



## Implementação da metodologia de produção de gás *in vitro*

Carolina Raquel Almeida Dias

### **Orientadores**

Professor Doutor António Manuel Moitinho Nogueira Rodrigues

Dra. Ana Paula Portugal

Relatório de apresentado à Escola Superior de Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor António Moitinho Rodrigues, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

Novembro de 2020



## Agradecimentos

Ao concluir a licenciatura com a elaboração deste trabalho, resta-me expressar o meu agradecimento a todas as pessoas que de algum modo contribuíram para a sua realização.

Ao meu orientador Professor Doutor António Moitinho Rodrigues, pela prontidão, disponibilidade e toda ajuda durante este processo.

À Dra. Ana Paula Portugal um enorme obrigada por tudo aquilo que me ensinou, pela paciência, mas principalmente por todo o apoio durante o estágio e realização deste relatório

A todos os funcionários do departamento de nutrição animal, por me receberem tão bem e pela disponibilidade que apresentaram sempre que necessitei de ajuda. Em especial à Mestre Kátia Paulos e ao Engenheiro João Costa por todo o apoio e companheirismo.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer à minha família e amigos pelo apoio incondicional que me deram, especialmente aos meus pais por tornado tudo isto possível.



## **Resumo**

Com a atual preocupação da população pelo aquecimento global e consequentemente pelo meio ambiente, e sendo o gás metano (CH<sub>4</sub>) um gás com efeito de estufa, houve a necessidade implementar métodos que estudassem/previssem as emissões de metano, já que uma importante fonte de emissão deste gás são os ruminantes.

Este trabalho teve como objetivo a implementação de um novo método de produção de gás *in vitro* (IVGPT) no laboratório de Metabolismo Lipídico no Instituto Nacional de Investigação Animal e Veterinária - polo de Santarém, antiga Estação Zootécnica Nacional. Para além de ser estudado o método e as formas de como o adaptar ao laboratório, foi estudado também o efeito de um aditivo alimentar na produção de gás, sendo este os taninos.

O estudo indicou que as amostras com tratamento de taninos apresentaram menor produção de gás e de metano do que as amostras sem taninos.

## **Palavras chave**

Metano; gás com efeito de estufa; ruminantes; IVGPT.



## **Abstract**

With the current concern of the population for global warming and consequently for the environment, and with methane (CH<sub>4</sub>) being a greenhouse gas, there was a need to implement methods that could study / predict methane emissions, since an important source of emission of this gas are ruminants.

This work aimed to implement a new *in vitro* gas production technique (IVGPT) in the Lipid Metabolism laboratory. In addition to studying the method and ways of adapting it to the laboratory, the effect of a food additive(tannins) on gas production was also studied.

Regarding the study of the effect of a food additive, it indicated that the samples, with a tannin treatment, had less gas and methane production than the samples without tannins.

## **Keywords**

Methane; greenhouse gas; ruminants; IVGPT



# Índice geral

1. Introdução .....	1
2. Revisão bibliográfica.....	2
2.1. Produção de metano pelos ruminantes .....	2
2.1.1. Fatores que o influenciam .....	2
2.1.2. Questão zootécnica .....	3
2.1.3. Questão ambiental.....	4
2.2. Técnicas utilizadas para a medição de emissões de metano .....	4
2.2.1. Técnicas <i>in vitro</i> de produção de gás.....	4
2.2.2. Câmara respiratória.....	6
2.2.3. Técnica do marcador hexafluoreto de enxofre (SF <sub>6</sub> ) .....	7
2.2.4. Técnicas de análise de composição do gás .....	8
3. Material e Métodos .....	8
3.1. Fermentação ruminal <i>in vitro</i> e Determinação de ácidos gordos voláteis .....	8
3.2. Métodos cromatográficos .....	10
3.2.1. Determinação/quantificação de metano.....	10
3.2.2. Determinação dos ácidos gordos voláteis.....	12
3.3. Análise estatística .....	12
4. Apresentação e discussão de resultados.....	13
5. Considerações finais .....	16
6. Bibliografia .....	17
7. Anexos.....	19



## Índice de figuras

<b>Figura 1-</b> Demonstração da produção de metano entérico Fonte: FAO, 2020a.....	2
<b>Figura 2-</b> Partição da energia alimentar nos ruminantes. Destacam-se as perdas de energia nas caixas à esquerda da figura. Fonte: McDonald et al. (2011) .....	3
<b>Figura 3-</b> Equipamento do método de produção de gás in vitro. Fonte: ANKOM.....	6
<b>Figura 4-</b> Exemplo do método de Câmara respiratória. Fonte:Google.....	7
<b>Figura 5-</b> Ilustração do método Marcador SF6. Fonte: (Storm et al., 2012) .....	8
<b>Figura 6-</b> Fermentador pronto a incubar .....	9
<b>Figura 7-</b> Amostra para ácidos gordos voláteis .....	10
<b>Figura 8-</b> Seringa utilizada nas injeções.....	11
<b>Figura 9-</b> Exemplo de Fermentador com septo integrado "pescoço". Fonte: ANKOM .....	13



## Lista de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Condições cromatográficas .....	10
<b>Tabela 2</b> -Diluições para curva de calibração.....	11
<b>Tabela 3-</b> Condições cromatográficas .....	12
<b>Tabela 4-</b> Análise de variância – resultados obtidos com e sem a adição de taninos. .....	14
<b>Tabela 5-</b> Coeficiente de correlação .....	15
<b>Tabela 6</b> - Preparação de soluções diluídas (em balão de 25 mL) a partir a solução stock de 50 mM.....	21



## Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

AGV- Ácidos gordos voláteis

C2 – Ácido acético

C3 – Ácido propiónico

C4 – Ácido butírico

CH<sub>4</sub> – Metano

CO<sub>2</sub> - dióxido de carbono

FTIR - Espectroscopia de absorção infravermelha com transformada de Fourier

GC- Cromatografia gasosa

GC-FID –Cromatografia gasosa por detetor de ionização de chama

GSB - Produção de gás sem brancos

IVGPT - Técnicas de produção de gás *in vitro*

METSB - Produção de metano sem branco

N<sub>2</sub> – Azoto

RCF- Força centrífuga relativa (FCR), ou RCF

SAS - Statistical Analysis System

SF<sub>6</sub> - Hexafluoreto de enxofre

TAGV - Total de ácidos gordos voláteis

TDL - Espectroscopia de absorção de laser de díodo ajustável