 2^aMS da amostra (%) - % de cinzas na base seca;

1454 B: matéria orgânica residual = peso do resíduo seco – peso do resíduo calcinado (cinzas) –
1455 Br (descontar peso dos cadinhos);

1456 Br: matéria orgânica residual do branco = peso do resíduo seco e Br – peso do resíduo
1457 calcinado do Br (descontar peso dos cadinhos).

1458 Os outros 4 saquinhos restantes após a determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria
1459 seca e da matéria orgânica foram utilizados na determinação da digestibilidade *in vitro* da proteína
1460 bruta (DIVPB), o resíduo dos saquinhos, com peso conhecido, foram transferidos para os tubos de
1461 ensaios e submetidos ao procedimento de determinação da proteína bruta com digestão, destilação e
1462 titulação descrita por Silva e Queiroz (2002).

1463

$$DIVPB = \frac{(PBIN) - (PBRES)}{(PBIN)}$$

1464 Em que:

1465 PBIN: proteína bruta inicial;

1466 PBRES: proteína bruta residual;

1467 Para a determinação da produção total de gás e os parâmetros da cinética da fermentação
1468 ruminal, foi utilizada a técnica automática *in vitro*. Foram utilizados oito frascos de vidro, com
1469 capacidade de 250 mL, onde foram adicionados 0,5 gramas de amostra das dietas em duplicata, 100
1470 mL da solução tampão, 25 mL de inócuo ruminal e CO₂. Para cada incubação realizada, foram
1471 utilizados dois frascos como brancos, contendo apenas inócuo ruminal e solução tampão, com o
1472 objetivo de ajustar os valores de pressão.

1473 O aumento da pressão produzido dentro dos frascos durante a incubação foi mensurado em
 1474 libras por polegada quadrada (psi) utilizando sistema automático RF: Gás Production System®
 1475 (ANKOM). A pressão de gás dentro dos frascos foi registrada por sensores de pressão localizados
 1476 nas tampas dos frascos ou módulos, os quais transferiram as informações de cada frasco por meio
 1477 de uma base coordenadora conectada a um computador, a intervalos de 5 minutos, totalizando 288
 1478 leituras durante 24 horas de incubação.

1479 Os dados obtidos de produção de gás foram mensurados em psi, foram transformados para
 1480 moles de gás por meio da equação do gás ideal:

1481

$$n = \frac{VP}{RT}$$

1482

1483 Em que, n = quantidade de gás em moles; V = volume de gás ocupado em litros; P = pressão
 1484 em pascal (KPa); T = temperatura em Kelvin ($^{\circ}$ K); R = constante dos gases (8.314472 kPa·L· K-1
 1485 mol-1).

1486 Logo após, os moles foram convertido em mL de gás produzido em condições normais de
 1487 temperatura e pressão (STP) utilizando a seguinte equação:

1488

$$V = \frac{nRT}{P}$$

1489

1490 São utilizados os seguintes valores de referencia das condições de STP: 273,15°K (0°C) e
 1491 101 325 Pa (1 atm = 760 mmHg).

1492 Para calcular a produção de gás em mL utilizou a pressão corrigida dos frascos, a pressão
 1493 atmosférica da região (96,538 kPa) e a pressão atmosférica em condições normais (101,325 kPa),
 1494 sendo este o valor de P .

1495 Na determinação da extensão e a taxa de produção de gás decorrente da degradação do
 1496 alimento, utilizou um modelo logístico bicompartimental exponencial proposto por Pell &
 1497 Schofield et al. (1994):

1498

$$y = \left[\frac{A}{\{1 + \text{Exp}^{[2+4*B*(C-T)]}\}} + \frac{D}{\{1 + \text{Exp}^{[2+4*E*(C-T)]}\}} \right]$$

1499

1500 Sendo, y = Volume total de gás no tempo T (extensão da degradação); A e D = volume de
 1501 gás (mL) das frações de degradação rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose,

1502 hemicelulose), respectivamente; B e E = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta
1503 (/h), respectivamente; e C = tempo de colonização das bactérias.

1504 O ajuste das curvas e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foram realizados
1505 utilizando-se o processo iterativo de Gauss-Newton por meio do procedimento para modelos não
1506 lineares do programa SAEG (UFV, 2000).

1507 Foi realizado uma adaptação nas tampas de jarros de vidros utilizados para simular as
1508 condições do rúmem em uma digestibilidade *in vitro*, conforme descrito por Díaz (2012) podendo
1509 desta forma, determinar a concentração de N-amoniacal e do pH do líquido ruminal, Os jarros
1510 foram providos de tampas com válvulas e um sistema de três vias para permitir a coleta do líquido
1511 ruminal tamponado, assim como uma válvula tipo Büssen que permitia a liberação dos gases
1512 produzidos durante a fermentação.

1513 Foram pesadas 10 g de amostra, em cada jarro e incubado em duplicatas, junto com 1600
1514 mL de solução tampão e 400 mL de inócuo ruminal. Os jarros foram mantidos em um ambiente a
1515 39°C sob agitação contínua.

1516 Durante a incubação, foram coletadas amostras de 20 mL do líquido ruminal tamponado
1517 utilizando-se uma seringa e a torneira de três vias instalada na tampa de cada jarro. As amostras
1518 foram coletas nos horários; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas após do início da incubação.

1519 Em cada horário, foram utilizados 10 mL do líquido ruminal tamponado para mensurar o pH
1520 das amostras em duplicata utilizando-se um pHmetro digital. O líquido ruminal restante (10 mL) foi
1521 armazenado em potes plásticos contendo 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1:1, interrompendo o
1522 processo fermentativo e reduzindo o pH, evitando assim a volatilização do nitrogênio amoniacal (N-
1523 NH₃).

1524 Para determinação do nitrogênio amoniacal do líquido ruminal pela fermentação *in vitro*,
1525 utilizou a metodologia adaptada de Ferner (1965) modificada por Vieira (1980).

1526 As amostras foram descongeladas e logo após transferiu 10 ml para os tubos, estes foram
1527 centrifugados a 3000 rpm, durante 15 minutos, pipetou em duplicata uma alíquota de 2,0 ml do
1528 líquido sobrenadante e colocados em tubo digestor. Posteriormente, procedeu com a etapa da
1529 destilação utilizando o hidróxido de potássio com normalidade de 2N para desprender o nitrogênio
1530 da amostra, os tubos com o líquido ruminal mais 20 ml de água destilada foram levados ao aparelho
1531 tipo micro – kjeldahl, com os erlenmeyer contendo 10,0 ml de ácido bórico a 2% para receber o
1532 destilado, até um volume de 50,0 ml. Na titulação utilizou ácido clorídrico a 0,05N. Só assim,
1533 determinou a concentração de N- amoniacal presente no líquido ruminal. As variáveis pH e N-
1534 amoniacal foram avaliadas pela análise de regressão multivariada do programa estatístico SAEG
1535 (UFV 2000).

1536

1537

3.3 Resultados e Discussão

1538

1539

1540

1541

1542

1543

1544

1545

1546

1547

1548

1549

1550

Os valores referentes a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos níveis de inclusão da torta de crambe (Tabela 19) quando analisados pela regressão linear. Porém a digestibilidade da matéria orgânica foi significativa ($P<0,05$) ao aplicar a regressão quadrática, sendo que os níveis de 5% e 10% apresentaram os menores coeficientes de digestibilidade.

Certamente este resultado foi devido aos componentes não estruturais da dieta (proteína bruta, extrato estéreo carboidratos não fibrosos e amido), sendo estes os principais responsáveis em favorecer a digestibilidade da matéria orgânica. O teor de fibra em detergente neutro foi maior para as dietas com 0 g/kg e 50 g/kg (Tabela 14), entretanto a digestibilidade da matéria orgânica foi menor para a dieta com 100 g/kg de substituição resultado este não esperado.

Tabela 14. Coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), Matéria Orgânica (DIVMO) e Proteína Bruta (IVDCP) em g/g do experimento 1.

Variável (g/g)	Níveis de crambe na dieta (g/kg MS)				Média	CV%	P<0,05	
	0	50	100	150			L	Q
DIVMS	0,84	0,54	0,82	0,83	0,76	26,09	ns	ns
DIVMO	0,85	0,84	0,83	0,86	0,85	1,96	ns	0,0378**
DIVPB	0,45	0,64	0,44	0,43	0,49	30,60	ns	ns

1551

1552

1553

1554

1555

1556

Segundo Carlson *et al.* (1996), a casca e o grão de crambe possuem baixa degradação (44,5 e 57,3%), e a medida que se reduz a percentagem de casca a digestibilidade é aumentada. A concentração de casca interfere tanto na torta quanto no farelo.

1557

1558

1559

1560

1561

1562

As frações A (rápida degradação) e D (lenta degradação) não foram influenciadas ($P>0,05$) pela torta de crambe (Tabela 16), apresentando redução na produção de gás com o aumento do nível de substituição, mais uma vez o que pode ter interferido na digestibilidade foi a concentração de extrato etéreo, tendo em visto que o mesmo apresentou um acréscimo nas dietas (Tabela 14). O maior teor de extrato etéreo (EE) certamente foi o que promoveu redução na produção de gás, independente da digestão, pois o EE não é fermentado pela microbiota ruminal.

1563

1564

1565

1566

Patussi (2012) trabalhando com os mesmos concentrados verificou na digestibilidade *in situ*, que a menor fração solúvel foi observada no tratamento com 100 g/kg de inclusão de torta de crambe, valor este de 6,68, corroborando para os resultados deste trabalho o qual apresentou resultados semelhantes.

1567 O tratamento controle foi o que apresentou menor produção de gás (1,78 mL/gás)
 1568 decorrente da digestibilidade da fração D, valor este certamente devido a maior concentração de
 1569 fibra em detergente neutro (FDN), presente neste tratamento em relação aos outros.

1570

1571 **Tabela 15.** Média da produção cumulativa de gás in vitro (mL/100mg MS) para os
 1572 tratamentos com níveis crescentes de inclusão da torta de crambe no concentrado (experimento 1),
 1573 no período de 24 horas obtida por duplicatas de amostras.

Parâmetros	Dietas (g/kg MS)				Média	CV%	P<0,05	
	0	50	100	150			L	Q
	A (mL)	7,97	7,91	7,33			6,03	7,44
B (/h)	0,57	0,15	0,15	0,75	0,52	80,61	ns	ns
C (horas)	0,09	0,04	0,04	0,09	0,07	74,47	ns	ns
D (mL)	1,78	3,91	3,91	3,34	3,79	63,29	ns	ns
E (/h)	0,05	0,02	0,02	0,04	0,03	65,39	ns	ns

1574 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; ns – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

1575

1576 Segundo Detmann *et al.*, (2003) as características de FDN variam entre fontes de fibra, o
 1577 que facilita a distinção entre os componentes alimentares de lenta degradação daqueles solúveis e de
 1578 rápida degradação.

1579 As taxas de degradação B (taxa de degradação da fração solúvel) e E (taxa de degradação da
 1580 fração insolúvel), não foram influenciadas ($P>0,05$) pela torta de crambe, porém na taxa de
 1581 degradação da fração solúvel os tratamentos com 50 g/kg e 100 g/kg apresentaram baixa taxa e alta
 1582 produção de gás. A taxa de degradação da fração insolúvel apresentou menores valores para os
 1583 tratamentos 50 g/kg e 100 g/kg. Primo (2013) avaliando a atividade microbiana no líquido ruminal
 1584 de novilhos suplementados com os mesmos níveis de torta de crambe avaliados (0%; 5,0%; 10% e
 1585 15%), encontrou redução na microbiota com a presença de crambe na dieta, podendo ser estes
 1586 fatores o que acarretou nos menores valores de taxa de degradação para as dietas com presença de
 1587 torta.

1588 A fração C (*lag time*) ou tempo de colonização não foi influenciada ($P>0,05$) pela inclusão
 1589 de torta de crambe até o nível de 150 g/kg. Cabe ressaltar que, quanto menor o tempo de
 1590 colonização (*lag time*), mais rapidamente a microbiota ruminal conseguirá degradar o substrato
 1591 (Pereira *et al.* 2008), incrementando assim a quantidade de gás produzida.

1592 Sobre o pH verificou-se (Tabela 17) efeito linear decrescente ($P<0,05$), sendo o mesmo
 1593 comportamento para horas em relação a variável pH.

1594 O comportamento geral do pH ruminal em relação aos níveis de torta de crambe e tempo de
 1595 coleta de líquido, teoricamente, não alteraria a digestibilidade da fibra dietética. O valor mínimo

1596 encontrado é superior ao limite de 6,2, proposto por Russel & Wilson (1996) e Hiltner & Dehority
 1597 (1983), como sendo o limite mínimo para que não ocorra redução da síntese microbiana e inibição
 1598 da degradação da FDN.

1599

1600 **Tabela 16.** Valores médios de pH ruminal da digestibilidade *in vitro* de dietas com torta de
 1601 crambe em substituição ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação (Experimento 1).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	50	100	150	
0	7,00	6,98	6,96	6,95	6,97
1	6,72	6,67	6,66	6,64	6,67
2	6,75	6,71	6,69	6,67	6,7
3	6,77	6,74	6,74	6,73	6,74
4	6,8	6,77	6,75	6,73	6,76
5	6,79	6,74	6,69	6,67	6,72
6	6,74	6,7	6,67	6,68	6,69
7	6,73	6,72	6,66	6,68	6,70
8	6,71	6,71	6,62	6,64	6,67
Média	6,78	6,75	6,71	6,71	6,73
CV (%)			1,13		
L	0,0234*	0,0751ns	0,0181**	0,0563***	-
r^{2L}	0,28	0,18	0,3	0,21	-

1602 L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1603 -Equações de efeito linear = *Y = 6,856000-0,0190000x; **Y= 6,81567-0,0243333x; ***Y= 6,78878-0,0190000x.

1604

1605 Os resultados aqui evidenciados foram parecidos com os encontrados por Patussi (2012),
 1606 que ao estudar com níveis iguais de torta de crambe na digestibilidade *in situ* encontrou valores de
 1607 pH mínimo 6,38 e o máximo não ultrapassou 7. A mesma autora observou que o pH ruminal
 1608 diminui após as refeições e muitas vezes aumenta durante os ciclos de ruminação. A diminuição que
 1609 se segue às refeições é devida à produção de ácidos pela fermentação da matéria orgânica
 1610 consumida, enquanto que o aumento durante a ruminação é geralmente atribuído à secreção de
 1611 tampões na saliva.

1612 Quanto aos valores de N-Amoniacal do experimento 1 (Tabela 18), foi observado efeito linear
 1613 crescente (P<0,05) da hora e dos níveis de torta de crambe. Assis *et al.* (2004) afirma que altas
 1614 concentrações de amônia ruminal resultam em maior absorção líquida de nitrogênio amoniacal (N-
 1615 NH₃) pelas paredes do rúmen, conversão em uréia e conseqüentes perdas através da excreção
 1616 urinária.

1617 Patussi (2012) em seu trabalho *in situ* verificou que a torta de crambe influencia na
 1618 degradabilidade da proteína bruta do suplemento, de modo que a maior fração solúvel deste
 1619 nutriente foi observada no tratamento com 150 g/kg de inclusão de torta de crambe em substituição

1620 ao farelo de soja. Isso pode explicar o fato de serem observados valores crescentes de nitrogênio
1621 amoniacal em relação aos tratamentos.

1622 Leng (1990) e Detmann *et al.* (2007) verificaram que as concentrações médias de N-NH₃, no
1623 líquido ruminal, para todos os níveis de inclusão estiveram acima do mínimo requerido para o
1624 máximo crescimento microbiano e de digestão ruminal que é de 10 mg/dL promovendo maior
1625 adequação do ambiente ruminal para o crescimento microbiano a partir da disponibilidade de
1626 compostos nitrogenados.

1627

1628 **Tabela 17.** Valores médios de N-amoniacal (mg/dL) da digestibilidade in vitro de dietas
1629 com torta de crambe em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de
1630 variação (experimento 1).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	50	100	150	
0	7,29	7,29	10,94	7,29	8,20
1	20,05	12,76	12,76	16,4	15,49
2	25,52	25,52	25,52	21,87	24,6
3	29,17	30,99	36,46	32,81	32,35
4	30,99	34,63	38,28	34,63	34,63
5	30,99	29,17	30,99	34,63	31,44
6	30,99	30,99	30,99	30,99	30,99
7	32,81	34,63	32,81	36,46	34,17
8	27,34	29,16	36,45	32,81	31,44
Média	26,13	26,12	28,35	27,54	27,03
CV (%)			12,18		
L	0,0015*	0,0005**	0,0004***	0,0001****	-
r^{2L}	0,48	0,54	0,55	0,64	-

1631 -L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1632 -Equações de efeito linear = *Y= 17,3777+2,18767x; **Y= 15,3120+2,70408x; ***Y= 17,1774+2,79467x;
1633 ****Y15,3902+3,03883x.

1634

1635 No segundo experimento, as variáveis digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS),
1636 matéria orgânica (DIVMO) e proteína bruta (DIVPB) foram influenciadas (P<0,05) pelos diferentes
1637 níveis de inclusão da torta de crambe (Tabela 19).

1638 É possível verificar efeito linear decrescente nos resultados das três digestibilidades,
1639 indicando que o aumento da torta de crambe interfere diretamente nestes resultados.

1640 Uma vez que a presença de lignina pode aumentar a fração indigerível do alimento, e dessa
1641 maneira reduzir a fração potencialmente digerível. Verificou-se aumento da lignina com o aumento
1642 do nível de substituição do farelo de soja pela torta de crambe, e este fato certamente foi o que
1643 interferiu na redução da digestibilidade da matéria orgânica e matéria seca.

1644 A DIVPB apresentou redução com o aumento do nível de torta de crambe, porém como este
 1645 coproduto é fonte de cisteína, metionina, lisina e treonina (Carlson *et al.*, 1996), as diferentes
 1646 digestibilidades apresentadas podem permitir a chegada ao duodeno destes aminoácidos, com isso
 1647 fontes proteicas de baixa degradabilidade possibilitam a manipulação do perfil aminoacídico no
 1648 duodeno. Entretanto pode reduzir o aporte de nitrogênio para a síntese microbiana.

1649

1650 **Tabela 18.** Coeficientes de digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), Matéria
 1651 Orgânica (DIVMO) e Proteína Bruta (DIVPB) em g/g do experimento 2.

Variável(g/g)	Níveis de inclusão da torta de crambe (g/kg MS)				Média	CV%	P<0,05	
	0	50	100	150			L	Q
DIVMS	0,90	0,89	0,89	0,88	0,89	1,47	0,0099*	0,0329*
DIVMO	0,92	0,91	0,91	0,90	0,91	0,85	0,0005**	0,0024**
DIVPB	0,52	0,33	0,49	0,23	0,39	24,98	0,031***	0,0928 ^{ns}

1652 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; ns – não significativo; CV – Coeficiente de Variação.

1653 -Equações de efeito linear = *Y = 0,906203-0,00494414x; r² = 0,20; **Y = 0,933279-0,00747258x; r² = 0,59; ***Y = 0,573974-
 1654 0,0701777x; r² = 0,29.

1655 -Equações de efeito quadrático = *Y = 0,900711+0,000548249x-0,00109848x²; r² = 0,21; **Y = 0,927796-0,00199039x-
 1656 0,00109644x²; r² = 0,60.

1657

1658 Taxas baixas de digestão podem provocar um grande efeito de repleção ruminal, podendo
 1659 levar a limitação do consumo da matéria seca e conseqüentemente causar prejuízos na produção de
 1660 ruminantes. Neste trabalho não foi evidenciado taxas de digestibilidade baixas para possivelmente
 1661 gerar estes transtornos metabólicos.

1662 Não foi verificada influência (P>0,05) dos níveis de torta de crambe sobre os parâmetros
 1663 cinéticos de digestão (Tabela 20), este resultado já era esperado, sendo a dieta com 50 g/kg a que
 1664 apresentou maior teor de fibra em detergente neutro (Tabela 15), certamente este foi o fator que
 1665 interferiu na produção de gás, uma vez que, quanto maior a quantidade de carboidratos prontamente
 1666 fermentáveis (açúcares solúveis, amido e pectina) no alimento, maior será o volume de gás
 1667 produzido na fração de rápida degradação (fração A).

1668 Beran *et al.* (2005) afirma que o processo de prensagem do grão causa compactação, que
 1669 após a moagem pode causar partículas menores, que facilita a solubilização, influenciando
 1670 diretamente na produção de gás, isso certamente foi o que levou as dietas com presença da torta de
 1671 crambe a apresentar uma boa produção de gás não diferenciando muito da dieta controle.

1672 Assim como, as frações de rápida (A) e lenta degradação (D) do tratamento com 50 g/kg de
 1673 torta, as suas respectivas taxas B e E, foram as que apresentaram menores valores de tempo de
 1674 degradação com 0,15/h e 0,30/h respectivamente, quanto maior a taxa de degradação melhor, pois a
 1675 presença de carboidratos prontamente fermentáveis e fonte de energia para crescimento microbiano

1676 (Nocek & Russell, 1988), melhorando a degradação de celulose e hemicelulose refletindo nas
1677 frações de lenta degradação (D) e sua respectiva taxa de degradação (E).

1678

1679 **Tabela 19.** Média da produção cumulativa de gás in vitro (mL/100mg MS) para os
1680 tratamentos com níveis crescentes de inclusão da torta de crambe no concentrado (experimento 2),
1681 no período de 24 horas obtida por duplicatas de amostras.

Parâmetros	Dietas (g/kg MS)				Média	CV%	P<0,05	
	0	50	100	150			L	Q
	A (mL/gás)	7,97	6,8	7,82			7,46	7,46
B (/h)	0,05	0,01	0,04	0,07	0,08	84	ns	ns
C (horas)	0,07	0,05	0,09	0,05	0,06	79,35	ns	ns
D (mL/gás)	5,52	4,66	5,14	5,72	5,26	22,3	ns	-
E (/h)	0,05	0,03	0,04	0,05	0,04	33,48	ns	ns

1682 -L - efeito linear; Q - efeito quadrático; ns – não significativo.

1683

1684 Após adicionar o coproduto no concentrado, Souza (2011) verificou maiores produções de
1685 gás na fração rápida (A), no entanto, a taxa da produção de gás oriunda da fração rápida não diferiu
1686 para os diferentes níveis de farelo de crambe (0%, 30%, 60%, 90%) em substituição ao farelo de
1687 soja, com média 7,30/h. Para a fração lenta, o mesmo autor, observou que a produção de gás foi
1688 menor quando o farelo de crambe fez parte da composição dos concentrados, com média 7,33 mL.

1689 Mizubuti *et al.* (2011), avaliaram diferentes coprodutos (torta de girassol, farelo de algodão,
1690 torta de soja, torta de crambe e farelo de crambe) pela método da digestibilidade in vitro com
1691 produção de gás semi automática, observaram que a torta de crambe apresentou a segunda menor
1692 produção de gás oriunda da degradação de carboidratos não fibrosos com 75,03 mL de gás.

1693 O tempo de colonização C (*lag time*) não foi influenciado pela inclusão da torta de crambe,
1694 com média de 0,67/horas. Souza (2011) constatou que *lag time* do farelo de crambe foi de 1,3 horas,
1695 enquanto o farelo de soja apresentou 3,31 horas.

1696 Os valores referentes ao pH (Tabela 21), oriundo da digestibilidade in vitro do experimento
1697 2, indicam que não houve efeito da dieta.

1698 O pH ruminal está diretamente relacionado com os produtos finais da fermentação e também
1699 com a taxa de crescimento dos microrganismos ruminais. A faixa de pH para que a atividade
1700 microbiana ocorra normalmente no rúmen é de 6,7±0,5 (Van Soest, 1994). Ørskov (1988) relatou
1701 que, em situações de pH abaixo de 6,2, ocorre redução na digestão da fibra devido à sensibilidade
1702 das bactérias fibrolíticas e o ponto ótimo da digestão da fibra ocorreu em valores de pH entre 6,7 e
1703 7,1. Neste estudo a média do pH esteve acima de 6,66, indicando que a presença da torta de crambe
1704 não interfere nos valores de pH.

1705 **Tabela 20.** Valores médios de pH do líquido ruminal da digestibilidade in vitro de dietas
 1706 com torta de crambe em substituição ao farelo de soja e seu respectivo coeficiente de variação
 1707 (experimento 2).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	50	100	150	
0	6,93	6,93	6,93	6,93	6,93
1	6,61	6,59	6,58	6,55	6,58
2	6,64	6,66	6,66	6,57	6,63
3	6,72	6,73	6,72	6,69	6,71
4	6,75	6,77	6,74	6,7	6,74
5	6,75	6,74	6,72	6,65	6,71
6	6,76	6,72	6,68	6,64	6,7
7	6,72	6,68	6,65	6,63	6,67
8	6,74	6,66	6,58	6,61	6,65
Média	6,73	6,72	6,69	6,66	6,7
CV (%)			14,96		
L	ns	ns	0,2314ns	0,3179ns	-
r^{2L}	0,0016	0,045	0,088	0,062	-

1708 -L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1709

1710 Os valores médios do N – amoniacal (Tabela 22) do experimento 2, foram influenciadas
 1711 (P<0,05) pelos diferentes níveis de inclusão da torta de crambe.

1712 De acordo com Russel *et al.*, (1992), o tipo de dieta influencia na concentração de amônia e
 1713 aminoácidos no rúmen, alimentos contendo alto teor de N não-protéico ou proteínas solúveis
 1714 aumentam o teor de amônia e aminoácidos no líquido ruminal, o que certamente foi um dos motivos
 1715 que levou a maior concentração amoniacal deste coproduto em relação a dieta com farelo de soja.

1716 Liu *et al.* (1994) utilizaram crambe na alimentação de ruminantes e observaram que a
 1717 matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro foram degradados mais rapidamente
 1718 no rúmen do que o farelo de soja. Porém, é sabido que o tratamento térmico pode reduzir
 1719 drasticamente o resultado para a degradabilidade ruminal.

1720 Caton *et al.* (1994), trabalhando com animais fistulados observaram que a taxa in situ de
 1721 desaparecimento da proteína no rúmen não foi diferente para os valores de alimentos com crambe e
 1722 farelo de soja, utilizados como suplementação proteica com uma dieta de feno de capim, resultados
 1723 estes diferente dos observados neste trabalho.

1724

1725

1726

1727

1728

1729 **Tabela 21.** Valores médios de N-amoniacoal (mg/dL) do líquido ruminal da digestibilidade in
 1730 vitro de dietas com torta de crambe em substituição parcial ao farelo de soja e seu respectivo
 1731 coeficiente de variação (experimento 2).

Horas	Tratamentos (g/kg MS)				Média
	0	50	100	150	
0	10,94	14,59	9,11	10,94	11,39
1	16,41	29,17	25,52	14,58	21,42
2	14,58	25,52	34,63	29,17	25,97
3	34,63	41,92	45,57	30,99	38,27
4	43,75	29,17	32,81	32,81	34,63
5	36,46	32,81	34,63	34,64	34,63
6	36,46	36,46	34,63	30,99	34,63
7	36,46	30,99	34,63	34,64	34,18
8	36,46	25,52	30,99	25,52	29,62
Média	29,57	29,57	31,39	27,14	29,41
CV (%)			14,96		
L	0,0002*	0,1522ns	0,0551**	0,0032***	-
r^{2L}	0,59	0,12	0,21	0,43	-

1732 -L: regressão linear; ns: não significativo; CV: Coeficiente de variação.

1733 -Equações de efeito linear = *Y= 15,7156+3,46375x; **Y= 24,4666x; ***Y= 18,7564+2,09617x.

1734

1735

1736

1737

1738

1739

1740

1741

1742

1743

1744

1745

1746

1747

1748

1749

1750

3.4 Conclusões

1751
1752
1753
1754
1755
1756
1757
1758
1759
1760
1761
1762
1763
1764
1765
1766
1767
1768
1769
1770
1771
1772
1773
1774
1775
1776
1777
1778
1779
1780
1781
1782
1783
1784
1785

A torta de crambe é um coproduto com um bom perfil de cinética de fermentação ruminal no que diz respeito à degradação de carboidratos não fibrosos e carboidratos fibrosos, sendo potenciais fornecedores de energia e proteína na dieta de ruminantes.

A substituição do farelo de soja pela torta de crambe suscitou uma redução da digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta, porém, esta redução não impede que o mesmo seja utilizado em até 150 g/kg de substituição ao farelo de soja.

1786

3.5 Referências Bibliográficas

- 1787 ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; QUEIROZ, A.C.; et al. Polpa cítrica em dietas de vacas em
1788 lactação. 2. Digestibilidade dos nutrientes em dois períodos de coleta de fezes, pH e nitrogênio
1789 amoniacal do líquido ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.1, p.251-
1790 257. 2004.
- 1791 ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTIS. Official methods of the
1792 Association of the Agricultural Chemists. 18. ed. **Washington**, 2006. v. 2.
- 1793 BERAN, F. H. B.; SILVA, L. D. F.; RIBEIRO, E. L. A., et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da
1794 matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta de alguns suplementos concentrados usados na
1795 alimentação de bovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 405-418, 2005.
- 1796 CARLSON, K. D.; GARDNER, J. C.; ANDERSON, V. L., et al. Crambe: new crop success. In:
1797 JANICK, J. (Ed.). **Progress in new crops**. Alexandria: ASHS Press, 1996. p. 306-322.
- 1798 CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de
1799 incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e
1800 fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-
1801 342, 2008.
- 1802 CATON, J.S., V.I. BURKE, V.L. ANDERSON, L.A., et al. Influence of crambe meal as a protein
1803 source on intake, site of digestion, ruminal fermentation, and microbial efficiency in beef steers
1804 fed grass hay. **J. Anim. Sci.** 1994. 72:3238.
- 1805 DETMANN, E.; BARBOSA, A.M.; TEIXEIRA, R.M.A., et al. Variações diárias nas excreções de
1806 creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4,
1807 p.905-911, 2007.
- 1808 DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; CECON. P.R., et al. Consumo de fibra em detergente neutro por
1809 bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1763-1777, 2003 (supl
1810 1).
- 1811 DÍAZ T.,G. Avaliação *in vitro* da inclusão do líquido da casca da castanha de caju em dietas para
1812 ruminantes. 2012, 59 p. **Dissertação** (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual
1813 de Maringá, UEM, Maringá – PR.
- 1814 GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and
1815 some applications). Washington, DC: USDA, 1970. (Agricultural Handbook, 379).
- 1816 GOES R. H. T. B.; SOUZA K. A.; PATUSSI R. A., et al. Degradabilidade *in situ* dos grãos de
1817 crambe, girassol e soja, e de seus coprodutos em ovinos. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences
1818 Maringá, v. 32, n. 3, p. 271-277, 2010.
- 1819 HILTNER, P.; DEHORITY, B.A. Effects of soluble carbohydrates on digestion of cellulose by pure
1820 cultures of rumen bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v.46, n.5,p.642-648,
1821 1983.
- 1822 LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly
1823 under tropical conditions. **Nutrition Reserve Review**, Bethesda v.3, n.3, p.277-303, 1990.
- 1824 LIU, YONG-GANG. 1994. Crambe meal: evaluation, improvement and comparison with rapeseed
1825 meal. Ph.D. **Thesis**. Department of Animal Nutrition, Wageningen Agricultural Univ.,
1826 Haagsteeg 4, 6708 PM Wageningen, the Netherlands.
- 1827 MIZUBUTI I. Y.; RIBEIRO E.L.A.; PEREIRA E. S., et al., Cinética de fermentação ruminal *in*
1828 *vitro* de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de
1829 gás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 2021-2028, 2011.

- 1830 NOCEK, J.E.; RUSSELL, J.B. Protein and energy as an integrated system: relationship of ruminal
1831 protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of**
1832 **Dairy Science**, v.71, p.2070-2107, 1988.
- 1833 ØRSKOV, E.R. 1988. Nutrición proteica de lós ruminantes. **Acribia**. Zaragoza. 178 pp.
- 1834 PATUSSI, R. A., Torta de crambe em suplementos para bovinos sob pastejo. 2013, 105p.
1835 **Dissertação** (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal da Grande Dourados,
1836 UFGD, Dourados – MS.
- 1837 PELL, A.N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W.C. Rates of digestion of feeds measured *in vitro* with
1838 computers. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference**, v.13, p.74-81, 1994.
- 1839 PEREIRA, L.G.R.; BARREIROS, D.C.; OLIVEIRA L.S. et al. Composição química e cinética de
1840 fermentação ruminal de subprodutos de frutas no sul da Bahia. **Livestock Research for Rural**
1841 **Development**, v.20, p.1-11, 2008.
- 1842 PRIMO, R.B.S. Avaliação *in vitro* da microbiota ruminal utilizando torta de *Crambe*: Determinação
1843 da ação antimicrobiana e caracterização química das sementes de *Crambe abyssinica*. 2013, 70p.
1844 **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande
1845 Dourados, UFGD, Dourados – MS.
- 1846 ROSCOE, R.; DELMONTES, A. M. A. Crambe é nova opção para biodiesel. Agriannual 2009. São
1847 Paulo: Instituto FNP, 2008. p. 40-41.
- 1848 RUSSELL, J. B., J. D. O’CONNOR, D. G. FOX, P. J. VAN SOEST, AND C. J. SNIFFEN. A net
1849 carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets I. Ruminal fermentation. **Journal**
1850 **Animal Science** 70:355. 1992.
- 1851 RUSSELL, J.B.; WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at
1852 low pH? **Journal Dairy Science**, v.79, p.1503-1509, 1996.
- 1853 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3ed. Viçosa,
1854 MG: Editora UFV, 235p. 2002.
- 1855 SOUZA, A.D.V. Farelo de Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) em Substituição ao Farelo de Soja
1856 na Dieta de Ruminantes. 2011, 159 p. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade
1857 Católica Dom Bosco, UCDB, Campo Grande – MS.
- 1858 SOUZA, A.D.V.; FÁVARO, S.P.; ÍTAVO, L.C.V., et al. Caracterização química de sementes e
1859 tortas de pinhão-manso, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44,
1860 n.10, p.1328-1335, 2009.
- 1861 STEG, A., HINDLE V.A., LIU Y.G. By-products of some novel oilseeds for feeding: laboratory
1862 evaluation. **Anim. Feed Sci. Technol.** 1994. 50:87.
- 1863 TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage techniques for digestion of forage crops. **Journal of**
1864 **the British Grassland Society**, v. 18, p.104-111, 1963.
- 1865 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e**
1866 **genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG. (manual do usuário), 2000. 142p.
- 1867 VAN SOEST, P.J. Nutricional Ecology of the Ruminant. **Cornell University Press**. Ithaca, 1994.
- 1868 VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações para**
1869 **ruminantes**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia)
1870 - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- 1871
- 1872
- 1873

1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923

3.6 Considerações Finais

O uso de coprodutos (torta de girassol e torta de crambe) nas dietas apresentaram boas taxas de degradação e bons parâmetros ruminais (pH e N-amoniaco) na digestibilidade *in vitro* evidenciando a sua capacidade de substituição e inclusão em dietas para ruminantes.

1924
1925
1926

Anexo 1 – Figuras da adaptação dos jarros para coleta de líquido oriundo da digestibilidade in vitro, para determinação do pH e N- amoniacal.



1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945