

## AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE GÁS *IN VITRO* COM FARELO DE SOJA CONTENDO ALTOS NÍVEIS DE MICOTOXINAS

HELTON DOMINGOS VIAGEM MÁQUINA<sup>1</sup>; CÁSSIO BRAUNER<sup>2</sup>; CARLA JOICE HÄRTER<sup>3</sup>; DIANE RAMIRES DAS NEVES<sup>4</sup>; EDUARDO SCHMITT<sup>5</sup>;

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [heltonmaquina03@gmail.com](mailto:heltonmaquina03@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [cassiocb@gmail.com](mailto:cassiocb@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade federal de Pelotas – [carlinhaharter@yahoo.com.br](mailto:carlinhaharter@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ramiresdiane@gmail.com](mailto:ramiresdiane@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [schmitt.edu@gmail.com](mailto:schmitt.edu@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A fermentação ruminal desempenha um papel crucial no aproveitamento de nutrientes pelos ruminantes Li et al., (2022), sendo mediada por uma complexa comunidade de microrganismos que decompõem a fibra dietética em ácidos graxos voláteis, essenciais para a produção de energia Sakita et al., (2022). No entanto, a contaminação dos alimentos por micotoxinas é formada por metabólitos secundários de fungos filamentosos pertencentes a *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e outros gêneros fúngicos Gallo et al., (2021) representa um desafio significativo para a saúde animal e a eficiência produtiva. Contudo, sua suscetibilidade à contaminação por micotoxinas, especialmente aflatoxinas e fumonisinas, pode comprometer a fermentação ruminal e, conseqüentemente, a digestão e absorção dos nutrientes.

As micotoxinas podem afetar diretamente os microrganismos ruminais, inibindo a atividade de bactérias celulolíticas e metanogênicas May et al., (2000), além de comprometer a integridade ruminal ao aumentar o estresse oxidativo e inflamação no tecido animal. Estudos indicam que a presença dessas toxinas nos alimentos pode resultar em redução da digestibilidade da fibra, menor produção de ácidos graxos voláteis e aumento das emissões de metano, agravando os desafios ambientais associados à pecuária Denli, (2015); Kolawole et al., (2024). Assim, este estudo tem como objectivo avaliar o efeito do farelo de soja contaminado por micotoxina sobre a produção de gás durante a fermentação do fluido ruminal *in vitro*. A hipótese deste estudo é que o farelo de soja contaminado por micotoxina pode comprometer o processo de fermentação do fluido ruminal *in vitro*.

### 2. METODOLOGIA

Foi utilizada a técnica de produção de gás *in vitro* descrita Schofield et al., (1994). A dieta, composta por uma mistura de farelo de milho e farelo de soja na proporção de 50:50, foi elaborada para atender às exigências de manutenção e produção dos animais, conforme os parâmetros do NRC 2001. Substratos secos, moídos para passar por uma tela de 1 mm (Wiley Mill; Arthur Thomas Co., Filadélfia, PA, EUA), foram pesados (0,5 g) e depositados em garrafas de vidro de 100 mL.

Alocados em três tratamentos e cinco repetições por cada tratamento. Um tratamento continha farelo de soja contaminada por micotoxina zearalenona em uma concentração de 9165 µg/kg + farelo de milho na quantidade de (SM), um contendo farelo de soja boa + farelo de milho (SS) e um terceiro sem substrato, utilizado como branco. Foi utilizado com inóculo líquido ruminal de uma ovelha canulada no rúmen consumindo uma dieta de forragem para concentrado 80:20. Cerca de 40 mL de meio tampão pré-aquecido Mcdougall, (1948) e 10 mL de líquido ruminal foram adicionados aos frascos de vidro enquanto lavados com CO<sub>2</sub> livre de O<sub>2</sub>. Os frascos foram selados com rolhas de borracha, depositados em um banho de água mantidos a 39 °C por 30 h. A pressão do gás (Gp) dentro dos frascos foi medida em diferentes pontos de tempo (2, 4, 6, 22, 26 e 30 h) usando um sistema de *in vitro* gás. Cálculo dos parâmetros da cinética de produção de gases *in vitro* usando os modelos propostos por Schofield et al., (1994). Os dados de motilidade dos protozoários foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, enquanto a produção de gás foi avaliada usando o PROC MIXED do SAS 9.4 (SAS Inc.), ambos considerando um nível de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que houve uma diferença significativa na média de produção de gás, onde o grupo controle apresentou a menor média de produção 1,53 ± 0,61 mL em relação aos demais grupos (P<0,05). Entretanto, a adição de farelo de soja com e sem contaminação por micotoxinas zearalenona, apesar de aumentarem a produção de gás, não diferiram entre si 3,75 ± 2,12 mL e 4,41 ± 2,06 mL respectivamente (P>0,05).

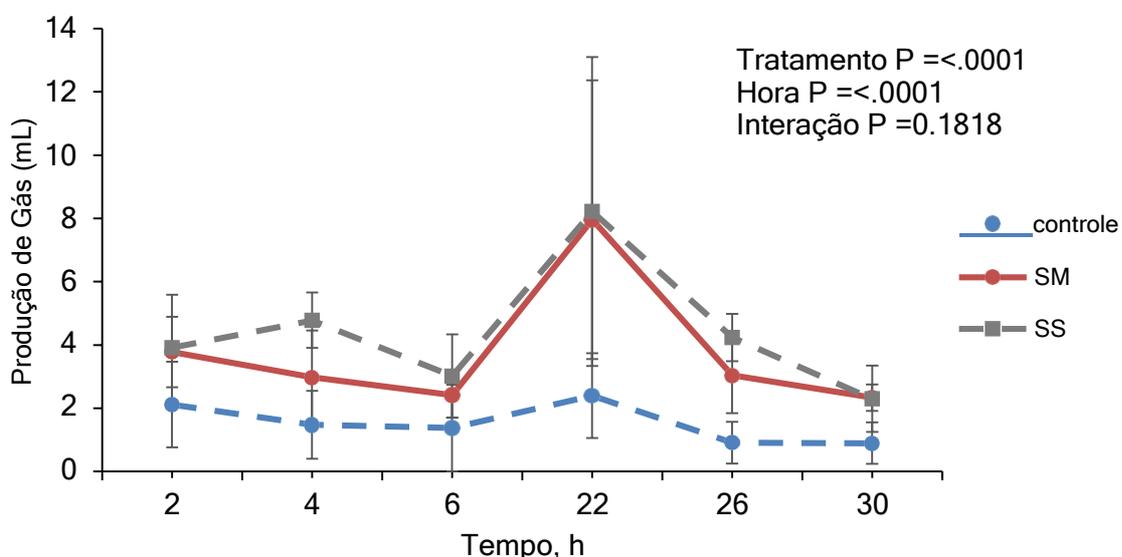


Figura 1: Cinética da Produção de Gás In Vitro em Diferentes Tratamentos de Farelo de Soja com e sem Contaminação por Micotoxinas.

Algumas micotoxinas, devido à sua atividade antimicrobiana, podem alterar a microbiota ruminal e prejudicar o sistema imunológico dos animais Catellani et al., (2023). A patulina é um exemplo, atuando contra bactérias Gram +, Gram – e protozoários. No estudo de Fink-Gremmels., (2008), notaram que algumas micotoxinas podem ser parcialmente inativadas pela microbiota do rúmen, como o desoxinivalenol (DON), que é convertido em um metabólito menos tóxico (DOM).

Os resultados revelaram que a micotoxina zearalenona não teve impacto significativo na produção de gás assintótico, indicando que a extensão da fermentação ruminal *in vitro* permaneceu inalterada pela micotoxina. Embora tenha sido observado um aumento na produção de gás após 22 horas, conforme a figura 1. Estes resultados corroboram com os obtidos por Jiang et al., (2012), que também não observaram nenhuma alteração na produção de gás assintótico quando a aflatoxina B1 foi adicionado em concentrações de 320 a 960 ng/mL.

Em contraste, o estudo realizado por Khodabandehloo et al., (2019) observou-se uma diminuição na produção de gás assintótico com Aflatoxina B1 em concentrações de 5 e 10 µg/mL. E também num outro estudo, realizado por Gallo et al., (2015), que observaram uma diminuição na produção de gás com o aumento das concentrações de ácido micofenólico (MY) e roquefortina C (RC) no fluido ruminal diluído, com efeitos marginais de -14,6 mL/g de matéria orgânica (OM) para MY e -13,4 mL/g de OM para RC para cada incremento de 1,0 µg/mL de micotoxina.

Neste estudo, também foi realizada uma avaliação da motilidade dos protozoários, na qual não foi observada motilidade dos protozoários no fluido ruminal após 30 horas. Esses resultados são similares com os obtidos por Westlake et al., (1989), que notaram que a presença do T-2 toxin na dieta teve um efeito inibitório sobre a motilidade dos protozoários. No entanto, é importante ressaltar que o método utilizado pode ter influenciado na taxa de sobrevivência dos protozoários, e não estar diretamente relacionado à micotoxina.

#### 4. CONCLUSÕES

O farelo de soja contaminado por micotoxinas zearalenona, na concentração de 9165 µg/kg, não interferiu na cinética de produção de gás.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CATELLANI, A. et al. Effects of Supplementation of a Mycotoxin Mitigation Feed Additive in Lactating Dairy Cows Fed Fusarium Mycotoxin-Contaminated Diet for an Extended Period. **Toxins**, v. 15, n. 9, p. 546, 4 set. 2023.

DENLI, M. Implications of mycotoxins in livestock feeds. 1 nov. 2015.

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 25, n. 2, p. 172-180, fev. 2008.

GALLO, A. et al. Study of the effects of PR toxin, mycophenolic acid and roquefortine C on *in vitro* gas production parameters and their stability in the rumen environment. **The Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 1, p. 163-176, jan. 2015.

GALLO, A. et al. Kinetics of gas production in the presence of Fusarium mycotoxins in rumen fluid of lactating dairy cows. **JDS Communications**, v. 2, n. 5, p. 243-247, set. 2021.

JIANG, Y. H.; YANG, H. J.; LUND, P. Effect of aflatoxin B1 on in vitro ruminal fermentation of rations high in alfalfa hay or ryegrass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v. 175, n. 1-2, p. 85-89, jul. 2012.

KHODABANDEHLOO ET AL., 2019, M. In vitro evaluation of aflatoxin B1 effect on gas production and ruminal fermentation parameters. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 20, n. 4, 2019.

KOLAWOLE, O. et al. A systematic review of global occurrence of emerging mycotoxins in crops and animal feeds, and their toxicity in livestock. **Emerging Contaminants**, v. 10, n. 3, p. 100305, set. 2024.

LI, J. et al. Correlation of Ruminal Fermentation Parameters and Rumen Bacterial Community by Comparing Those of the Goat, Sheep, and Cow In Vitro. **Fermentation**, v. 8, n. 9, p. 427, 28 ago. 2022.

MAY, H. D.; WU, Q.; BLAKE, C. K. Effects of the Fusarium spp. mycotoxins fusaric acid and deoxynivalenol on the growth of Ruminococcus albus and Methanobrevibacter ruminantium. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 8, p. 692-699, ago. 2000.

MCDOUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948.

SAKITA et al. Treating tropical grass with fibrolytic enzymes from the fungus Trichoderma reesei: Effects on animal performance, digestibility and enteric methane emissions of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 286, p. 115253, 1 abr. 2022.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 11, p. 2980-2991, 1 nov. 1994.

WESTLAKE, K.; MACKIE, R. I.; DUTTON, M. F. In vitro metabolism of mycotoxins by bacterial, protozoal and ovine ruminal fluid preparations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 25, n. 1-2, p. 169-178, ago. 1989.