

# Determinação *in vitro* do potencial de produção de metano e dióxido de carbono de líquido ruminal proveniente de bovinos de diferentes categorias

E.M. de Oliveira Pereira<sup>1</sup>, J. Maria Ezequiel, Bruno Biagioli, e José Feitosa

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. UNESP, SP, Brasil

## Methane and carbon dioxide production *in vitro* in ruminal liquid from different types of bovines fed with total mixed ration

**ABSTRACT.** The objective of this research was to measure the *in vitro* methane and carbon dioxide emission potential by bovines. Six Holsteins with ruminal cannulas were utilized, including two bulls, two steers and two lactating cows. The animals were fed a diet of 45% corn silage and 55% concentrate composed by corn grain, sunflower meal, soybean hulls and soybean meal. Gas emission of each dietary component and of the total ration, were evaluated through individual incubation in ruminal liquid. The experiment was conducted in four periods, with three animal categories (females, adult males and steers). Bulls and cows showed similar methane emission values for all the ingredients, denoting similar emission behavior. However, steers gave lower methane and higher carbon dioxide values for soybean meal and corn silage, indicating greater fermentation of these ingredients by this type of bovine. It was concluded that there are differences among the cattle categories regarding methane and carbon gas emission.

Key words: Gas production, rumen, carbon dioxide.

© 2006 ALPA. Todos los derechos reservados

Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2006. Vol. 14 (4): 120-127

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi determinar *in vitro* o potencial emissivo de metano e dióxido de carbono em bovinos. Foram utilizados seis bovinos da raça holandesa, canulados no rúmen, sendo dois bois, dois novilhos e duas vacas em lactação. Os animais receberam dietas composta por 45% de silagem de milho e 55% de concentrado composto por milho, farelo de girassol, casca de soja e farelo de soja. Foram avaliadas as emissões de gases de cada componente dietético, assim como da ração total, incubados individualmente em líquido ruminal. O experimento foi conduzido em quatro períodos, onde os animais foram divididos em três categorias (fêmeas, machos adultos e novilhos). Foi observado que bois e vacas apresentam valores de emissão semelhantes para todos os ingredientes, indicando mesmo comportamento emissivo. No entanto, para novilhos foram obtidos valores de metano para farelo de girassol e silagem menores que aqueles apresentados por bois e vacas e maiores valores de gás carbônico, indicando maior fermentação destes ingredientes. Assim, conclui-se que existem diferenças entre as categorias na emissão do metano e gás carbônico.

Palavras-chave: Produção de gás, rúmen, gás carbônico.

## Introdução

O metano é um produto final normal da fermentação ruminal e por constituir uma perda no potencial energético, tem sido estudado por décadas (Howden e Reyenga, 1999).

Sua produção é diretamente proporcional à concentração de H<sub>2</sub> dissolvida. Portanto, deve-se buscar impedir o acesso a estes prótons pelos organismos metanogênicos através da otimização de sua utilização. Isto pode ser obtido pela redução da liberação fosforilástica de H<sub>2</sub> promovendo a oxidação do NAD(P)H em reações que não transfiram elétrons para as hidrogenases e promovendo reações não metanogênicas que utilizem H<sub>2</sub> (Hegarty, 1999).

A fermentação anaeróbia que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos no rúmen, efetuado pela população microbiana, converte os carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta, formando principalmente os ácidos acético, propiônico e butírico. Nesse processo fermentativo, são produzidos dióxido de carbono e metano, em maior ou menor quantidade, dependendo da concentração e proporções relativas dos ácidos produzidos (Lucci, 1997).

Além de serem um indicativo de perdas energéticas, o metano e o dióxido de carbono, contribuem grandemente para o agravamento do efeito estufa, uma vez que estes gases se acumulam sobre na atmosfera e absorvem o calor produzido na superfície, dificultando sua dissipação para o espaço exterior.

Pouco se sabe sobre o comportamento emissivo destes

Recibido Julio 16, 2005. Aceptado Julio 20, 2006.

<sup>1</sup>Autor para la correspondencia, e-mail: expeditapzoo@aol.com

gases poluentes entre bovinos de diferentes categorias, uma vez que a ênfase tem sido dada a diferenças emissivas entre componentes da dieta.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar as diferenças do potencial emissivo de metano e dióxido de carbono, por bovinos de diferentes categorias.

## Material e Métodos

Foram utilizados seis bovinos da raça holandesa, sendo duas vacas multíparas em lactação, com produção média de 20 litros/dia e com peso vivo médio de 700 kg, dois novilhos com um ano e meio de idade, com peso vivo inicial médio de 350 kg e dois bois castrados, com aproximadamente três anos e meio e peso vivo médio de 600 kg. Todos estes animais eram providos de cânulas permanentes no rúmen.

As dietas, na forma de ração total, foram formuladas visando atender às exigências em proteína bruta e energia para cada categoria segundo o AFRC (1993).

O volumoso utilizado foi a silagem de milho. O concentrado fornecido para os machos foi composto por grãos de milho moído, casca de soja, farelo de girassol e um suplemento mineral. A composição da dieta das vacas diferiu apenas na inclusão do farelo de soja para adequação dos níveis protéicos da dieta. O Quadro 1 apresenta a composição bromatológica dos ingredientes e nos Quadros 2, 3 e 4 as composições percentuais das dietas para as vacas, bois e novilhos, considerando uma ingestão de 2,3%, 2,0% e 1,4% do peso corporal, respectivamente.

A matéria seca, a proteína bruta, fibra em detergente ácido, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, celulose e lignina foram determinados segundo metodologias descritas em Silva e Queiroz (2002). A porcentagem de amido foi determinando segundo metodologia descrita por Hendrix (1993) para extração, e o ácido dinitrisalicínico (DNSA), para leitura colorimétrica (Miller 1959).

Todos os animais, no início do experimento, passaram por um período de adaptação à ração total de 21 dias, recebendo volumosos à vontade e 1/3 da quantidade total do concentrado na primeira semana, 2/3 ao fim da segun-

da semana e na terceira semana foi oferecida ração total com as quantidades experimentais.

A determinação do metano e do CO<sub>2</sub> foi obtida conforme metodologia proposta por Gastaldi (2003), que consiste de três etapas.

1. Preparo da amostra – o conteúdo ruminal foi coletado com o auxílio de bomba vácuo, filtrado em filtro de náilon com porosidade de 100  $\mu$ m. Em seguida 800 mL do líquido filtrado foi acondicionado em garrafas de vidro de cor âmbar, com capacidade de 1000 mL, onde previamente foram adicionados 10 g de MS de substrato para fermentação que será utilizado como fonte alimentar pelos microrganismos, neste caso, 10 g de MS da dieta correspondente ao animal doador ou do ingrediente a ser avaliado individualmente. Nesta etapa é importante a utilização da bomba à vácuo por possibilitar uma coleta rápida e proporcionar retirada de material proveniente da porção ventral do rúmen.

2. Produção e armazenamento dos gases – os recipientes foram mantidos por 12 horas em banho-maria à temperatura de 39°C, sendo o gás produzido recolhido em ambiente plástico que é na verdade uma garrafa plástica do tipo pet adaptada ao sistema com volume interno de 2 litros (Figuras 1 e 2).

3. Análise qualitativa e quantitativa do gás produzido – os gases armazenados no ambiente plástico foram transferidos para um recipiente com capacidade de aproximadamente 50 mL com auxílio de bomba à vácuo e levado para análise em cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC- 2001, equipado com as colunas Porapack Q e Peneira Molecular, e detector de condutividade térmica (Figuras 3 e 4). A quantidade de gás produzido é mensurada pela determinação do volume ocupado pelo gás dentro do recipiente plástico após 12 horas de fermentação.

As colheitas do conteúdo foram realizadas sempre ao final do dia, por volta das 19 h e os animais não foram submetidos ao jejum, sendo estas realizadas, portanto após a última refeição do dia.

A taxa de desaparecimento dos ingredientes e da ração total foi obtida segundo técnica de degradação ruminal *in situ* (Ørskov e McDonald, 1979), utilizando sacos de náilon

Quadro 1. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Ingredientes	MS <sup>2</sup> %	PB <sup>2</sup>	FDN <sup>2</sup>	FDA <sup>2</sup>	% MS				
					celulose <sup>2</sup>	lignina <sup>2</sup>	AMIDO <sup>2</sup>	EE <sup>2</sup>	NDT <sup>1</sup> %
Silagem de milho	35,1	8,8	45	28,1	24,8	6,0	16,3	3,2	68,8
Milho grão moído	81,1	9,4	9,5	3,4	3,3	2,6	72,2	4,2	85,0
Farelo de girassol	92,2	28,4	40,4	31,0	31,0	11,5	4,9	1,4	59,9
Farelo de soja	89,1	50,0	11,4	9,1	7,8	1,7	5,5	1,1	81,4
Casca de Soja	90,9	13,9	67,5	48,7	46,0	7,0	6,5	2,7	67,3

<sup>1</sup>NDT= Nutrientes digestíveis totais estimados segundo NRC (2001)

<sup>2</sup>- Análises efetuadas no Laboratório de Nutrição Animal da Unesp - FCAV.

MS= matéria seca, PB= proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, EE= extrato etéreo, NDT= nutrientes digestíveis totais.

Quadro 2. Composição percentual e ingestão da ração total fornecida às vacas, considerando ingestão 2,3% do peso corporal

Ingrediente	%	Ingestão (kg/ dia)		
		MS	PB	NDT*
Silagem de milho	45,0	7,8	0,6	5,0
Milho grão moído	6,0	1,0	0,1	0,9
Farelo de girassol	20,0	3,5	0,9	2,2
Farelo de soja	16,0	2,7	1,3	2,3
Casca de Soja	12,0	2,1	0,3	1,6
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	1,0	0,1	-	-
Total	100,0	17,2	3,2	12,0
			PB= 18,6 %MS	NDT= 70,0 %MS

\*NDT = Nutriente digestíveis totais = estimado segundo NRC (2001)

MS= matéria seca, PB= proteína bruta, NDT= nutrientes digestíveis totais.

<sup>1</sup>Composição (por kg de produto): Ca= 100,0g; P=50,4 g, Na=251,19 g; Cl= 408,5g; Zn= 5040,0 mg; Cu= 2228,7 mg; Co = 218,2 mg; I = 118,0 mg; S= 19091,0 mg.

Quadro 3. Composição percentual e ingestão da ração total fornecida aos novilhos considerando ingestão de 2,0% do peso corporal

Ingrediente	%	Ingestão (kg/ dia)		
		MS	PB	NDT *
Silagem de milho	45	3,15	0,30	2,20
Milho grão moído	10	0,70	0,06	0,06
Farelo de girassol	25	1,75	0,50	1,04
Casca de soja	19	1,33	0,20	0,90
Suplemento Mineral	1	0,08	-	-
Total	100,0	7,01	1,06	4,74
			PB= 13,06 %MS	NDT= 68,32 %MS

\*NDT = Nutriente Digestíveis Totais = estimado segundo NRC (2001)

MS= matéria seca, PB= proteína bruta, NDT= nutrientes digestíveis totais.

<sup>1</sup>Composição (por kg de produto): Ca= 100,0g; P=50,4 g, Na=251,19 g; Cl= 408,5g; Zn= 5040,0 mg; Cu= 2228,7 mg; Co = 218,2 mg; I = 118,0 mg; S= 19091,0 mg.

Quadro 4. Composição percentual e ingestão da ração total fornecida aos bois considerando ingestão de 1,4% do peso corporal

Ingrediente	%	Ingestão (kg/ dia)		
		MS	PB	NDT *
Silagem de milho	45	3,78	0,33	2,60
Milho grão moído	10	0,84	0,07	0,71
Farelo de girassol	25	2,10	0,60	1,25
Casca de soja	19	1,60	0,22	1,07
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	1	0,08	-	-
Total	100,0	8,40	1,22	5,63
			PB= 13,06 %MS	NDT= 68,32 %MS

\*NDT = Nutriente Digestíveis totais = estimado segundo NRC (2001)

MS= matéria seca, PB= proteína bruta, NDT= nutrientes digestíveis totais.

<sup>1</sup>Composição (por kg de produto): Ca= 100,0g; P=50,4 g, Na=251,19 g;; Cl= 408,5g; Zn= 5040,0 mg; Cu= 2228,7 mg; Co = 218,2 mg; I = 118,0 mg; S= 19091,0 mg.

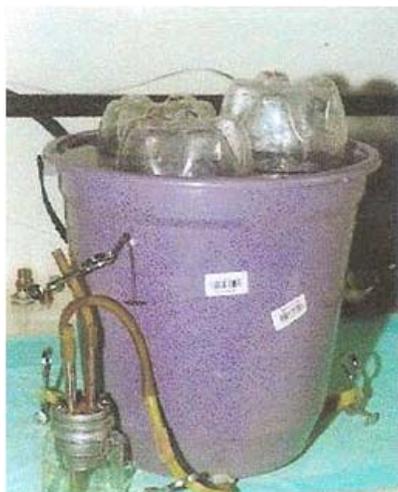


Figura 1. Recipiente confeccionado para o armazenamento de gases produzidos no processo fermentativo "in vitro".



Figura 2. Garrafas de vidro âmbar contendo líquido ruminal e substrato colocadas em banho maria adaptadas a baldes plásticos contendo recipientes confeccionados para aprisionamento dos gases produzidos durante a fermentação

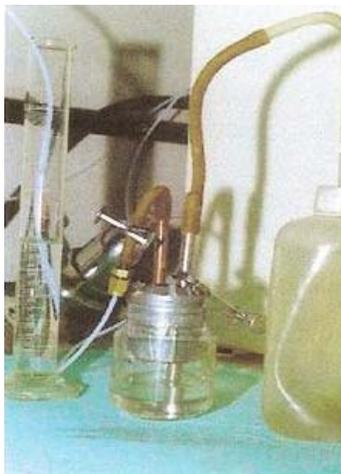


Figura 3. Recipiente de transferência após a injeção de gás no cromatógrafo gasoso pelo acréscimo de água



Figura 4. Cromatógrafo gasoso utilizado na análise das amostras.

100% poliamida, com poros de 50 micrometros, com área disponível correspondendo a 14,0 x 7,0 cm, contendo aproximadamente 5 gramas, onde cada saquinho foi incubado no rúmen durante um período de 12 horas

Transcorrido o tempo de permanência ruminal foram lavados em água fria corrente para retirada de resíduos alimentares grosseiros aderidos externamente aos saquinhos e mergulhados por 30 minutos em água com gelo para interrupção da atividade microbiana. Em seguida, foram lavados em máquina tipo tanquinho com renovação de água, sendo o tempo (5 minutos para cada) e o número de batidas (5) padronizadas para todas as lavagens. Após esta etapa, os sacos contendo os resíduos não degradados no rúmen foram secos em estufa com circulação e renovação de ar a temperatura de 55°C por um período de 72 horas. Os resíduos foram pesados após estarem secos e em equilíbrio com a temperatura ambiente e depois foram submetidos.

Os teores de matéria seca, fibra em detergente ácido, fibra em detergente neutro, proteína bruta e amido dos resíduos foram obtidos utilizando as mesmas técnicas utilizadas para análise da composição bromatológica dos ingredientes descritas acima.

O experimento foi conduzido em quatro períodos, onde os animais foram divididos em três categorias (bois, vacas e novilhos), utilizando-se o delineamento em blocos (períodos) para estimativas dos substratos silagem de milho, milho grão moído, casca de soja, farelo de girassol e ração total, compondo-se o esquema fatorial (3X5). Os dados experimentais foram analisados empregando-se o Programa SAS (1990), segundo o seguinte modelo matemático:

$$Y = m + Bk + Ai + lj + Alij + Eijk$$

Onde:

Y = variável dependente;

m = média geral;

Bk = efeito do bloco j (j = 1, 2, 3, 4);

Ai = efeito de animal i (i=1,2,3);

Ik = efeito do ingrediente k (k = 1, 2, 3, 4, 5);

Alij = efeito da interação animal i e ingrediente k;

Eijk = erro residual assumido independentemente e identicamente distribuído.

## Resultados e Discussão

### Produção Total de Gás

No Quadro 5 são apresentados os valores da produção total de gás "*in vitro*" de acordo com o substrato utilizado.

Quando analisado a produção total de gás observa-se que a silagem de milho, alimento volumoso, foi o substrato que proporcionou o menor volume de gás total produzido, independente da categoria animal estudada, e o milho moído e a casca de soja foram os substratos que apresentaram o maior volume de gás produzido.

Quando analisada a produção volumétrica de gás obtido pela fermentação do milho, observou-se que houve superioridade significativa para novilhos e vacas em relação a bois, sendo os volumes produzidos por estas categorias 20% e 26%, respectivamente, superiores ao volume produzido por bois. Para a ração total a mesma diferença foi observada, onde as produções volumétricas de gás foram de 7,78 e 6,93% superiores para novilhos e vacas em relação a bois.

Foi observado que o volume de gás produzido diferiu de acordo com a natureza fibrosa do ingrediente utilizado. Os menores volumes foram observados para a silagem e o farelo de girassol, independentemente da categoria estudada.

Tal observação leva a ponderar que a produção total de gás está diretamente relacionada com o conteúdo fibroso da dieta, aliado à acessibilidade que esta oferece à degradação microbiana. Pode-se observar, ao fazermos uma correlação entre a composição dos ingredientes (Quadro 1) e os valores de volume de gás observados no Quadro 5, que alimentos com maior teor de amido e carboidratos mais rapidamente fermentescíveis, aliados a um baixo teor de lignina, apresentam um volume de gás produzido após 12 horas de fermentação maior do que os outros alimentos.

As diferenças observadas entre as categorias quanto à produção de gás também podem ser atribuídas a diferenças populacionais microbianas comuns entre as categorias, uma vez que a população microbiana difere entre os animais de acordo com o tipo de dieta, características

Quadro 5. Produção total de gás "*In vitro*" (mL) devido à fermentação de diferentes substratos no líquido ruminal dos bovinos de diferentes categorias, em 12 horas de incubação\*

Substrato	Bois	Novilhos	Vacas	CV (%)
Silagem	457,52 <sup>Ca</sup>	437,21 <sup>Da</sup>	427,02 <sup>Ca</sup>	3,00
Milho grão moído	894,75 <sup>Ab</sup>	1118,48 <sup>Aa</sup>	1220,10 <sup>Aa</sup>	2,85
Casca de soja	986,23 <sup>Aa</sup>	996,45 <sup>ABa</sup>	864,20 <sup>Bb</sup>	2,83
Farelo de girassol	742,22 <sup>Ba</sup>	793,13 <sup>Ca</sup>	762,65 <sup>Ba</sup>	2,00
Ração total	843,90 <sup>Ab</sup>	915,15 <sup>Ba</sup>	913,43 <sup>Aa</sup>	3,85
CV (%)	5,00	6,82	5,72	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas, dentro de cada coluna, diferem entre si, e de diferentes letras minúscula, dentro de cada linha, diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

\* 10 g MS de cada substrato + 800 mL de líquido ruminal.

ingestórias, nível produtivo e taxas de passagem (NRC, 1985). Sabe-se que animais mais jovens e fêmeas apresentam taxas de passagem mais rápida devido principalmente as suas características ingestórias, o que acaba influenciando na composição microbiana ruminal.

Os volumes de gases obtidos foram similares aos apresentados por Gastaldi (2003) para milho (1046 mL) e farelo de girassol (747 mL). Quando comparados os volumes obtidos através da fermentação da casca de soja, aqueles apresentados neste trabalho foram um pouco superiores (996,45 mL contra 641 mL), o que pode ser explicado por diferenças entre as dietas utilizadas e a relação volumosos concentrado, uma vez que o referido autor utilizou dietas com 70 e 40% de volumoso constituído por feno bom [com 76,4% de FDN (% MS) e 1,99% EMfe (% MS)] ou ruim [81,95 de FDN (% MS) e 1,79% de EMfe (% MS)] fornecidas a novilhos de corte com 1,8 ano de idade. Segundo Moss *et al.* (2000) o tipo de ração oferecida aos ruminantes pode ter uma grande influência na fermentação ruminal, influenciando os produtos finais, como o metano. Tal afirmação explica as diferenças observadas entre os dois trabalhos.

### Produção de Metano, Dióxido de Carbono e Oxigênio.

A produção de gases provenientes da fermentação ruminal pode variar de acordo com a dieta utilizada, variando também a proporção de  $CH_4$ ,  $CO_2$  e  $O_2$  nele contido. Sabe-se que, quanto maior o teor de fibra de um ingrediente, maior será a porcentagem de metano liberado com base na energia bruta (Gastaldi, 2003).

Ao analisarmos os dados apresentados na Quadro 6, nota-se variações nas concentrações de metano e dióxido de carbono de acordo com o ingrediente utilizado. Para milho e casca de soja os teores de dióxido de carbono são maiores do que os de metano para todos os animais. Quando analisados a silagem de milho e o farelo de girassol observou-se, para bois e vacas, que os teores de metano no total de gás produzido foram maiores do que os de dióxido de carbono, no entanto, para novilhos ocorre o inverso, havendo menor emissão de metano.

Tal observação demonstra que podem ocorrer diferenças quanto à emissão de metano de acordo com a categoria, sendo que tal diferença pode estar mais relacionada às características de ingestão. Kirchgebner *et al.* (1995), em experimento utilizando dietas que variavam de acordo com as exigências nutricionais de cada categoria, observaram que em gado de corte as pequenas diferenças nas quantidades de metano emitidas pelos diferentes sexos foram correlacionadas com as diferenças de ingestão entre as categorias.

Sabe-se que vacas apresentam ingestão contínua ao longo do dia e apresentam maior taxa de passagem. Novilhos também se alimentam continuamente ao longo do dia, apresentando características semelhantes à fêmeas, embora o volume ingerido seja menor. Já machos adultos apresentam características ingestórias diferenciadas de novilhos e fêmeas, onde a frequência ingestória é menor, influenciando na taxa de passagem do alimento pelo trato, que normalmente é menor.

Tais particularidades de cada categoria acabam

Quadro 6. Percentual de gás carbônico (CO<sub>2</sub> %), oxigênio (O<sub>2</sub> %) e metano (CH<sub>4</sub> %) "*in vitro*" no líquido ruminal de bovinos de diferentes categorias.

Substrato	Bois	Vacas	Novilhos	CV(%)
CO <sub>2</sub>				
Silagem de milho	44,80 <sup>Bb</sup>	45,42 <sup>Bb</sup>	52,27 <sup>Aa</sup>	2,00
Milho grão moído	53,72 <sup>Aa</sup>	56,24 <sup>Aa</sup>	55,04 <sup>Aa</sup>	2,00
Casca de Soja	54,84 <sup>Aa</sup>	51,21 <sup>Aa</sup>	53,48 <sup>Aa</sup>	2,85
Farelo de Girassol	45,23 <sup>Bb</sup>	47,95 <sup>Bb</sup>	53,54 <sup>Aa</sup>	2,98
Ração total	43,81 <sup>Bb</sup>	53,81 <sup>Aa</sup>	51,41 <sup>Aa</sup>	2,45
CV(%)	3,14	3,21	2,14	-
O <sub>2</sub>				
Silagem de milho	1,01 <sup>Ba</sup>	1,00 <sup>Aa</sup>	1,21 <sup>Aa</sup>	2,15
Milho grão moído	0,77 <sup>Ca</sup>	0,68 <sup>Aa</sup>	0,90 <sup>Aa</sup>	2,44
Casca de Soja	1,30 <sup>Ba</sup>	0,54 <sup>Aa</sup>	1,03 <sup>Aa</sup>	2,00
Farelo de Girassol	2,44 <sup>Ba</sup>	0,98 <sup>Ab</sup>	1,02 <sup>Ab</sup>	3,01
Ração total	6,71 <sup>Aa</sup>	0,74 <sup>Ab</sup>	1,00 <sup>Ab</sup>	3,87
CV(%)	3,87	2,14	2,45	-
CH <sub>4</sub>				
Silagem de milho	54,19 <sup>Aa</sup>	53,58 <sup>Aa</sup>	46,52 <sup>Bb</sup>	2,64
Milho grão moído	45,51 <sup>Ba</sup>	43,08 <sup>Ba</sup>	44,05 <sup>Aa</sup>	2,17
Casca de Soja	43,91 <sup>Ba</sup>	48,51 <sup>Ab</sup>	45,50 <sup>Aa</sup>	2,22
Farelo de Girassol	52,34 <sup>Aa</sup>	51,08 <sup>Aa</sup>	45,45 <sup>Ba</sup>	2,79
Ração total	49,53 <sup>Aa</sup>	45,45 <sup>Ba</sup>	47,58 <sup>Aa</sup>	2,67
CV(%)	3,44	3,78	3,05	-

Médias seguidas de diferentes letras minúscula, dentro de cada linha, diferem entre si, e de diferentes letras maiúsculas, dentro de cada coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

influenciando as inter-relações de populações de bactérias, protozoários e fungos dentro do ambiente ruminal, proporcionando maior ou menor utilização dos componentes da dieta, portanto maior ou menor fermentação, gerando diferentes relações de acetato, propionato e butirato, conseqüentemente, diferenças na emissão de metano e dióxido de carbono.

Kirchgebner *et al.* (1995) determinaram as diferenças emissivas entre machos e fêmeas de gado corte alimentados com silagem de milho como componente alimentar principal e determinaram que a emissão de metano durante todo o período produtivo foi 20% maior em novilhas do que em novilhos.

Howden e Reyenga (1999) afirmaram que, à medida que se intensifica o processo produtivo, aumenta-se a ingestão e tem-se como conseqüência maior emissão de metano. Vacas de alta produção apresentaram maiores teores médios percentuais do gás total produzido como metano.

Segundo Lassey *et al.* (1997), as concentrações de metano produzido no ambiente ruminal são influenciadas pela idade e nível produtivo do animal. Gastaldi (2003) afirmou

que inter-relações segundo atributos fisiológicos do animal, interagindo com a dieta e bactérias metanogênicas presentes no ambiente ruminal relacionam-se em uma via complexa, resultando em variações na emissão de metano.

Observa-se que a adição de concentrado como substrato nos líquidos ruminais resultou em produção de gás com menor proporção de metano (CH<sub>4</sub>) e oxigênio (O<sub>2</sub>) e maior produção de gás carbônico (CO<sub>2</sub>), o que pode indicar que mesmo havendo disponibilidade de CO<sub>2</sub>, não houve transformação acentuada deste em CH<sub>4</sub>, havendo três hipóteses para este baixo aproveitamento: 1) presença de poucas bactérias metanogênicas; 2) baixa atividade fermentativa das metanogênicas; ou 3) pouca liberação de H<sub>2</sub> no ambiente *in vitro*, motivado por vias estequiométricas que favorecem a produção de propionato e não de acetato.

O'mara (2004) descreve que a proporção de concentrado na dieta apresenta uma correlação negativa com a emissão de metano. Concentrados apresentam em sua estrutura física uma menor quantidade de carboidrato estrutural que forrageiras. Sabe-se que à medida que se aumenta a proporção destes na dieta aumenta-se a proporção de propionato e diminui-se a proporção de acetato produzido no processo fermentativo, ocorrendo algumas vezes decréscimo também de butirato (Johnson e Johnson, 1995), o que terá enorme impacto na produção final de metano. Além disso, a presença de grandes quantidades de concentrado na dieta ou a sua exclusividade na alimentação de ruminantes reduz o pH do ambiente ruminal. Se levarmos em consideração que as bactérias metanogênicas são pH sensíveis (Church, 1993) é de se esperar que a produção de metano neste ambiente ruminal também seja menor.

Segundo Moss *et al.* (2000), as formações de acetato e butirato promovem a produção de metano, enquanto a de propionato pode ser considerada uma competidora das vias de uso do hidrogênio livre no rúmen.

A análise da degradação dos componentes da dieta fornece uma predição da quantidade de substrato que está sendo utilizado pelos organismos e possibilita identificar que produtos finais da fermentação podem estar sendo mais bem utilizados.

No Quadro 7 encontra-se o desaparecimento da MS, FDN, FDA e amido, dos ingredientes e da ração total, durante período de 12 horas de incubação, que coincide com o tempo em que o material foi incubado.

Os novilhos apresentaram as maiores degradabilidades da MS da ração total e vacas apresentaram maior degradabilidade do amido e da FDA da ração total. O aproveitamento do amido do milho foi maior para novilhos e vacas. Poucas diferenças foram observadas para a degradação dos demais ingredientes entre as categorias.

Moss *et al.* (2000) descreveram que dietas com alta concentração do amido e melhor degradação deste favorecem a produção de propionato, reduzindo a produção de metano, ocorrendo o contrário em dietas fibrosas. Tal afirmação pode explicar as diferenças nas concentrações de metano, gás carbônico e oxigênio observadas no Quadro 6.

Quadro 7. Desaparecimento\* da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e do amido dos ingredientes e da ração total (RT), após doze horas de incubação "in situ"

	Bois	Novilho	Vaca	Boi	Novilho	Vaca
	Milho grão moído			Casca de soja		
MS	37,6	43,7	52,0	45,2	45,1	45,1
PB	43,0	58,0	52,0	56,1	53,9	53,9
FDN	53,6	54,9	48,0	25,8	34,5	34,5
FDA	74,7	74,7	72,8	17,6	14,1	14,1
AMIDO	35,1	46,1	46,9	26,2	26,5	26,5
	Silagem de milho			Farelo de girassol		
MS	55,1	60,9	69,8	62,7	52,4	52,4
PB	71,2	78,0	74,1	82,2	84,6	84,6
FDN	56,4	47,1	41,0	12,6	18,6	18,6
FDA	14,7	13,1	10,9	31,6	31,8	31,8
AMIDO	87,4	89,3	88,6	62,1	60,0	60,0
	Farelo de soja			Ração total		
MS	-	-	70,5	58,1	62,0	54,2
PB	-	-	57,1	77,0	74,6	78,3
FDN			31,6	28,6	25,2	27,9
FDA			47,4	5,1	9,0	14,8
AMIDO			72,1	31,7	40,9	59,4

\*

Ao analisarmos o Quadro 7 observamos que novilhos e vacas possuem um melhor aproveitamento do amido presente na ração total, com taxa de desaparecimento maior que os observados para bois. Ao avaliarmos os dados da Quadro 6 observamos que também para estas categorias a produção de  $\text{CH}_4$  também é menor que a de bois e a emissão de  $\text{CO}_2$  é maior.

Quando avaliamos apenas os ingredientes, observamos que aqueles que apresentam maiores teores de fibra e que num período de 12 horas de degradação ruminal apresentam baixa taxa de desaparecimento de componentes da fibra (Quadro 7) vão apresentar uma maior emissão de metano quando comparados com alimentos que possuem uma taxa de desaparecimento da fibra maior em 12 horas de incubação, como é o caso do milho.

Russell (1998) mencionou que rações com alta digestibilidade apresentam geralmente, baixo teor de fibra e alto teor de amido e de lipídios, que proporcionam redução na emissão de metano, pois bactérias que fermentam o amido podem competir com as metanogênicas pelo hidrogênio livre para a produção de propionato. Quando se analisa a emissão de metano e dióxido de carbono de rações mistas totais no Quadro 6 observa-se que novilhos e vacas apresentam uma menor proporção de metano em relação a boi, com ainda uma maior emissão de gás carbônico, o que pode ser explicado pela melhor utilização do amido por estas categorias.

As diferenças numéricas na taxa de desaparecimento da fibra e do amido da casca de soja e da silagem de milho contribuíram para que as produções de metano e de gás carbônico diferissem entre as categorias, uma vez que a proporção de gases está relacionada com o aproveitamento dos componentes da dieta, sendo a digestão dos carboidratos o fator mais importante.

Segundo Gastaldi (2003) tanto o padrão da fermentação ruminal quanto a produção de gás se alteram na dependência da qualidade do volumoso da ração e das inter-relações fisiológicas, podendo não haver modificações quantificáveis na degradação do alimento, sendo este efeito observado no desempenho do animal.

## Conclusões

Com base nos dados obtidos neste trabalho pode-se concluir que as diferenças existentes quanto à porcentagem de metano e gás carbônico no gás total produzido pelas categorias se devem a dois fatores:

1º - características bromatológicas do alimento: onde ingredientes fibrosos e com maior teor de lignina, produziram mais metano do que alimentos com baixa fibra e taxa de fermentação rápida;

2º - características ingestórias: a taxa de ingestão e as taxas de passagem acabam por proporcionar diferenças nas interações

microbianas, ocasionando diferenças de fermentação.

O volume de gás produzido pelas diferentes categorias também variou de acordo com a natureza fibrosa do alimento utilizado, sendo, portanto mais dependente deste do que de características fisiológicas do animal.

### Literatura Citada

- AFRC.1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford, UK.159p.
- Church, D.C. 1993. El Ruminant: fisiologia digestiva y nutrición. Ed. Acribia. Zaragoza. 630p.
- Gastaldi, K.A. 2003. Produção «*in vitro*» de metano, dióxido de carbono e oxigênio utilizando líquido ruminal de bovinos alimentados com diferentes rações. Tese (Doutorado em Produção Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus e Jaboticabal. Unesp.104p.
- Hegarty, R.S. 1999. Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis. Aust. J. Agric. Res.50:1299-1305.
- Hendrix, D.L. 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. Crop Sci. 33(6):1306-1311.
- Howden, S.M., P.J Reyenga. 1999. Methane emissions from Australian livestock: implications of the Kyoto Protocol. Aust. J. Agric. Res. 50:1285-1291.
- Johnson, K.E., D.E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. J. Anim. Sci., 78:2483-2492.
- Kirchgebner, M., W. Windischmuller, H.L. Muller. 1995. Nutritional factors for the quantitative of methane production. In ENGELHARDT, W.V. *et al.* (Eds.) Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction. 8<sup>th</sup> International Symposium on Ruminant Physiology, Proc. P. 333-348.
- Lasseby, K.R, M.J. Ulyatt, R.J. Martin, C.F. Walker, I.D. Shelton 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. Atmospheric Environ.31:2905-2914.
- Lucci, C.S. 1997. Nutrição e manejo de bovinos leiteiros. Ed. Manole, São Paulo, ED. Manole. p.298.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31(3):426-428.
- Moss, A. R. J.P. Jouany, C.J. Newbold 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. Annales de Zootechnie, 49:231-253.
- NRC.1985. Ruminant nitrogen usage. National Academy Press. Washington. 138p.
- O'mara, F. 2004. Greenhouse gas production from dairying: reduction of methane production. Advances in Dairy Technology 16:295-309.
- Ørskov, E. R., I McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci., 92(2):499-503.
- Russell, J.B. 1998 The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production «*in vitro*». J. Anim. Sci.,11:77-83.
- Silva, D.L., A.C. Queiroz. 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG. Ed. UFV, Viçosa, 235p.
- SAS. 1990. SAS/STA<sup>®</sup> User's guide: statistics. 4 ed. Cary, NC: SAS Institute, Inc. 956p.