

UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS CAMPUS DE ARAGUAÍNA CURSO DE ZOOTECNIA

THAYS MATIAS DA SILVA PINTO

FONTES DE GORDURA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO NA DIETA DE BOVINOS: FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO

ARAGUAÍNA (TO) 2022

THAYS MATIAS DA SILVA PINTO

FONTES DE GORDURA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO NA DIETA DE BOVINOS: FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO

Monografia de Conclusão de Curso apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Araguaína para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador (a): Fabrícia Rocha Chaves Miotto

ARAGUAÍNA (TO) 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

P659f Pinto, Thays Matias da Silva .

FONTES DE GORDURA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO NA DIETA DE BOVINOS: FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO. / Thays Matias da Silva Pinto. – Araguaína, TO, 2022. 42 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins — Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Zootecnia, 2022.

Orientadora : Fabrícia Rocha Chaves Miotto Coorientador: Luciano Fernandes Sousa

 Lipídeos. 2. Óleo essencial . 3. Bovinos. 4. Produção de gases in vitro. I. Título

CDD 636

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automatica de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

THAYS MATIAS DA SILVA PINTO

FONTES DE GORDURA E ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO NA DIETA DE BOVINOS: FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO

Monografia de Conclusão de Curso apresentado à UFNT — Universidade Federal do Norte do Tocantins — Campus Universitário de Araguaína, Curso de Zootecnia, foi avaliado para a obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia e aprovado em sua forma final pelo Orientador (a) e pela Banca Examinadora.

Data de Aprovação:15/07/2022

Banca examinadora:

Profa. Dra. Fabrícia Rocha Chaves Miotto Orientadora, UFNT

Prof. Dr. Luciano Fernandes Sousa, Examinador, UFNT

houiza de Mazaret C. da Silva

MSc. Luiza de Nazaré Carneiro da Silva, Examinadora, UFNT

Dedico este trabalho a minha vó, Terezinha, uma mulher forte e dona do melhor abraço. Lá no céu, tem alguém que amo eternamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que mediante as dificuldades e dias de glória, sempre me protegeu como a menina dos teus olhos e cuidou de mim através de tantas pessoas.

A minha família, minha mãe (Maria), irmã (Thalita), pai (Jonas), vó (Terezinha), vô (José) e padrasto (Valdinar), que me apoiaram e incentivaram nas decisões da vida, também por ser fonte de carinho, sabedoria e dedicação.

Meus amigos que ajudaram diretamente e indiretamente nessa trajetória, principalmente, ao Kaynan Campos, Jorge Brito, Loyse Alves, Carolina Merlin, Thayná Murta e Josué que compartilharam momentos incríveis comigo.

A minha orientadora, Dra. Fabrícia Miotto, que aceitou me orientar e ensinar, permitindo que eu desenvolvesse esse trabalho através de seu apoio e disponibilidade.

Aos meus amigos, colegas e professores do grupo de estudos do campus para o campo, que desde o início da graduação me assistiu com à sua experiência e conhecimento.

A Luíza Carneiro, Murilo Exaltação, Hyda, Dayan, Gabriela Coelho, Tays Feitosa, João Pedro Marinho, Amanda Vitória, Laysa, Lívia, Daniel Henrique, Mirelle Magalhães e a todos que participaram da pesquisa, através de seu apoio, disposição e colaboração, tornando possível a realização da mesma.

Ao professor Dr. Luciano Fernandes Sousa, pelo ensinamento, colaboração e disposição durante todo o experimento.

Aos técnicos de laboratório, Josimar e Adriano, que me auxiliaram e compartilharam comigo suas experiências e conhecimento durante as análises laboratoriais.

Ao grupo PET Zootecnia, na pessoa da tutora Dra. Ana Cláudia Neiva, que sempre nos incentivou a conquistar o mundo, e a criar metas e se organizar para alcançar nossos objetivos.

Aos professores do curso de zootecnia, na pessoa do professor Dr. Danilo Vargas, que ajudaram na minha formação e compartilharam seus conhecimentos ao longo dos desafios de ensino do país.

E claro, a Universidade Federal do Norte do Tocantins, na pessoa do seu reitor Pro Tempore Airton Sieben, que tornou possível a realização de um sonho.

A todos, obrigada por contribuir nessa etapa da minha vida, sou grata!!

RESUMO

A suplementação lipídica e o uso de óleos essenciais como aditivos em dietas para bovinos são uma alternativa para aumentar a densidade energética da dieta e reduzir a produção de gases pelo ruminante. Dessa forma, o presente estudo objetivou-se avaliar in vitro o efeito do uso de gordura e do óleo essencial de orégano na dieta de bovinos, para melhor a fermentação ruminal e mitigar a produção de metano. As dietas avaliadas foram compostas por concentrado, correspondendo a 90% da matéria seca, contendo fubá de milho, a respectiva fonte de gordura, mais 10% da MS de volumoso, silagem capim Megathyrsus maximus cv. Mombaça. O delineamento experimental casualizado, continham seis tratamentos em um arranjo fatorial (3x2), em que utilizou três dietas: padrão, com gordura protegida e com óleo de soja, com a inclusão ou não do óleo essencial de orégano. Para a coleta dos inóculos ruminais foram utilizados três bovinos, que por uma sonda esofagiana foi retirado o inóculo e levado em seguida para o laboratório. As medições das produções de gases foram realizadas nos tempos de 3; 6; 9; 12; 15; 19; 24; 30; 36; 48; 72 e 96 horas após o início da incubação in vitro. A mensuração de metano foi através da porção de 5 mL de gás coletado, injetado em um analisador de gases portátil TEC-GA21BIO®. Quando observado a cinética de fermentação ruminal, verificou maior produção de gases com o tratamento com gordura protegida e inclusão de óleo de orégano, e efeito contrário nos tratamentos padrão apenas com 90% de concentrado e 10% volumoso. A produção de gases ruminais foi superior em tratamentos utilizando gordura protegida e óleo essencial de orégano. E a degradação de matéria seca e orgânica apresentam resultados superiores para tratamentos utilizando gordura protegida. A produção de metano foi menor nos tratamentos com inclusão de óleo essencial de orégano. De modo, as melhores respostas obtiveram-se com as dietas com inclusão de óleo essencial de orégano.

Palavras-Chave: Bovinos; in vitro; Lipídeos; Produção de gases; Óleo essencial.

ABSTRACT

Lipid supplementation and the use of essential oils as additives in diets for cattle are an alternative to increase the energy density of the diet and reduce the production of gases by the ruminant. Thus, the present study aimed to evaluate in vitro the effect of using oregano fat and essential oil in bovine diets to improve rumen fermentation and mitigate methane production. The evaluated diets were composed of concentrate, corresponding to 90% of the dry matter, containing cornmeal, the respective source of fat, plus 10% of the roughage DM, Megathyrsus maximus cv. Mombasa. The randomized experimental design contained six treatments in a factorial arrangement (3x2), in which three diets were used: standard, with protected fat and with soybean oil, with the inclusion or not of oregano essential oil. Three cattle were used to collect the ruminal inoculum. The inoculum was removed using an esophageal tube and then taken to the laboratory. Measurements of gas production were performed at times of 3; 6; 9; 12; 15; 19; 24; 30; 36; 48; 72 and 96 hours after the start of in vitro incubation. The measurement of methane was through the 5 mL portion of collected gas, injected into a TEC-GA21BIO® portable gas analyzer. When the ruminal fermentation kinetics were observed, there was a greater production of gases with the treatment with protected fat and the inclusion of oregano oil, and the opposite effect in the standard treatments with only 90% concentrate and 10% forage. Ruminal gas production was higher in treatments using protected fat and oregano essential oil. And the degradation of dry and organic matter present superior results for treatments using protected fat. Methane production was lower in treatments with oregano essential oil inclusion. Thus, the best responses were obtained with diets with the inclusion of oregano essential oil.

Key words: Cattle; in vitro; lipids; Gas production; Essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Curva da produção cumulativa	a de gases em função dos tempos de
incubação	23
Figura 2. Curva da produção cumulativa de	gases em função da inclusão ou não de
OE	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição bromatológica dos ingredientes experimentais	18
Tabela 2- Proporção de ingredientes	18
Tabela 3- Equações da produção acumulativa de gases (PCG), em mL/g de MS	de
dietas com adição de gordura	22
Tabela 4- Parâmetros da cinética de fermentação ruminal in vitro de dietas co	om
diferentes aditivos utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva	24
Tabela 5- Degradação da matéria seca (DMS), orgânica (DMO) e metano	26

LISTA DE SIGLAS

DMS - Degradação da Matéria Seca

DMO - Degradação da Matéria Orgânica

CCA - Centro de Ciências Agrárias

CEE - Consumo de Extrato Etéreo

CH4 - Metano

CMS - Consumo da Matéria Seca

DBC - Delineamento Experimental em Bloco Casualizado

EE - Extrato Etéreo

FDN - Fibra em Detergente Neutro

MM - Matéria Mineral

MO - Matéria Orgânica

MS - Matéria Seca

OE - Óleo Essencial

OEO - Óleo Essencial de Orégano

PB - Proteína Bruta

PPGIZT - Programa de Pós-Graduação Integrado de Zootecnia nos Trópicos

PCG - Equações da produção acumulativa de gases

UFNT - Universidade Federal do Norte do Tocantins

UFT- Universidade Federal do Tocantins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1	Caracterização dos lipídeos	12
3.2	Digestão e absorção de lipídeos	12
3.3	Suplementação lipídica: benefícios e limitações	14
3.4	Uso de óleos vegetais	15
3.5	Uso de Óleos essenciais	15
4	MATERIAIS E MÉTODOS	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
6	CONCLUSÕES	27
REFI	ÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1 INTRODUÇÃO

Uma tendência atual nos confinamentos é utilizar lipídeos nas dietas de bovinos, principalmente, por aumentar a energia da dieta, sem a necessidade de elevação do consumo de matéria seca (DIAS et al., 2009; VARGAS et al., 2002).

Além disso, os lipídeos dietéticos oferecem diversas vantagens, uma delas é conseguir modificar a fermentação ruminal, podendo atuar no montante da produção de gases como o metano (MACHMÜLLER ET AL.,1998; MOHAMMED et al., 2004; PEDREIRA, 2004). Outra utilidade da suplementação lipídica é inibição da produção de amônia (VAN NEVEL; DEMEYER, 1988). Além disso, essa suplementação pode também reduzir a produção de calor após o consumo da ração e melhorar a conversão alimentar de animais criados em regiões quentes (SMITH et al.,1978; LOPEZ E LOPEZ., 2007).

Scollan et at. (2017) destaca também que a inclusão de lipídeos na dieta de ruminantes, podem gerar oportunidades para melhorar a composição lipídica dos produtos cárneos, aumentando os níveis de ácido linoleico (18:2 *n*-6) e ácido linolênico (18:2 *n*-3). Contudo, essa suplementação lipídica é limitada, devido às estruturas lipídicas serem modificadas por microrganismos ruminais, nos processos naturais de lipólise e biohidrogenação, ambos dependentes dos níveis e fontes de gordura (MESSANA, 2012; MOATE et al., 2004).

Deste modo, a inclusão de lipídeos em excesso na alimentação dos ruminantes tem influência direta na digestão da fibra e crescimento microbiano. Isso porque, os lipídeos formam uma barreira física na partícula, impedindo o acesso dos microrganismos na mesma (JENKINS, 1993; VALINOTE et al., 2005).

Isto sugere, Palmquist & Mattos (2006) propor níveis acima de 5% de extrato etéreo na matéria seca, dado que reduz consumo do animal, ou pelo enchimento ruminal, ou pela capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos. Logo, os níveis de suplementação lipídica recomendados por Kozloski (2009), não devem ultrapassar 6-7% ao fornecer óleos nas dietas, pois valores superiores podem afetar o desempenho animal.

Diante desses avanços de tecnologias na nutrição animal, compreende-se a importância do uso de outros compostos que viabilizem melhorias no manejo alimentar associados a efeitos positivos sobre o desempenho animal (CARVALHO et al., 2021). Dentre as alternativas, os óleos essenciais (OEs) são eficientes como aditivos por possuírem princípios ativos que substituem antibióticos e ionóforos, já que

o uso desses compostos é alvo de críticas socias por causar resíduo na carne e proliferação de super bactérias (TORRES et al., 2021; RIVAROLI et al., 2017).

Os OEs são uma opção porque possui diferentes modos de ação que dificultam possíveis surgimentos da resistência bacteriana e por modular a fermentação ruminal, atuando na mitigação de metano. Além de ter efeitos positivos nas proporções de propionato ruminal e desviar proteínas para o intestino do animal, de forma que melhora o desempenho animal (CUTRIM et al., 2019; TORRES et al., 2021). A hipótese deste trabalho é que adição de lipídeos e o uso de óleos essenciais como aditivos na dieta de ruminantes confinados reduz a emissão de gás metano sem prejudicar a degradação da dieta e produção de gases.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do uso de diferentes fontes de gordura e o uso de óleo essencial de orégano na dieta de bovinos, pela técnica *in vitro* de produção de gases sobre a produção total de gases e metano e na degradabilidade da dieta de bovinos de corte.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar a produção de gases in vitro utilizando-se como fontes de gordura o óleo de soja e a gordura protegida em dietas de terminação de bovinos de cortes.
- Avaliar o efeito da adição de óleo essencial de orégano na dieta de bovinos de corte sobre a produção de metano e degradabilidade de matéria seca e matéria orgânica.
- Mensurar o efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de bovinos de corte sobre a produção de metano.
- Determinar a degradabilidade da matéria seca da dieta sob o uso de fonte de gordura;
- Testar a interação entre o óleo essencial de orégano e as dietas sobre a produção de gases totais, produção de metano e degradabilidade da matéria seca e orgânica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterização dos lipídeos

Os lipídeos são macromoléculas hidrofóbicas, compostas de carbono, hidrogênio e oxigênio (ANDRIGUETTO, 1994) e constituem a principal reserva energética, de modo que rende o dobro de energia quando comparada aos carboidratos e proteínas (DAVIS,1993).

É empregado em animais para regulação térmica, percursores de hormônios (LEHNINGER, 2014), aumentar a capacidade de absorção das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e disponibilizar reservas de ácidos graxos essenciais importantes para regulação do metabolismo e depósitos em tecidos (BERCHIELLI, 2006).

Na dieta de ruminantes os lipídeos encontrados são os galactolipídios e fosfolipídios presentes em forrageiras (KOZLOSKI, 2011) e principalmente, o triacilglicerol, constituído a partir da união de três ácidos graxos ligado a uma molécula de glicerol (LEHNINGER, 2014) e presente abundantemente em 98% da gordura de grãos e sementes (JORGE, 2009; BRANDÃO, 2005).

E dentre as classes de lipídeos, a principal são as de ácidos graxos, classificados em cadeias saturadas que não contêm ligações duplas e insaturadas que contêm uma ou mais ligações duplas (LEHNINGER, 2014). Essas ligações têm ação direta no metabolismo ruminal, fundamentais para caracterização da gordura fornecida aos animais (PALMQUIST e MATOS, 2006).

3.2 Digestão e absorção de lipídeos

As reações de digestão de lipídeos iniciam no rúmen, no processo nomeado como lipólise, que através da ação das enzimas lipases, fosfolipases e galactosidases produzidas por bactérias ruminais, hidrolisam os lipídeos ingeridos pelos ruminantes formando glicerol, galactose, ácidos graxos insaturados e saturados. Em seguida, o glicerol e galactose, são rapidamente fermentados em ácidos graxos voláteis (KOZLOSKI, 2009).

E os ácidos graxos insaturados, passam pelo processo de biohidrogenação, um mecanismo de autodefesa das bactérias que adicionam um hidrogênio em ácidos graxos insaturados, transformando em ácidos graxos saturados (JENKINS, 1993). Dessa forma, os principais ácidos graxos insaturados obtidos na dieta, linoleico (18:2) e linolênico (18:3) através dos processos de isomerases e redutases, resultam em

intermediários como ácidos vacênicos (18:1) convertidos em ácidos esteáricos (C18:0) (SCHIMID et al., 2006; KOZLOSKI, 2011).

Kozloski (2011) explica que essa etapa da digestão pode acontecer devido ao efeito deletério dos ácidos graxos insaturados as bactérias do rúmen ou pela sua capacidade de adsorção em excesso a célula microbiana, formando uma barreira hidrofóbica e impedindo de acessar as partículas de alimentos.

Allen (2000), sugere que a intensidade da biohidrogenação pode ser afetada por meio da fonte dos lipídios, redução na taxa de passagem da digesta e características da população microbiana. Além de ser um processo dependente do pH da câmera fermentativa (PALMQUIST & MATTOS, 2006), à vista disso, se o pH ter uma queda influenciada, por exemplo, pelo aumento da oferta do concentrado, ela pode ficar incompleta, como resultado, os microrganismos produzem mais ácidos trans (KOZLOSKI, 2011; JENKINS, 1993).

Esses lipídeos já na forma esterificada, para serem absorvidos, chegam no intestino delgado agregados em partículas formando micelas, e a partir do suco biliar e pancreático, liberado respectivamente, pelo fígado e pâncreas, simultaneamente, com a atividade das enzimas lipases, são hidrolisados, formando pequenas moléculas que serão absorvidas pelo intestino (MEDEIROS, 2015; BERCHIELLI, 2006).

Logo, a gordura protegida ou inerte fornecida aos ruminantes na forma de sais de cálcio, é fonte de ácidos graxos essenciais, principalmente, de linolênico (18:3) e linoléico (18:2) (Theurer et al., 2009), além de ser também uma estratégia nutricional empregada para diminuir a biohidrogenação e os efeitos negativos dos lipídeos às bactérias do rúmen (PALMQUIST & JENKINS, 1980; VALINOTE 2005).

Consequentemente, o seu uso apresenta bons resultados, visto que os ácidos graxos insaturados ficam protegidos e apenas no abomaso que sua proteção se desfaz em razão de seu pH ácido, por conseguinte, o fluxo de ácidos graxos aumenta para o intestino delgado, que em sequência são absorvidos e concentrados na corrente sanguínea (ANDRADE, 2010; CHURCH & DWIGHT, 2002).

Como efeito, a adição de lipídeos a dieta disponibiliza mais energia aos animais, sem aumentar o consumo de matéria seca, podendo atender as exigências de cada animal (Reddy et al., 1994).

Foi observado também que animais suplementados com lipídeos, têm deposição e absorção de ácidos graxos maior na carcaça, principalmente, os ácidos graxos linoleico e linolênico, benéficos à saúde humana (SCOLLAN et al., 2017).

E seguindo o mesmo raciocínio, Jenkins & McGuire (2006) observaram que os ácidos oleico e linoleico apresentava altas concentrações, porém no leite produzido a partir da suplementação com gordura protegida.

3.3 Suplementação lipídica: benefícios e limitações

A adição de óleos vegetais e grãos estão sendo utilizado nas dietas com objetivo de reduzir a biohidrogenação das bactérias, por possuírem altas concentrações de ácidos graxos insaturados. Todavia, as proporções e resultados podem variar conforme as fontes fornecidas (COSTA et al., 2009; BOLZAN et al., 2007; PAULA et al., 2012).

Dentre os óleos mais utilizados na suplementação, o óleo de linhaça possui benefícios atribuídos em altos níveis de ácido linolênico e níveis moderados de linoléico, e também tem o de soja e canola, ricos em linoleico e moderados de oleico (CHOUINARD et al., 2001). E o grão de soja e caroço de algodão são alternativas viáveis de grão oleaginosos na suplementação animal (CONSOLO, 2011).

Essas fontes de lipídeos na dieta são rapidamente metabolizadas no rúmen e possuem um efeito desejado por aumentar a carga energética da dieta, sem aumentar a proporção de carboidratos não fibrosos (DIAS et al., 2009; VARGAS et al., 2002). Outro efeito positivo é a redução de produção de metano e amônia na câmara fermentativa, motivado pela redução da relação acetato: propionato (LIN et al., 1995; VARGAS et al., 2002).

Entretanto, o uso de lipídeos na dieta pode ocasionar, efeitos deletérios às bactérias metanogênicas, diminuição da fermentação da matéria orgânica e aumento a produção de propionato, que resulta na mitigação de CH₄ (JOHNSON & JOHNSON, 1995). A intensidade da produção desse gás orgânico pode ser manipulada, pois, fatores como dieta disponível aos animais, consumo e a digestibilidade do alimento, modificam a fermentação do rúmen (MOHAMMED et al., 2004; PEDREIRA, 2004; RIVERA et al., 2010).

Dessa forma, estratégias nutricionais, como alterações da relação volumoso: concentrado, tipos e quantidades de carboidratos ofertados, o uso de ionóforos e leveduras na alimentação (MOHAMMED et al., 2004; PEDREIRA, 2004; RIVERA et al., 2010), bem como a suplementação com lipídeos têm potencial para redução do montante de metano produzido tornando a dieta mais eficiente.

3.4 Uso de óleos vegetais

Os óleos vegetais apresentam altas concentrações de ácidos graxos insaturados e quando emparelhado com outras fontes de gordura, apresenta maior disponibilidade (COSTA et al., 2009). Santos (2001), afirma que ao adicionar óleo de soja na dieta de vacas leiteiras, que a quantidade de ácidos graxos insaturados encontrados no leite era maior, por estarem mais disponíveis para metabolização.

Lana et al. (2005) nota um aumento na densidade energética quando adicionaram 5% de óleo de soja na matéria seca da dieta fornecida para cabras leiteiras, de modo que, teve uma redução do CMS e digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN), explicado pelo aumento do consumo de extrato etéreo (CEE).

Machmüller et al. (1998) avaliaram *in vitro* que os níveis 3% e 6% de óleo de coco reduzia a produção de metano em 43% e 57%, respectivamente. A razão foi o efeito tóxico dos ácidos graxos cadeia média ou ácidos polienóicos aos microorganismos ruminais (MACHMÜLLER et al., 2000).

Costa et al. (2009) cita que a suplementação por óleos são opções promissoras, que levará as indústrias produtoras de óleos vegetais aumentar sua oferta e com a possibilidade de alterar a forma de processamento para diminuir o custo total da produção destinado à nutrição animal.

3.5 Uso de Óleos essenciais

Os óleos essenciais (Oes) são substâncias lipofílicas, líquidas e voláteis provenientes de diferentes tecidos vegetais (BURT, 2004; BAKKALI et al., 2008). Assim, com passar dos anos o interesse em utilizar óleos essenciais na dieta de ruminantes aumentou, principalmente, em virtude da sua atividade antimicrobiana (CALSAMIGLIA et al., 2007).

Em virtude da sua variedade de compostos químicos, o óleo essencial exerce um mecanismo de ação na membrana e parede celular dos microrganismos ruminais (D'AGOSTINO et al., 2019), de modo que possibilita a modulação da fermentação ruminal.

A interação do óleo essencial com a membrana do microrganismo ruminal faz com que as estruturas dos microrganismos sejam alteradas, tornando mais fluidas e permeáveis. Deste modo, permitindo o extravasamento de íons e a perda do

conteúdo citoplasmático, diminuindo a população microbiana (CALSAMIGLIA et al., 2007).

Os mecanismos de ação do óleo essencial são mais suscetíveis as bactérias gram-positivas, por possuírem uma camada espessa composta em sua maior parte por peptíoglicano (BURT, 2004).

No rúmen, a maioria bactérias são gram-negativas e possuem uma parede de peptíoglicano mais fina. No entanto, isso não a torna impermeável, dado que substancias químicas presentes nos Oes, como, timol e carvacrol, que conseguem inibir o crescimento dessas bactérias (CALSAMIGLIA et al., 2007)

Patra e Yu (2012) ao avaliarem os efeitos dos óleos de vanilina, cravo, orégano e hortelã-pimenta verificaram redução na produção de metano em todos os óleos e menor produção de amônia ao avaliar os óleos de orégano e cravo, efeito do mecanismo de ação dos OEs sobre as bactérias do rúmen, que possibilita a inibição da desaminação e da metanogênese, confirmando sua atividade antimicrobiana (CALSAMIGLIA et al.,2007).

Dentre as opções de óleos essenciais, temos o óleo essencial de orégano (OEO) que se destaca por sua maior capacidade oxidante e atividade antimicrobiana quando comparada a outros compostos essenciais (DRAGLAND et al., 2003; WANG et al., 2009).

O timol é um composto presente no OEO que tem chamado atenção de pesquisadores pela sua forte atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de bactérias gram-positivas e negativas (BURT, 2004).

Liu et al. (2017), avaliou uma dose única de OEO em bezerros recém-nascidos no crescimento, desenvolvimento, estado de saúde e desenvolvimento ruminal, e observou benefícios positivos, semelhantes aos antibióticos, incluindo aumento do crescimento do bezerro, desenvolvimento ruminal, saúde intestinal e digestibilidade de nutrientes.

Zhou et al. (2020) na sua pesquisa, observou que a produção de metano diminiu linearmente à medida que aumentou as doses de OEO. Possível efeito direto ou indireto (ou ambas) na metanogênese,_consequência da inibição de bactérias produtoras de hidrogênio, como *Ruminococcus albus, Ruminococcus flavefaciens* e protozoários, resultando na maior produção de propionato.

Além desses resultados, Rivaroli et al. (2017) também verificou efeitos positivos ao comparar diferentes fontes de óleos essenciais, de modo que verificou

desempenho positivo e semelhantes do orégano, alecrim, alho, timol, eucalipto e laranja doce, sobre eficiência alimentar nas dietas de touros mestiços terminados em confinamento alimentados com dieta rica em concentrado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local, tratamentos e análises bromatológicas

O ensaio de produção de gases foi realizado no Laboratório de Fermentação Ruminal e Produção de Gases e as análises bromatológicas no Laboratório de Bromatologia, no Complexo Laboratorial de Nutrição Animal do Programa de Pósgraduação Integrado em Zootecnia nos Trópicos (PPGIZT), situado no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), em Araguaína — Tocantins, localizada a 07° 12′ 28″ latitude sul e 48° 12′ 26″ longitude oeste.

Foi testado o uso de diferentes fontes de gordura em dietas formuladas para terminação de bovinos de corte e os seus efeitos na produção de gases totais e metano, além da degradabilidade da matéria seca das dietas, pela técnica *in vitro*. As dietas foram isoprotéicas e compostas por 90% de concentrado, contendo milho fubá e ureia, e 10% da MS de volumoso capim Mombaça silagem, mais a sua respectiva fonte de gordura.

O ensaio foi feito em um delineamento experimental em blocos casualizados (DBC) com arranjo fatorial (3 X 2), três dietas com sua respectiva fonte de gordura, com a inclusão ou não do óleo essencial de orégano, perfazendo seis tratamentos e com três inóculos dos animais doadores.

A proporção e composição química dos ingredientes estão sendo apresentados na tabela 1 e 2. E os tratamentos estão descritos a seguir:

- 1. Dieta padrão;
- Dieta com gordura protegida (GordProtecSemOE);
- Dieta com óleo de soja (OleoSojaSemOE);
- 4. Dieta padrão com óleo essencial de orégano (PadraoComOE);
- 5. Dieta com gordura protegida e óleo essencial de orégano (GordProtecComOE);
- 6. Dieta com óleo de soja e óleo essencial de orégano (OleoSojaComOE).

Tabela 1- Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais

_	Ingredientes					
g kg-1 de MS	Milho Fubá Capim Mombaça Silagem		Gordura Protegida			
MS (g kg-1 de MN)	946,5	874,7	97,52			
PB	84,8	35,2	6,87			
FDN	140,1	705,4	694,1			
EE	64,7	13,2	820			
MM	13,7	68,9	245,2			

MN - Matéria natural. MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; EE - Extrato Etéreo; MM - Matéria Mineral.

Tabela 2- Proporção de ingredientes nas dietas experimentais

Ingredientes	Padrão	Gordura protegida	Óleo de soja	Padrao ComOE ¹	GordProtec ComOE ²	OleoSoja ComOE ³
Capim Mombaça Silagem	10%	10%	10%	10%	10%	10%
Milho Fubá	87,93%	85%	85,59%	87,93%	85%	85,59%
Uréia	2,06%	2,16%	2,14%	2,06%	2,16%	2,14%
Gordura Protegida	-	2,35%	-	-	2,35%	-
Óleo De Soja	-	-	2,27%	-	-	2,27%
Óleo Essencial De Orégano	-	-	-	2%	2%	2%

¹⁻ PadraoCOE: Padrão com óleo essencial de orégano; 2- GorProtCOE: Gordura protegida com óleo essencial de orégano; 3- OleoSojaCOE: Óleo de soja com óleo essencial de orégano

A dieta padrão continha teores médios de 91,74% de Matéria Seca (MS), 10,32% de Proteína Bruta (PB), 28,46% de Fibra de Detergente Neutro (FDN), 6,47% de Extrato Etéreo (EE) e 2,9% Matéria Mineral (MM). A dieta com gordura protegida, os teores de MS eram 92,14%, PB 10,32%, FDN 28,46%, EE 7,87% e MM 3,56%. A composição da dieta com óleo de soja equivale a 91,54% de MS, 9,6% de PB, 27,91%

de FDN, 5,73% de EE e 3,03% de MM. As dietas com a inclusão de óleo essencial de orégano (OEO) e sua respectiva fonte de gordura, apresentaram teores semelhantes de MS, PB, FDN, EE e MM.

O período experimental consistiu em 21 dias, com quatorze dias para a adaptação dos animais e preparação das dietas, sete dias para a realização do ensaio de produção de gases *in vitro* e degradabilidade.

As dietas formuladas foram previamente secas em estufa de ventilação forçada por 72 horas à 55 (°C) e, posteriormente, moídas a 2 mm para utilização no ensaio de produção de gases e a 1 mm para análises bromatológicas, e moídos em moinho de facas tipo *willey* e em seguida avaliados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 2005), fibra em detergente neutro (FDN) (VAN SOEST et al., 1991).

4.2 Ensaio de produção total de gases

As coletas de líquido ruminal foram feitas via esôfago com o auxílio de sonda esofagiana acoplada um recipiente de vidro conectada a um cano ligado à bomba de pressão negativa, em que todos os recipientes estavam aquecidos à 39 °C. E um "pool" dos três inóculos foi misturado para formar um bloco adicional.

A técnica semi-automática utilizada para produção de gases, foi conforme a metodologia de Maurício et al. (1999). Os frascos de 150 ml utilizados, foram lavados anteriormente com água destilada e secos em estufa de ventilação forçada à 55 °C. Posteriormente, adicionado 1,0 g de amostra do substrato em frascos de 150 ml, sob injeção contínua de CO₂ no interior de cada frasco. Em seguida, colocado 90 ml de meio de cultura proposto por Theodorou *et al.* (1994), 10 ml de inóculo, com 3 réplicas de cada tratamento por bloco. De modo a controlar as variações, foram incubados frascos com as soluções e sem substratos, considerados brancos.

Após adicionado à solução, os frascos foram vedados com tampa de silicone, homogeneizados e incubados em estufa 39 °C sob controle rigoroso de temperatura. Para a mensuração da pressão dos gases no interior do frasco, utilizouse um transdutor de pressão modelo DPI800-P, que conecta a uma válvula de três saídas. A primeira saída foi acoplada ao transdutor de pressão, a segunda a uma agulha (0,8 x 25,0 mm) que tem acesso aos gases no interior dos frascos, e a terceira foi vedada.

As leituras foram realizadas nos tempos de 3; 6; 9; 12; 16; 20; 24; 30; 36; 48; 72 e 96 horas após o início do processo de fermentação. No término das medições no tempo 96 horas, os frascos foram mergulhados em um recipiente com água gelada para cessar o processo fermentativo.

Os materiais sólidos e líquidos dos interiores dos frascos foram filtrados em cadinhos filtrantes (porosidade 1) com o auxílio de uma bomba de pressão negativa, posteriormente colocados em estufa a 105 °C durante 24 horas e pesados para determinar a degradabilidade da matéria seca. Em seguida, colocados na mufla durante 4 horas a 400 °C, sucessivamente pesados para determinação da matéria orgânica.

O modelo de France *et al.* (1993) ajustado aos dados da cinética de produção de gases, expresso abaixo:

$$Y = A \{1 - \exp^{[-b(t-T) - cx(\sqrt{t} - \sqrt{T})]}\}$$

Em que:

Y = produção acumulativa de gases (ml); A = Máxima de produção acumulada de gases (ml); T = tempo de colonização (h); b (h-1) e c (h-0,5) = taxas fracionais constantes; t = tempo (h).

A taxa fracional média (h⁻¹) de produção de gases (μ) será calculada como:

$$\mu = b + c$$
$$2\sqrt{t}$$

Em que:

 μ = taxa de produção de gases (h-1); b (h⁻¹) e c (h^{-0,5}) = taxas fracionais constantes; t = tempo (h).

As equações serão comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade de curvas de acordo com Regazzi e Silva (2004) (p<0,05).

A degradabilidade efetiva será obtida segundo metodologia de France et al. (1993), onde:

$$DE = S_0 E^{-kT} (1 - KI) / (S_0 + U_0)$$

Em que:

DE = Degradabilidade efetiva; k = taxa de passagem; sendo calculado para k = 0.2; 0.3; 0.4; 0.05; 0.06; 0.07 e 0.08; S_0 e U_0 = frações inicialmente fermentáveis e frações não fermentáveis, respectivamente, sendo:

$$I = \int \infty \exp - [(b + k) (t - T) + c (\sqrt{t} - \sqrt{T})] dt.$$

Os dados gerados de degradabilidade ruminal *in vitro* da MS e MO, bem como a produção de Metano foram submetidos à análise variância e as dietas testadas pelo teste de t de Student (LSD) a 5% de probabilidade.

4.3 Leitura de metano

A mensuração de metano foi realizada através de uma porção de 5mL de gás coletado, que foi injetada em um analisador de gases portátil TEC-GA21BIO® capaz de avaliar as proporções dos gases CH⁴ (Metano), configurado para realizar leituras a cada quatro segundos, conectado a uma mangueira com uma válvula de três saídas com seringas conectadas, para evitar a perda de gás.

Após a obtenção da concentração de metano do volume total de gases produzidos e da degradabilidade da matéria orgânica nos diferentes tratamentos será obtido a quantidade de metano por quantidade de matéria orgânica degradável *in vitro*.

O modelo estatístico para expressar os dados que serão obtidos, será:

Yijk =
$$\mu$$
 + Bi + F1j + F2k + F1j x F2k +eijk em que,

 μ = média geral.

Bi= efeito do Bloco i, i=inóculo 1, 2 e 3.

 $\mathsf{F1}_{j} = \mathsf{efeito} \ \mathsf{da} \ \mathsf{fonte} \ \mathsf{de} \ \mathsf{gordura} \ \mathsf{j}, \ \mathsf{j} = \mathsf{gordura} \ \mathsf{protegida}, \ \mathsf{\acute{o}leo} \ \mathsf{de} \ \mathsf{soja}, \ \mathsf{sem}$ fonte

F2k = Efeito da inclusão do óleo essencial de orégano, k= com ou sem óleo essencial de orégano

F1jx F2k = efeito da interação

 $e_{ijk} = erro.$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os tratamentos não diferiram pelo teste de paralelismo (p<0,05), Tabela 3. No entanto, quando analisados pelo teste de identidade (p<0,05) observou-se que os tratamentos padrão e gordura protegida com a inclusão de OE, a produção de gases foi superior aos demais tratamentos, porém o uso OE quando utilizou o óleo de soja não apresentou o mesmo efeito.

A menor produção de gases observada no tratamento padrão, pode estar relacionado com os microrganismos que fermentaram mais o substrato, liberando mais energia. Esses resultados sugerem possível efeito do pH sobre os microrganismos, que influenciou na sua atividade microbiana. Conforme Orskov (1986), dietas com alta relação de concentrado são mais suscetíveis a queda de pH por disponibilizar mais carboidratos para fermentação.

Tabela 3- Equações da produção acumulativa de gases (PCG), em mL/g de MS de dietas com adição de gordura e óleo essencial de orégano

Tratamentos	Equações (Modelo de France)		R2
Padrão	$y = 193,400 \text{ x } \{1-exp^{[-0,0676 \times (t-1,0304) - (-0,1242) \times (\sqrt{t-\sqrt{1,0304}})]}\}$	аC	99,15
Gordura Protegida	$Y=201,900 \text{ x } \{1-\exp^{[-0,0729 \text{ x } (t-1,0182) - (-0,1436) \text{ x } (\sqrt{t-\sqrt{1,0182}})]}\}$	аВ	99,23
Óleo Soja	Y=199,500 x {1-exp ^{[-0,0739 x (t-1,0266) - (-0,1441) x (\sqrt{t}-$\sqrt{1,0266}$)]}}	аВ	99,26
PadraoCOE ¹	$Y=207,000 \times \{1-\exp^{[-0,0700 \times (t-1,3240) - (-0,1235) \times (\sqrt{t-\sqrt{1,3240}})]}\}$	aА	99,49
GorProtCOE ²	$Y=208.400 \times \{1-\exp^{[-0.0717 \times (t-1.2320) - (-0.1348) \times (\sqrt{t-\sqrt{1.2320}})]}\}$	aА	99,11
OleoSojaCOE ³	Y=201,400 x {1-exp[-0.0730 x (t-1.2100) - (-0.1393) x (\sqrt{t} - $\sqrt{1.2100}$)]}	аВ	97,97

Equações acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna são paralelas pelo teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade (Freeze, 1970). Equações acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna são idênticas pelo teste de identidade de curvas a 5% de probabilidade (Regazi e Silva, 2004).

O uso de óleo de orégano não modificou a degradação ao longo das 96 horas, indicando o mesmo padrão de fermentação (Figura 1). Isso pode ser verificado pelo comportamento paralelo das curvas de degradação.

¹⁻ PadraoCOE: Padrão com óleo essencial de orégano; 2- GorProtCOE: Gordura protegida com óleo essencial de orégano; 3- OleoSojaCOE: Óleo de soja com óleo essencial de orégano.

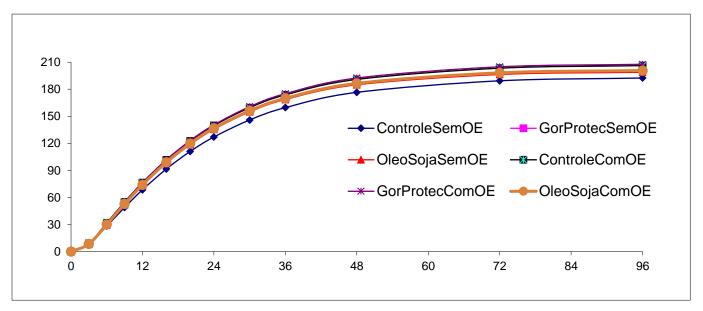


Figura 1. Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação das dietas ControleSemOE (Controle sem óleo essencial de orégano), OleoSojaSemOE (Óleo de soja sem óleo essencial de orégano), Gordura protegida (Gordura protegida sem óleo essencial de orégano), ControleComOE (Controle com óleo essencial de orégano), OleoSojacomOE (Óleo de soja com óleo essencial de orégano), Gordura protegida (Gordura protegida com óleo essencial de orégano).

Na figura 2, observa-se o efeito do uso de óleo essencial de orégano na produção de gases totais, em que as médias com a inclusão de óleo essencial de orégano aumentaram a produção de gases.

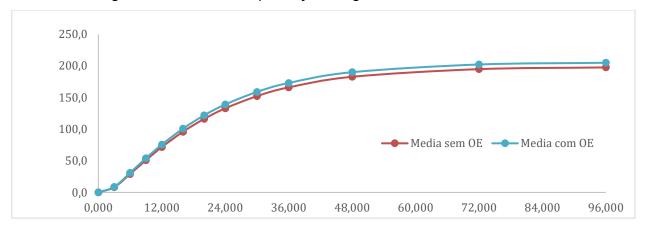


Figura 2. Curva da produção cumulativa de gases em função da inclusão (Media com OE) ou não de Óleo Essencial (Media sem OE).

Foi observado pouco impacto da gordura protegida na fermentação ruminal, (tabela 4), devido principalmente sua passagem no rúmen ter um efeito negativo mínimo aos microrganismos ruminais, tornando disponível em maior quantidade sua absorção no intestino delgado (AFONSO, 2008).

Valinote et al. (2006) ao avaliar sais de cálcio de ácidos graxos e caroço de algodão, verificou que apenas os lipídeos liberados do caroço de algodão alteraram a população ciliados do rúmen, enquanto a gordura protegida ficou inerte pelo rúmen.

Observou-se resultados positivos com a inclusão de óleo essencial de orégano, que possibilitou melhorar a fermentação das dietas, sobretudo a gordura protegida que respondeu bem à inclusão do óleo, produzindo 10% a mais de gases totais.

Nesse contexto, exceto o óleo de soja não sofreu influência, em virtude de seu efeito defaunatório, que também foi observado por Eifert et al. (2006) ao avaliar óleo de soja com diferentes fontes de carboidratos na dieta.

Tabela 4- Parâmetros da cinética de fermentação ruminal in vitro de dietas com diferentes fontes de gordura utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva.

	Tratamentos						
Parâmetros de France	Padrão	Gordura protegid a	Óleo Soja PadrãoCO E¹		GorProtCO E ²	OleoSojaCOE ³	
A *	193,4000	201,9000	199,5000	207,0000	208,4000	201,4000	
T *	01:01	01:01	01:01	01:19	01:13	01:12	
μ*	0,052233	0,055169	0,05600189	0,05444	0,0549	0,05564	
DE** (6%)	71,3566	71,8133	72,2019	77,4785	72,7299	69,0226	
DE (7%)	69,9258	70,3858	70,7616	76,6885	71,1312	67,5211	
DE (8%)	68,5168	68,9800	69,3431	75,8989	69,5606	66,0457	

A - Total de gases (mL), T - Tempo de colonização (horas:minutos) e μ - Taxa de degradação fracional (h-1) **Degradabilidade Efetiva* Parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993).

Verificou-se que o tempo de colonização foi semelhante entre os tratamentos sem o óleo essencial de orégano, apontando que o óleo de soja não causou nenhum impedimento na degradação da partícula. Entretanto, foi observado maior tempo de colonização nas dietas com óleo essencial de orégano. Possivelmente, esse maior tempo para degradar a partícula, seja devido o OE apresentar características hidrofóbicas impedindo o ataque microbiano e seu metabolismo, efeito esse,

¹⁻ PadrãoCOE: Padrão com óleo essencial de orégano; 2- GorProtCOE: Gordura protegida com óleo essencial de orégano; 3- OleoSojaCOE: Óleo de soja com óleo essencial de orégano.

observado nos estudos de Benetel (2018) ao avaliar óleos essenciais de citronela, ho wood, orégano e tomilho.

Já na taxa de degradação efetiva sinaliza que à medida que aumenta o tempo, diminui a digestibilidade da dieta, podendo estar relacionado com as taxas de passagem das dietas para outros compartimentos.

Observou-se nos tratamentos com óleo de soja que houve redução na produção de CH₄ (tabela 5), podendo ser uma ação direta do óleo contra as bactérias metanogênicas (MACHMÜLLER & KREUZER,1999). Embora este trabalho só tenha avaliado óleo de soja, resultados semelhantes foram obtidos por Souza (2019) ao avaliar a inclusão 3,5% de óleos de Macaúba, Pequi, Babaçu e Buriti.

A adição de OEO na dieta reduziu a produção de metano, efeito semelhante ao encontrado nos estudos de Zhou et al. (2020) que ao avaliar diferentes níveis de óleo essencial de orégano, verificou inibição de microrganismos produtores de metano, em virtude de uma redução na produção de hidrogênio, resultado da redução de acetato e butirato, e aumento na produção de propionato.

Verificou-se que degradabilidade matéria orgânica foi superior nos tratamentos com gordura protegida com inclusão de orégano, conforme Chalupa e Ferguson (1990) pode ocorrer dissociação dos sais de cálcio de ácidos graxos, sugerindo que o mesmo não foi totalmente inerte no ambiente ruminal. No entanto, o fato de a degradação ser maior nesse tratamento com gordura protegida indica que a mesma foi eficiente na sua proteção e não afetou os microrganismos.

Possivelmente também, o efeito da inclusão OE na dieta que modulou a fermentação ruminal. De modo que os microrganismos selecionados pelo OE são mais eficientes na degradação da orgânica.

Benetel (2018) destaca que a baixa degradação da matéria seca seria uma desvantagem, e que a busca por um OE que reduz o volume de metano sem interferir na degradabilidade é importante, devido alimentos com baixa degradabilidade impedir os microrganismos do rúmen extrair substrato.

.

Tabela 5- Degradação da matéria seca (DMS), orgânica (DMO) e metano

DMS (%)								
_		Dieta				P*		
OE	Padrão	Óleo Soja	Gordura Protegida	Médias	OE	Dieta	OE X Dieta	CV (%)
Sem	80,42	81,32	80,85	80,86				
Com	82,23	78,60	82,94	81,25	0,71	0,33	0,15	2,71
Médias	81,32	79,96	81,89	81,55				
			DM	O (%)				
		Dieta				P*		
OE	Padrão	Óleo Soja	Gordura Protegida	Médias	OE	Dieta	OE X Dieta	CV (%)
Sem	81,30 aA	82,06 aA	81,6 aA	81,65				
Com	85,50 aAB	80,25 aB	90,22 bA	85,32	0,033	0,075	0,049	3,79
Médias	83,4	81,15	85,91	83,48	-			
	Metano (g de CH⁴. Kg MOD⁻¹)							
<u>-</u>		Dieta				P*		
OE	Padrão	Óleo Soja	Gordura Protegida	Médias	OE	Dieta	OE X Dieta	CV (%)
Sem	31,01 aA	24,24 aC	29,52 aB	28,25				
Com	29,07 bA	24,88 aC	27,61 bB	27,18	< 0,001	< 0,001	0,015	1,28
Médias	30,04	24,56	28,56	27,71				

Médias seguidas por letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem a 7% de probabilidade Dieta de erro tipo 1 pelo teste t Student.

^{*}probabilidade Dieta de erro tipo 1 pelo teste F.

6 CONCLUSÕES

A produção de gases é superior em dietas utilizando gordura protegida quando comparada as que utilizaram óleo de soja. Sobretudo, a inclusão de óleo essencial de orégano potencializou esses resultados em estudos *in vitro*.

No ensaio de produção de gases *in vitro*, a degradação da matéria seca e orgânica são superiores nas dietas com gordura protegida e óleo de orégano. Possivelmente, as dietas com menor produção de metano são as que utilizaram o óleo de soja. E a inclusão de óleo de orégano também é eficiente na redução de metano em estudos *in vitro*, de modo que as dietas que continham obtiveram os melhores resultados.

REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, E.N. Influência da utilização de lipídio protegido na dieta sobre o perfil de ácidos graxos e qualidade da carne de bovinos jovens NeloreAngus. 2010. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ANDRIGUETTO, Jose Milton; PERLY, Luimar. **Nutrição animal: bases e fundamentos.** NBL Editora, 1994.

FONSO, V.A.C. Suplementação com gordura protegida na infecção por nematódeos gastrintestinais em ovelhas santa inês. 53f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de odontologia - Unesp, Araçatuba, SP 2008.

ALLEN, Michael S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Washington: AOAC, 2005.

BASSI, Marcelo Silva et al. Grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade e desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 353-359, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BERCHIELLI, Telma Teresinha. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006.

BENETEL, Gabriela. Uso de óleos essenciais como estratégia moduladora da fermentação ruminal para mitigação das emissões de metano por bovinos **Nelore**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BOLZAN, Ivonir Taschetto et al. Consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com dietas contendo grão de milho moído, inteiro ou tratado com uréia, com três níveis de concentrado. **Ciência Rural**, v. 37, p. 229-234, 2007.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International, Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. G. P.; BARROS, L. R.; NASCIMENTO, G. A. J. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 26, n. 1, p. 5-14, 2005.

BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. 1989. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. (Ed.) The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. **New Jersey: A Reston Book**. p.298-312.

CARVALHO, R. A. et al. Efeito do uso de aditivo a base de óleos essenciais no desempenho de bovinos confinados. 2021.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 6, p. 2580-2595, 2007.

CHALUPA, W.; FERGUSON, J. D. Basic aspects of feeding fat to lactating dairy cattle. In: **Proc. Pacific Northwest Anim. Nutr. Conf., Oregon Feed, Seed, Grain Suppl. Assoc.** 1990. p. 43.

Chouinard PY, Corneau L, Butler WR, Chiliard Y, Drackley JK, Bauman DE (2001). Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. **Journal of Dairy Science**, 84, 680-690.

CHURCH & DWIGHT C. O. Megalac-r, rumen bypass fat. EFA **Alert Research Summary.** 28 p. 2002.

CONSOLO, Nara Regina Brandão. Utilização do grão de soja cru integral na dieta de bovinos de corte confinados. 2011. **Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo**.

COPPOCK, C.E. e WILKS, D.L. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

COSTA, Roberto Germano; QUEIROGA, Rita de Cássia RE; PEREIRA, Renata AG. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 307-321, 2009.

COTTON, WR.; PIELKE, R.A. **Human impacts on weather and climate**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 288p.

CUTRIM, E. S. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de Zingiber officinale (Gengibre) e Rosmarinus officinalis (Alecrim). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019.

D'AGOSTINO, M.; TESSE, N.; FRIPPIAT, J. P.; MACHOUART, M.; DEBOURGOGNE, A. Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3713, 2019.

DAVIS CARL, L. **Alimentación de la vaca lechera alta productora**. Milk Specialties Company. Dundee, Illinois, USA, 1993.

DRAGLAND, Steinar et al. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1286-1290, 2003.

DIAS, J. C.; MARTINS, J. A. M.; EMERICK, L. L.; SOUZA, F. A.; ANDRADE, V. J. Effects of fat supplementation on reproductive efficiency in bovine females. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** v. 33, n. 2, p. 95-104, 2009.

EIFERT, E. C. et al. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 211-218, 2006.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. et al A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. **J. Theor. Biol.**, v.163, p.99-111, 1993.

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, 2006.

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3863, 1993.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emission from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.

JORDAN, E. et al. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 9, p. 2418-2425, 2006.

JORGE, Neuza. **Química e tecnologia de óleos vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica, v. 1, p. 165, 2009.

JÚNIOR, G. L. et al. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, n. 7, 2007.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. **2ª** edição. Ed. da UFSM (Santa Maria, RS), 2009.

______. **Bioquímica dos ruminantes. 3ª** edição. Ed. da UFSM (Santa Maria, RS), 2011.

LANA, Rogério de Paula et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 191-197, 2007.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

LIN, H.; BOYSLON, T.D.; CHANG, M.J. et al. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.11, p.2358-2365, 1995.

LÓPEZ, S. E.; LÓPEZ, J. Stumpf Junior, W. Produção e composição do leite e eficiência alimentar de vacas da raça Jersey suplementadas com fontes lipídicas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, p. 1-9, 2007.

MACHMÜLLER, A., OSSOWSKI, D. A., & KREUZER, M. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p.41–60, 2000.

MACHMÜLLER A E KREUZER M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. Canadian **Journal of Animal Science**, 79, 65-72, 1999.

MACHMÜLLER, A.; OSSOWSKI, D.A.; WANNER, M. et al. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation in vitro (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v.71, p.117-130, 1998.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v.79, p.321-330 ,1999.

MEDEIROS, S. R. de; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, D. J. (Ed.). **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 14 p.

MESSANA, Juliana Duarte et al. Effects of different lipid levels on protozoa population, microbial protein synthesis and rumen degradability in cattle. Acta Scientiarum. **Animal Sciences,** v. 34, n. 3, p. 279-285, 2012.

MISSIO, Regis Luis et al. Características da carcaça e da carne de tourinhos terminados em confinamento, recebendo diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1610-1617, 2010.

MOATE, P. J.; CHALUPA, W; JENKINS, T. C.; BOSTON, R. C. A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. **Animal Feed Science and Technology**, v. 112, n. 1-4, p. 79-105, 2004.

MOHAMMED, N.; ONODERA, R.; ITABASHI, H. et al. Effects of ionophores, vitamin B6 and distiller's grains on in vitro tryptophan biosynthesis from indolepyruvic acid, and production of other related compounds by ruminal bacteria and protozoa. **Animal Feed Science and Technology**, v.116, n.3, p.301-311, 2004.

MOULD, F. Predicting feed quality: chemical analysis and in vitro evaluation. **Field Crops Res.**, v.84, p.31-44, 2003.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 90, sup., p. E17-E38, 2007.

NRC.NATIONAL RESEARCH COUCIL. Nutrient requeriments of dairy cattle Washington: **Nacional Academy of Sciences**, 1989. 169p. (Nutrient requirements of domestic animals.).

OWENS, F.N., GOESTSCH, A.L. 1988. **Ruminal fermentation**. In: Church, D.C. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. Englewood cliffs: O & Books Inc. p.146-171.

ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1624-1633, 1986

PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1-14, 1980.

ALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. **Metabolismo de lipídeos**. In: BERCHIELLI, T.T. et al. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 2006. Cap.10, p.287-310.

PAULA, EFE de; MAIA, F. de P.; CHEN, R. F. F. Óleos vegetais em nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 06, p. 2075-2103, 2012.

PATRA, A. K.; YU, Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 12, p. 4271-4280, 2012.

PEDREIRA, S. M.; PRIMAVESI, O. Impacto da produção animal sobre o ambiente. **Embrapa pecuária sudeste**, p.497-511, 2006.

PEDREIRA, S.M. Estimativa da produção de metano de origem animal por bovinos tendo como base a utilização de alimentos volumosos: utilização da metodologia do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF6). 2004. 136f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

RAMIREZ, H.A, K.J. HARVATINE, P.J. KONONOFF.Short communication: Forage particle size and fat intake affect rumen passage, the fatty acid profile of milk, and milk fat production in dairy cows consuming dried distillers grains with solubles **J. Dairy Sci.**, 99, pp. 392-398, 2016.

REGAZZI, Adair José; SILVA, Carlos Henrique Osório. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I. dados no delineamento inteiramente casualizado. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 22, n. 3, p. 33-45, 2004.

REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. Release os fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibility. **J. Dairy Sci.,** v.77, p.341-346, 1994.

RIVERA, R. A. et al. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista brasileira de zootecnia,** v.39, n.3, p.617-624, 2010.

RIVAROLI, Dayane Cristina et al. Essential oils in the diet of crossbred (½ Angus vs. ½ Nellore) bulls finished in feedlot on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, n. 10, p. 205-212, 2017.

SALCEDO, Y. T. G.; JUNIOR, C. S. R.; CANESIN, R. C. Influência da relação volumoso: concentrado da dieta no metabolismo ruminal em bovinos de corte. **Revista facultad ciencias agropecuarias**, v.8, n.1, p.19-24, 2016.

SANTOS, Ferlando Lima et al. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1931-1938, 2001.

SCOLLAN, Nigel D. et al. Can we improve the nutritional quality of meat?. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 76, n. 4, p. 603-618, 2017.

SCHIMID, A.; COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BEE, G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: **a review. Meat Sci.**, v.73, p. 29-41, 2006.

SHIBATA, M; TERADA, F. Factors affecting methane production and mitigation in ruminants. **Journal of Animal Science**, Madison, v. 8, n. 1, p. 2-10, 2010.

SILVA, Leandro das Dores Ferreira da et al. Degradabilidade ruminal in situ da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes teores de inibidor de tripsina, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1251-1257, 2002.

SILVA, F. C. **Mecanismos reguladores de consumo**. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. D. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2. ed., p.1-23, 2011.

SMITH, N. E.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. A. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 6, p. 747-756, 1978.

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

SOUZA, Luana Magna de et al. **Mitigação da produção de metano em cabras** leiteiras com dietas contendo óleos de plantas do cerrado. 2019.

THEODOROU, M. K. et al. Asimple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal feed science and technology,** v.48, n.3-4, p.185-197, 1994.

TORRES, R. N. S. et al. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. **The Veterinary Journal**, v. 272, p. 105659, 2021.

VALERIANO, HEITOR HENRIQUE COSTA. Grãos de oleaginosas em dietas de novilhos terminados em confinamento. 2018.

VALINOTE, Amaury Camilo et al. Fontes de lipídeos e monensina na alimentação de novilhos Nelore e sua relação com a população de protozoários ciliados do rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1418-1423, 2005.

Van NEVEL, C.; DEMEYER, D.I. Manipulation of rumen fermentation. In: HOBSON, H.D. (Ed.) The rumen microbial ecosystem New York: **Elsevier Science**, 1988. p.387-443.

Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991): Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci.**, 74, 3583–3597

VARGAS, Luiz Henrique et al. Influência de Rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1650-1658, 2001.

VARGAS, Luiz Henrique et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 522-529, 2002.

Theurer ML, McGuire MA, Block E, Sanchez WK. Calcium salts of polyunsaturated fatty acids deliver more essential fatty acids to the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**. 2009;

Wolin, MJ, 1960. Um balanço teórico da fermentação ruminal. **J. Leite Sci**. 43, 1452-1459

ZHOU, R. et al. Effects of oregano essential oil on in vitro ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 3, p. 2303-2314, 2020