

Concentração de ácidos graxos voláteis e produção de metano *in vitro* da silagem de milho com adição de glicerina bruta¹

In vitro volatile fatty acids and methane production of corn silage with crude glycerin

Almira Biazon França², Afranio Silva Madeiro³, Mirton José Frota Morenz⁴, Jackson Silva Oliveira⁵,
Fernando César Ferraz Lopes⁶

¹Parte da tese de doutorado do primeiro autor

²Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima - IFRR, Amajari/RR, Brasil. e-mail: almira.franca@ifrr.edu.br

³Professor da Universidade Federal de Roraima, Boa Vista/RR, Brasil

⁴Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG, Brasil

⁵Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG, Brasil

⁶Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG, Brasil

Resumo: Objetivou-se, com o presente trabalho avaliar a concentração de ácidos graxos voláteis e a produção de metano e *in vitro* da silagem de milho aditivada com níveis crescentes de glicerina bruta. Foram avaliadas silagens de planta inteira de milho com adição de glicerina bruta segundo o delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro blocos (períodos de avaliação) e quatro tratamentos (0, 5, 10 e 15% de glicerina bruta). A concentração de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato, butirato) e a produção de metano da silagem de milho com adição de níveis crescentes de glicerina foram determinadas por meio da técnica de fermentação *in vitro*. Foi observado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de inclusão de glicerina bruta na silagem de milho sobre a concentração de acetato e sobre o total de ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos no período de fermentação de zero a seis horas. A proporção acetato:propionato não foi alterada ($P = 0,2578$) na fermentação da silagem pelos níveis de inclusão de glicerina bruta. Em consequência do aumento da concentração de acetato foi observado aumento ($P < 0,05$) da produção de metano (CH_4) na fermentação da silagem com os níveis de adição da glicerina bruta.

Palavras-chave: coproduto, acetato, metano

Abstract: This study aimed to evaluate the *in vitro* volatile fatty acids and methane production of corn silage with crude glycerin. Were evaluated corn silage with adding the crude glycerin according to randomized complete block design with four blocks (trial periods) and four treatments (0, 5, 10 and 15 % crude glycerin). The concentration of volatile fatty acids (acetate, propionate, butyrate) and methane production of the corn silage with increasing levels of glycerin was determined by *in vitro* fermentation technique. Effect ($P > 0.05$) of the levels of crude glycerin inclusion in the corn silage on the concentration of acetate and the total volatile fatty acids (VFA) produced during the fermentation of zero to six hours was observed. The proportion acetate:propionate was unchanged ($P = 0.2578$) in the fermentation of silage by crude glycerin inclusion levels. As a result of the concentration of acetate was observed increase ($P < 0.05$) of methane production (CH_4) in the fermentation of the silage with the addition levels of crude glycerin.

Keywords: acetate, by product, methane

Introdução

Segundo a FAO a pecuária mundial contribui por ano com 18% da emissão dos gases do efeito estufa produzidos, o que é atribuído aos bovinos, bubalinos, ovinos, caprinos, equídeos, suínos e aves. Na agricultura, em particular o processo de fermentação entérica dos ruminantes (principalmente em bovinos e ovinos), produzem entre 21 e 25% do porcentual de metano emitido na atmosfera (Lascano & Cárdenas, 2010), o qual possui potencial de aquecimento global 23 vezes maior que o dióxido de carbono (Solomon et al., 2007). Grande parte das avaliações da fermentação *in vitro* indicam que o glicerol é rapidamente fermentado a propionato, no entanto, as avaliações das taxas de degradação e produção de ácidos graxos voláteis (AGV) são contraditórias. Considerando a relação inversa entre a produção de propionato e

metano, o glicerol possui potencial em reduzir a produção de metano no rúmen. No entanto, poucos trabalhos avaliaram esse efeito do glicerol em reduzir a produção de metano (Lee et al., 2011). Diante do exposto, objetivou-se avaliar a concentração de ácidos graxos voláteis e a produção de metano e *in vitro* da silagem de milho aditivada com níveis crescentes de glicerina bruta.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Gado de Leite, Localizada na cidade de Juiz de Fora – MG. Foram avaliadas silagens de planta inteira de milho aditivadas com níveis crescentes de adição de glicerina bruta (Tabela 1), segundo o delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro blocos (quatro períodos de avaliação de 12 dias cada) e quatro tratamentos (0, 5, 10 e 15% de glicerina bruta, base da matéria natural - MN). A concentração de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e butirato) e a produção de metano da silagem de milho com adição de níveis crescentes de glicerina foram determinadas por meio da técnica de fermentação *in vitro*, em que, aproximadamente, 300 mg de amostra (moída a 1 mm) das silagens foram acondicionadas em duplicata em sacos F57 (ANKON®) e acondicionadas em frascos de vidro (50 mL). Posteriormente foram adicionados 28,2 mL de meio de cultura tamponado sob fluxo de CO₂, e 3,2 mL de líquido ruminal. Os frascos foram vedados e lacrados sobre atmosfera de CO₂ e deixados em sala climatizada a 39°C sob mesa agitadora orbital. Nos tempos 6 e 12 horas de incubação o gás foi coletado dos frascos de incubação com auxílio de uma seringa de vidro e imediatamente armazenados em Equitainer® (Hamilton Research®) devidamente identificado para posterior análise do teor de metano, posteriormente, foram coletados 10 mL do inoculo para posterior determinação das concentrações dos ácidos graxos acetato, propionato e butirato. As concentrações dos ácidos graxos acetato, propionato e butirato foram determinadas segundo metodologia descrita por Wilson (1971), e o teor de metano determinado por meio de cromatografia gasosa em equipamento Agilent Technologies 7820A GC system. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias estudadas por meio de análise de regressão, utilizando-se o teste t ($\alpha=0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR.

Tabela 1. Valor nutritivo das silagens de milho aditivadas com glicerina bruta

Nível de Adição ¹ (%)	Nutriente (% da MS)								
	MS	MM	PB	FDN	FDA	LIG	CHT	NDT	GLI
0	24,5	6,3	6,9	73,7	37,6	5,2	84,1	57,2	0,0
5	27,2	6,0	6,7	66,7	34,0	4,7	82,8	62,5	5,0
10	37,7	6,4	6,3	67,2	21,6	4,6	82,0	63,2	10,8
15	40,0	6,9	5,5	57,1	26,7	3,9	79,4	70,5	19,3

¹0, 5, 10, 15: respectivamente, níveis de adição de glicerina bruta na silagem de milho (base matéria natural, %); MS = matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; LIG = lignina; CHT = carboidratos totais; NDT = nutrientes digestíveis totais; GLI = glicerol

Resultados e Discussão

Foi observado efeito ($P>0,05$) dos níveis de inclusão de glicerina bruta na silagem de milho sobre a concentração de acetato das silagens nos períodos de fermentação de zero a seis horas e seis a 12 horas, e sobre o total de ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos no período de fermentação de zero a seis horas (Tabela 2). O resultado obtido no presente experimento não está de acordo com os observados na literatura para a fermentação *in vitro* do glicerol, em que diferentes autores (Ferraro et al., 2009; El-Nor et al., 2010; Lee et al., 2011) observaram que a fermentação do glicerol leva à maior produção de propionato em detrimento do acetato. Tal diferença pode ser atribuída aos períodos de fermentação avaliados, de zero a seis horas e seis e 12 horas, visto que, os dados da literatura relatam avaliações por um período de 24 horas de fermentação. A proporção acetato:propionato não foi alterada ($P = 0,2578$) na fermentação da silagem pelos níveis de inclusão de glicerina bruta (Tabela 2). No entanto, é possível observar tendência para menor proporção acetato:propionato para as silagens sem adição de glicerina bruta ocorrendo inversão dessa proporção com os níveis de inclusão. Em consequência do aumento da concentração de acetato foi observado aumento ($P<0,05$) da produção de metano (CH₄) na fermentação da silagem com os níveis de adição da glicerina bruta (Tabela 2), em que, entre seis e 12 horas de incubação foi produzido

em média 61,56% do metano total. A baixa produção de metano nos tempos iniciais (0-6 horas) decorre do fato deste período englobar a fase de latência, ou seja, não há metanogênese até que estejam saturados os locais disponíveis para fixação microbiana e estas sintetizam suas estruturas e enzimas (Franco et al., 2013). Contudo, não é possível inferir que o consumo de silagem de milho com glicerina bruta por ruminantes acarretará no aumento da produção de metano entérico, em virtude do efeito associativo entre os ingredientes da dieta fornecida ao animal.

Tabela 2. Concentração de ácidos graxos voláteis e produção de metano *in vitro* das silagens de milho aditivadas com glicerina bruta

Variável	Níveis de adição (%) ¹				Equação	r ²	CV (%)
	0	5	10	15			
0-6 horas							
AGV (μMOL/mL)	5,09	7,29	7,38	7,45	$\hat{Y} = 5,73+0,143X$	0,66	14,22
Ac (μMOL/mL)	2,09	3,34	3,42	3,43	$\hat{Y} = 2,50+0,082X$	0,65	17,91
Pr (μMOL/mL)	2,24	3,11	3,11	3,17	$\hat{Y} = 2,91$	-	16,56
Bu (μMOL/mL)	0,76	0,83	0,85	0,85	$\hat{Y} = 0,82$	-	25,49
Ac/Pr	0,95	1,07	1,11	1,13	$\hat{Y} = 1,07$	-	22,64
CH ₄ (mL g ⁻¹ MS)	1,38	2,76	2,78	3,42	$\hat{Y} = 1,66+0,123G$	0,85	30,89
6-12 horas							
AGV (μMOL/mL)	6,03	7,09	7,50	7,55	$\hat{Y} = 7,04$	-	12,66
Ac (μMOL/mL)	2,57	3,59	3,80	3,82	$\hat{Y} = 2,85+0,080X$	0,75	16,81
Pr (μMOL/mL)	2,58	2,60	2,79	2,81	$\hat{Y} = 2,69$	-	19,09
Bu (μMOL/mL)	0,89	0,91	0,92	0,92	$\hat{Y} = 0,91$	-	15,35
Ac/Pr	1,00	1,37	1,44	1,39	$\hat{Y} = 1,30$	-	22,57
CH ₄ (mL g ⁻¹ MS)	2,18	4,30	4,83	5,30	$\hat{Y} = 2,67+0,80G$	0,86	8,30

¹0, 5, 10, 15: respectivamente, níveis de adição de glicerina bruta na silagem de milho (base matéria seca, %); AGV = ácido graxos voláteis; Ac = acetato; Pr = propionato; Bu = butirato; CH₄ = metano

Conclusões

A adição de glicerina bruta como aditivo na ensilagem da planta inteira do milho aumentou a concentração *in vitro* do acetato com consequente aumento da produção de metano.

Literatura citada

- EL-NOR, A.S.; ABUGHAZALEH, A.A.; POTU, R.B.; HASTINGS, D.; KHATTAB, M.S.A. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.162, p.99-105, 2010.
- FERRARO, S.M.; MENDONZA, G.D.; MIRANDA, L.A.; GUTIERREZA, C.G. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. **Animal Feed Science and Technology**, v.154, p.112-118, 2009.
- LASCANO, C.E.; CÁRDENAS, E. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.175-182, 2010 (supl. especial).
- LEE, SE-Y.; LEE, SANG-M.; CHO, YOUNG-B.; KAM, DONG-K.; LEE, SANG-C.; KIM, CHANG-H.; SEO, S. Glycerol as feed supplement for ruminants: *In vitro* fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, n.23 p.269-270, 2011.
- SOLOMON, S.; QIN, D.; MANNING, M. **Report of the intergovernmental panel on climate change**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- WILSON, R.K. **A rapid accurate method for measuring volatile fatty acids lactic acid in silage**. Research Report. Dublin, Ireland: Agricultural Institute Dunsinea Research Centre, 1971. 7p.