

## **PRODUÇÃO IN VITRO DE METANO E DIÓXIDO DE CARBONO A PARTIR DOS PRINCIPAIS VOLUMOSOS E COPRODUTOS DE BIODIESEL PARA RUMINANTES**

**Heloisa Carneiro<sup>1</sup> ; Lo-Ruama Barbosa Gomes<sup>2</sup>; Marcio Roberto Silva<sup>3</sup>**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar as perdas para o meio ambiente da fermentação entérica *in vitro* quanto à produção de gases: metano (CH<sub>4</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Dez coprodutos gerados na cadeia produtiva de biodiesel como o algodão, canola, girassol, girassol-preto, glicerina, mamona, moringa, nabo forrageiro, pinhão-manso e soja foram testados através da técnica semiautomática da produção de gases usando como delineamento estatístico o fatorial: quatro volumosos (braquiária, capim elefante, silagem de milho e de cana-de açúcar), quatro diferentes níveis (0, 30, 50 e 70%) e dez principais coprodutos da cadeia de biodiesel para serem utilizados na alimentação de ruminantes. Os coprodutos da moringa, algodão, pinhão-manso e mamona independentes do volumoso utilizado foram os que mais reduziram a emissão de gases gerados da fermentação entérica causadores do efeito estufa e das perdas energéticas do animal para o meio ambiente. O volumoso capim elefante seguido da braquiária foram os que mais contribuíram para a redução dos impactos ambientais causados pelas emissões de metano e dióxido de carbono. De acordo com os resultados obtidos, todas as variáveis e suas interações apresentaram efeitos significativos (P<0,001) para as respostas de produção dos dois gases, com exceção dos níveis de coprodutos para a variável resposta de produção do dióxido de carbono. Estes resultados *in vitro* indicam que alguns dos coprodutos mostraram-se promissores para garantir a eficiência alimentar e a mitigação das perdas energéticas com redução dos impactos causados ao meio ambiente, porém estes resultados deverão ser confirmados *in vivo*.

**PALAVRAS-CHAVE:** manejo alimentar; CO<sub>2</sub>; CH<sub>4</sub>

### **Introdução**

O No Brasil concentra-se o maior comércio de rebanho bovino sendo estimada em 218 milhões de cabeças em 2016 (IBGE, 2017). O setor leiteiro tem um importante papel na ordem econômica e social do agronegócio brasileiro, com participação significativa da pecuária no PIB. Além disso, o Brasil está entre os maiores consumidores e produtores de biodiesel do mundo. De acordo com o Ministério das Minas e Energia (2018) a produção nacional chegou a 452 milhões de litros em março de 2018 registrando um acréscimo de 32% quando comparado a 2016. Por outro lado, a pecuária é considerada prejudicial ao meio ambiente, por contribuir

com as emissões de gases causadores do efeito estufa, através da fermentação entérica e do manejo dos dejetos dos animais (MEDEIROS, 2014). O impacto do CH<sub>4</sub> é 23 a 25 vezes maior que o CO<sub>2</sub>, e dura na atmosfera de 9 a 15 anos, e sua taxa anual de crescimento é de 7,0%, sendo esses gases ligados ao aquecimento global (IPCC, 2006). Os aumentos na produção desses gases se dão devido a má qualidade das pastagens, bem como o tipo de carboidrato fermentado, o sistema digestivo e a quantidade de alimentos ingeridos (BERCHIELLI et al., 2012).

Segundo Medeiros (2014), a fermentação do alimento ingerido ocorre no rúmen, através do processo anaeróbico, realizado pela população

1. Titulado do autor – Instituição, Cidade, Estado, email. 2. Titulado do autor – Instituição, Cidade, Estado, email

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [heloisa.carneiro@embrapa.br](mailto:heloisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-

microbiana ruminal. Os carboidratos celulolíticos são transformados em ácidos graxos de cadeia curta, sendo utilizado pelo animal como fonte de energia. As bactérias metanogênicas que estão no rúmen, conseguem energia para seu crescimento ao usar H<sub>2</sub> para diminuir CO<sub>2</sub> e formar CH<sub>4</sub>, o qual é eructado para a atmosfera (COTTLE et al., 2011). Diante desse exposto, pesquisadores estão desenvolvendo tecnologias para diminuir a emissão desses gases para o meio ambiente. Através do manejo alimentar, manipulação ruminal ou suplementação com monensina, lipídios, ácidos orgânicos e compostos de plantas, é possível aumentar a eficiência produtiva e contribuir para a mitigação dos efeitos negativos da pecuária para o aquecimento global. Por outro lado, milhões de toneladas de coprodutos da cadeia de biodiesel são lançados no meio ambiente, por isso à comunidade científica visa o aproveitamento deles na alimentação de animais ruminantes (BERCHIELLI et al., 2012; MEDEIROS, 2014).

Os coprodutos gerados na cadeia produtiva de biodiesel podem apresentar características proteicas de excelente qualidade para a alimentação de ruminantes. Porém de novas técnicas desenvolvidas para utilização de vários coprodutos na alimentação animal ainda são pouco conhecidas. Portanto, é necessária avaliar os efeitos deletérios dos coprodutos, devido a presença de metabólitos bioativos e investigar os valores nutricionais deles, com o intuito de sua utilização na alimentação animal. A meta está na redução dos custos de produção por meio da substituição desses itens na dieta dos ruminantes, visando aperfeiçoar os lucros da atividade pecuária e aumentar o desempenho dos ruminantes (ABDALLA et al., 2008; MEDEIROS, 2014).

A técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases apresenta amplo potencial em simular a cinética de fermentação ruminal dos alimentos, além de avaliar a taxa e a

extensão de degradação de suas frações. Nessa técnica a quantificação dos resíduos pode ser realizada em diferentes momentos, além disso, dispensa o uso de muitos animais, sendo eticamente adequada (MEDEIROS, 2014). Considerando os aspectos relatados acima o objetivo deste estudo foi analisar a mitigação da produção de gases e das perdas energéticas, a partir da técnica *in vitro* de quatro volumosos em quatro diferentes níveis de substituições acrescidos de dez diferentes coprodutos de biodiesel na alimentação de ruminantes.

### Metodologia

O experimento foi realizado em 2012, sendo conduzido no Campo Experimental de Coronel Pacheco, MG, de propriedade da Embrapa Gado de Leite - CNPGL, localizado na Zona da Mata de Minas Gerais, cujas coordenadas são 21° 33' 22 de latitude Sul e 43° 06' 15 de longitude Oeste, numa altitude de 414 metros. O clima da localidade é do tipo CwA (mesotérmico), conforme a classificação de Köppen, sendo a precipitação média anual em torno de 1.600 mm. As médias da temperatura anual e da umidade relativa são de 22,5 °C e 77%, respectivamente. O material utilizado no estudo foram amostras de aproximadamente 300 g dos coprodutos, decorrentes do processamento da extração do óleo vegetal. Elas foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG, para análises dos gases.

Foram formuladas dietas para a técnica de incubação *in vitro*, sendo que os substratos utilizados foram: braquiária, cana-de-açúcar, capim elefante, silagem de milho e tortas dos nove coprodutos e o óleo da glicerina oriundos da cadeia de biodiesel, após o processo de extração do óleo: algodão, canola, girassol, girassol-preto, glicerina, mamona, moringa, nabo forrageiro, pinhão-manso e soja nas seguintes proporções: 100/0, 70/30, 50/50 e 30/70. Logo em seguida pesaram 0,5 g de matéria seca da dieta para um saco de ANKOM<sup>®</sup> (F57) com seis

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [heloisa.carneiro@embrapa.br](mailto:heloisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-

repetições/tratamento, selados e incluídos dentro dos frascos de vidro de 50 mL.

O inóculo para realizar a incubação foi extraído de três vacas da raça Holandesa, com média de 600 kg, fistulada no rúmen. O líquido ruminal foi transferido para garrafas térmicas aquecidas previamente com água a 39 °C e levado em seguida ao laboratório, onde foi filtrado em duas camadas de gaze e homogeneizado, ficando em banho-maria a 39 °C com saturação de CO<sub>2</sub> até serem acrescentado às demais soluções (tampão, macro e microminerais, solução de resazurina e meio B) para o meio de cultura. Em seguida foi utilizado o líquido ruminal e a solução tampão em uma proporção de 5:1. O inóculo (30 mL) foi colocado nos frascos de incubação, após serem lacrados e em seguida incubados a 39 °C, com agitação.

Os perfis acumulativos de produção de gases *in vitro* de cada frasco foi medido às 3, 6, 12, 24 e 48 horas após a incubação, usando um aparelho de deslocamento de água graduado em mL. Depois da última medição da produção de gás, às 48 horas após incubação, foi realizada a coleta e o armazenamento do gás, em frasco cor âmbar de 20 mL, para posterior determinação das concentrações de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. O conteúdo de cada frasco foi extraído por meio de seringa plástica de 30 mL e injetado no cromatógrafo. O percentual de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foi definido a partir da cromatografia gasosa (PRIMAVESI et al., 2002). O percentual da produção de gases foi calculado a partir do volume correspondente à produção acumulada de gás em 48 horas depois do processo fermentativo. Logo em seguida os valores obtidos foram corrigidos para g/MS(Matéria seca). Depois de 48 horas da incubação, os sacos de ANKOM<sup>®</sup> com os resíduos foram retirados e colocados em gelo, para interromper a fermentação, após esse processo foram lavados com água abundante e secos em estufa a 55 °C durante 48 horas. Os dados obtidos da degradabilidade da matéria seca (DMS) foram adquiridos pela

diferença de massa entre a matéria seca da amostra antes e após a incubação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 10 x 4, com os fatores constituídos pelos volumosos, coprodutos e os níveis de substituição dos coprodutos. As variáveis estatísticas desse estudo foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, por meio do software SISVAR (1996).

### Resultados e Discussões

A partir dos resultados analisados na Tabela 1, observou-se que ocorreu uma interação tripla dos fatores volumosos, coprodutos e concentrações sobre a emissão de dióxido de carbono. O coeficiente de variação (CV) foi equivalente a 20,54%. De acordo com os resultados obtidos na análise de variância do dióxido de carbono, todas as variáveis e suas interações apresentaram efeito significativo de (P<0,001) com exceção dos níveis de concentração do coproduto (P>0,05). De forma geral, o tipo de volumoso impactou na produção de CO<sub>2</sub> pelos diferentes coprodutos, sendo que o capim elefante seguido da Braquiária resultaram em menores taxas de produção deste gás.

Para braquiária, os coprodutos que apresentaram melhores desempenhos na diminuição da emissão do gás CO<sub>2</sub> no nível de 30% foram: moringa, mamona, nabo forrageiro, pinhão-manso, algodão e girassol. Eles são os coprodutos que na tabela de média apresentaram o melhor desempenho nos níveis nas linhas e colunas com resultados a1 e a2. Já para os níveis de 50% e 70% a moringa, mamona, nabo forrageiro, pinhão-manso e algodão foram aquelas que se destacaram.

Para a silagem de cana-de-açúcar, os coprodutos que proporcionaram melhores desempenhos na redução da emissão do gás CO<sub>2</sub> ao nível 30% foram: pinhão-manso, algodão, girassol, mamona, nabo forrageiro e a soja. No nível de 50% pinhão-manso, algodão, girassol e

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [heloisa.carneiro@embrapa.br](mailto:heloisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-

mamona e no nível de 70% de substituição pelo concentrado pinhão-manso, algodão e moringa.

Para capim elefante tanto na Tabela 1 para CO<sub>2</sub> quanto na Tabela 2 para CH<sub>4</sub> os coprodutos que exibiram melhores desempenhos para redução da emissão de gases no nível de 30% foram moringa, mamona, nabo forrageiro, soja, pinhão-manso, canola, algodão, girassol, girassol preto e glicerina. Já no nível de 50% e 70% de substituição os coprodutos que se destacaram foram moringa, mamona, nabo forrageiro, soja, pinhão-manso, canola, algodão, girassol e girassol preto.

Tabela 1 - Análise de variância CO<sub>2</sub>

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr> Fc
Volumoso(V)	3	206992.	68997.5	1798.	0.0
Coproduto(C)	9	35332.7	3925.8	102	0.0
Nível(N)	3	211.6	70.55	1.84	0.14
V*C	27	17657.8	653.9	17.0	0.0
V*N	9	10088.6	1120.9	29.2	0.0
C*N	27	16770.7	621.1	16.2	
V*C*N*	27	16770.7	219.2	5.7	0.0
erro	800	30685.2	38.3		
Total	959	335498.			
CV(%) =		20.5			

A média geral foi 30,14 e o número de observações foram 960.

Para silagem de milho os coprodutos que exibiram melhores desempenhos na redução da emissão do gás CO<sub>2</sub> no nível de 30% foram: pinhão-manso, moringa, nabo forrageiro, algodão, girassol, girassol preto e glicerina, e em 50% pinhão-manso, moringa e mamona e nos níveis de 70% pinhão-manso e mamona.

Tabela 2 - Análise de variância CH<sub>4</sub>

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr> Fc
Volumoso(V)	3	10512.4	3504.1	1780.	0.0
Coproduto(C)	9	1967.7	218.6	111.	0.0
Nível(N)	3	602.3	200.7	102.	0.0
V*C	27	799.3	29.60	15.0	0.0
V*N	9	912.6	101.40	51.5	0.0
C*N	27	984.8	36.47	18.5	0.0
V*C*N	81	907.96	11.20	18.5	0.0
erro	800	1574.3	1.96		

Total 959 18261.6

CV(%) = 23.8

A média geral foi 5.89 e o número de observações foram 960.

Nos resultados apresentados na Tabela 2 pode-se observar que ocorreu uma interação entre todos os fatores: volumosos, coproduto e concentrações sobre a emissão de metano. O coeficiente de variação (CV) foi equivalente a 23,8%. De forma geral todas as variáveis e suas interações foram significativas ( $p < 0,001$ ), e o tipo de volumoso impactou na produção de CH<sub>4</sub> pelos diferentes coprodutos. O capim elefante seguido da braquiária resultaram em menores taxas de produção deste gás. Já para as análises com braquiária, os coprodutos que apresentaram melhores desempenhos na diminuição da emissão do gás CH<sub>4</sub> no nível 30% foram: moringa, mamona, pinhão-manso, nabo forrageiro, algodão e girassol, e ao nível de 50% de substituição foram moringa, mamona e pinhão-manso e no nível de 70% foram moringa, mamona e nabo forrageiro.

Para o volumoso cana-de-açúcar, os coprodutos que apresentaram melhores desempenhos na redução da emissão de metano nos níveis de substituição de 30% foram moringa, nabo forrageiro, pinhão-manso, algodão, mamona, soja e girassol preto, em 50% moringa, nabo forrageiro, pinhão-manso, algodão e girassol, e no nível de 70% de substituição: moringa.

Para silagem de milho os coprodutos que apresentaram os melhores desempenhos na redução na emissão do metano no nível de substituição de 30% foram moringa, pinhão-manso, nabo forrageiro e algodão, em 50% a moringa e em 70% foram: moringa, pinhão-manso e mamona.

Nas Figuras 1, 2, 3 e 4, todas na mesma escala, podem-se observar os efeitos da adição de cada um dos coprodutos em substituição aos quatro diferentes volumosos, mostrando suas tendências em apresentar maiores ou menores eficiências no processo de mitigação dos gases entéricos (metano e dióxido de carbono). O capim elefante seguido pela braquiária foram os volumosos mais

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [helioisa.carneiro@embrapa.br](mailto:helioisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-

eficientes no processo de substituição do coproduto na dieta. Os coprodutos mais eficientes foram: moringa, algodão, pinhão-manso e mamona

### Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a técnica *in vitro* de produção de gás por fermentação entérica é uma grande ferramenta de referência que contribui para futuros projetos, reduzindo custos e mão de obra, permitindo analisar alimentos disponíveis rapidamente e com maior eficiência. Os volumosos: capim-elefante e braquiária quando em combinação com os coprodutos moringa, algodão, pinhão-manso e mamona, apresentaram os resultados mais promissores para a redução da produção dos gases CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>.

### Referências

ABDALLA, et al 2008. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. R. Bras. Zootec., Viçosa, v. 37, n. spe, p. 260-268, July 2008.

BERCHIELLI, T.T., J.D MESSANA., R.C CANESIN. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 13:954 – 968, 2012.

COTTLE, D.J., J.V NOLAN., S.G WIEDEMANN. Ruminant enteric methane mitigation: a review. Animal Production Science, 51:491-514, 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Pecuária Municipal, 28/09/2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>> Acesso em: 02/08/ 2018.

IPCC. The SRES emission scenarios: the IPCC Data Distribution Centre, 2006. Disponível em: <<http://sedac.ciesin.columbia.edu/ddc/sres/index.html>>. Acesso em: 14/06/ 2018.

MEDEIROS, F. F. - **Avaliação in vitro dos coprodutos de biodiesel em substituição a silagem de milho.** / Fabíola Franklin de Medeiros. – Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade

Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2014. 44f.

MME- Produção de biodiesel atinge 452 milhões de litros, maior volume nos últimos dez anos - Ministério Minas e Energia(MME) - Publicação: 22/05/2018 Disponível em: <[http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial/outras-noticias/-asset\\_publisher/32hLrOzMKwWb/content/producao-de-biodiesel-atinge-452-milhoes-de-litros-maior-volume-nos-ultimos-dez-anos.>](http://www.mme.gov.br/web/guest/pagina-inicial/outras-noticias/-asset_publisher/32hLrOzMKwWb/content/producao-de-biodiesel-atinge-452-milhoes-de-litros-maior-volume-nos-ultimos-dez-anos.>) Acesso 12/06/2018

PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.T.S.; PEDREIRA, M.S.; LIMA, M.A.; BERCHIELLI, T.T.; SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa - MG: UFV, 2002. 235p.

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [heloisa.carneiro@embrapa.br](mailto:heloisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-

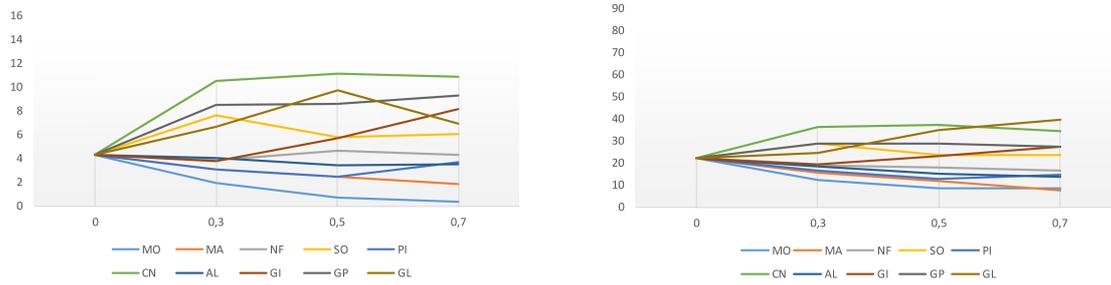


Figura 1- Resultados obtidos dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> na braquiária

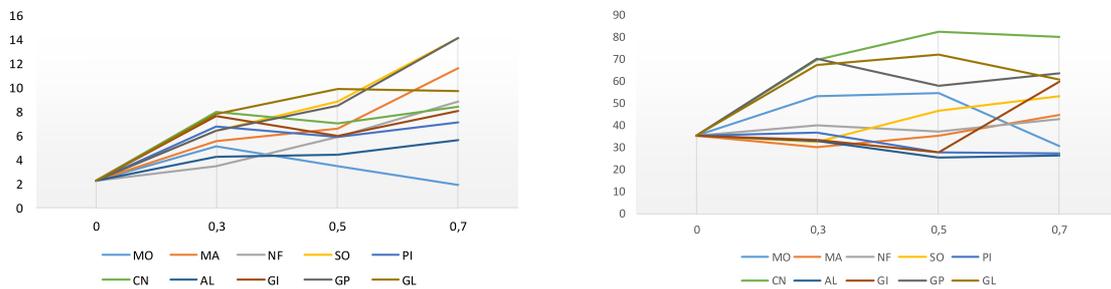


Figura 2- Resultados obtidos dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> na cana-de-açúcar

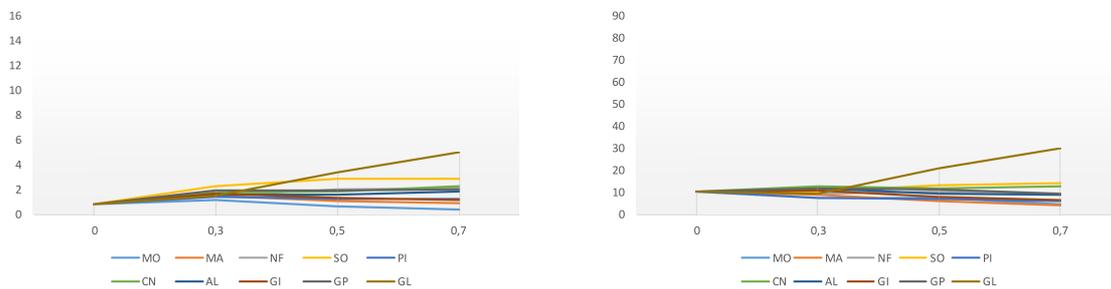


Figura 3- Resultados obtidos dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> no capim elefante

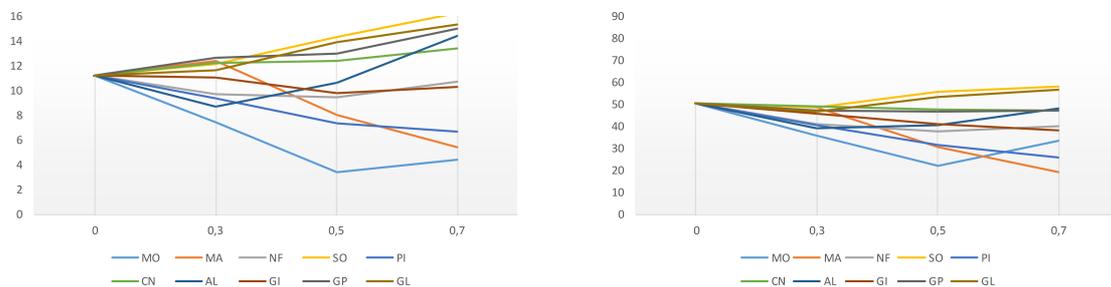


Figura 4- Resultados obtidos dos gases CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> na silagem de milho

MO – Moringa, MA - Mamona, NF – Nabo Forrageiro, SO- Soja, PI- Pinhão-manso, CN- Canola, AL-Algodão, GI- Girassol, GP-Girassol Preto e GL-Glicerina

<sup>1,3</sup> Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, E-mail: [heloisa.carneiro@embrapa.br](mailto:heloisa.carneiro@embrapa.br)

<sup>2</sup> Estudante de graduação em Engenharia Ambiental na Rede Ensino Doctum JF-