



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE MORINGA OLEÍFERA (*Moringa oleífera Lam.*) SOBRE OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL “*IN VITRO*”

Luís Ernesto Ferronato Porto

Dourados - MS

Outubro/2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE MORINGA OLEÍFERA (*Moringa oleífera Lam.*) SOBRE OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL “*IN VITRO*”

Acadêmico: Luís Ernesto Ferronato Porto

Orientador: Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior

Coorientador: Msc. Aylpy Renan Dutra

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia

Dourados - MS

Outubro/2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Z27a Porto, Luís Ernesto Ferronato

Análise de dados com medidas ultrassonográficas repetidas em bovinos de corte. [recurso eletrônico] / Luís Ernesto Ferronato Porto. -- 2022.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fernando Miranda de Vargas Junior.

TCC (Graduação em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2022.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Aditivos. 2. Compostos bioativos. 3. Modulador ruminal. 4. Nitrogênio amoniacal. I. de Vargas Junior, Fernando Miranda. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

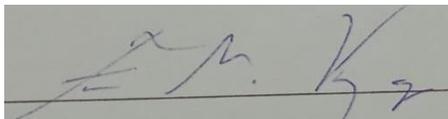
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Efeitos do extrato aquoso de moringa oleífera (*Moringa oleífera* Lam.) Sobre os parâmetros de fermentação ruminal “*in vitro*”.

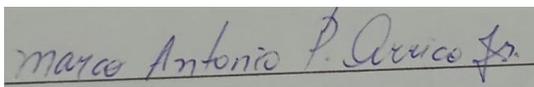
AUTOR: Luís Ernesto Ferronato

ORIENTADOR: Fernando Miranda de Vargas Junior

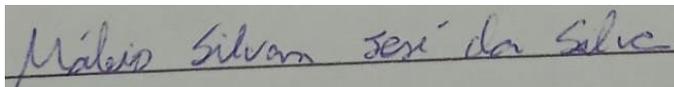
Aprovado como parte das exigências para a obtenção do grau de bacharel em **ZOOTECNIA** pela comissão examinadora.



Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior
(Orientador)



Prof. Dr. Marco Antônio Previdelli Orrico Junior
(Membro)



Prof. Dr. Mábio Silvan José Da Silva
(Membro)

Data de realização: 31 de outubro de 2022



Prof. Dr. Rodrigo Garofallo Garcia
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

DEDICATÓRIA

A Deus pelo dom da vida!

*Aos meus pais, Odete Maria Ferronato e Onorail Jerônimo Porto,
a minhas irmãs, sobrinha e toda minha família pela inspiração,
pelos bons exemplos, palavras de afago e experiências para mim
transmitidas até este momento.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, poder sempre escolher a melhor maneira de evoluir como ser humano e pelas pessoas incríveis que colocou na minha vida, assim fazendo o profissional que busco me tornar.

A minha Mãe, Odete Maria Ferronato que sempre fez tudo ao seu alcance para me educar e fazer com que eu busque conhecimento e me formar, por me demonstrar a fé e os ensinamentos cristãos, por me dar aspectos da sua personalidade que hoje vejo como uma das minhas maiores capacidades que é ser forte diante de qualquer divergência, não ter medo de ser resistência e me fazer ser ouvido por todos. A meu pai, Onorail Jerônimo Porto, pelas experiências vividas no dia a dia, por me ensinar aquilo que estava ao seu alcance e sempre buscou estar presente na minha vida. Por todo amor e carinho que demonstram por mim. A minhas irmãs que me ajudaram em muitos momentos. A minha sobrinha Maria Clara que é uma fonte de inspiração para que eu siga sempre no melhor caminho. Amo vocês

A meu grande amor e fonte de inspiração Carolina Martins de Moraes, que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis e sempre me deu forças e acreditou em mim, obrigado por me ouvir todos os dias, por todas as risadas e carinhos, com você sou um homem melhor. Eu te amo.

Aos meus grandes amigos e sócios da PaJ Enterprises: Augusto Bevilacqua, Danilo Eberhart, Éric Renan Zancanaro e Luan Porto Farias, que foram essenciais para minha graduação me acompanhado todos os dias, sendo exemplos e referências cada um em um aspecto distinto, obrigado por sempre me ouvirem sobre coisas que por muitas vezes não fazem sentido algum, a amizade de vocês me fez mais sociável e hoje posso me comunicar melhor, que sempre possamos fazer parte da vida uns dos outros

Aos meus amigos de graduação em especial Alexandra Oliveira, Bruceli Pereira, João Paulo Fraga, e a todos os colegas da turma XI que me ajudaram e conviveram comigo durante esses anos, obrigado por todos momentos que passamos juntos, espero que essa amizade sempre se mantenha.

Ao grupo PET/ZOOTECNIA pela bolsa e ao Prof. Tutor Rodrigo Garofallo Garcia pelos ensinamentos adquiridos e palavras que hoje eu repito com afinco, pelas conversas e confiança a mim passada, pela concessão de bolsa durante toda a minha graduação. Obrigado aos amigos que pude fazer dentro deste grupo que levarei pela minha vida sempre com muita admiração e respeito.

Ao Grupo de pesquisa OVINOTECNIA pelas oportunidades durante a graduação de estar participando das atividades, pelas experiências e conhecimentos adquiridos. Obrigado aos colegas que me ajudaram com a realização deste trabalho, em especial ao meu amigo e coorientador Aylpy Renan Dutra você me ensinou muito de zootecnia.

A meu orientador Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior, por colaborar com minha formação, com todo conhecimento desigual que o senhor possui e sempre se preocupar com o meu aprendizado.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE TABELAS.....	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO.....	10
REVISÃO DE LITERATURA	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Equivalência da ingestão EAM comparada com outros alimentos.....	14
Figura 2. Gráfico de DEGMS (%) dos tratamentos principais em função dos tempos de incubação.....	21
Figura 3. Gráfico de concentração de N-NH ³ (mg/dl) em função dos tempos de incubação.....	22
Figura 4. Gráfico de pH em função de diferentes doses de EAM e LAS e tempo.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Experimentos com EAM em ruminantes.....	16
Tabela 2. Composição centesimal dos substratos utilizados	18
Tabela 3. Médias de degradabilidade da matéria seca (%) em função das doses de EAM e LAS e tempos de incubação.....	20
Tabela 4. Médias de N-NH ³ (mg/d Médias de concentração de N-NH ³ (mg/dl) em função das diferentes doses de EAM e Lasalocida Sódica (AD) e diferentes relações volumoso:concentrado)	23
Tabela 5. Média de pH em função das doses de EAM e LAS e diferentes relações volumoso:concentrado.....	23
Tabela 6. Média de CH ⁴ (%) em função das doses de EAM e LAS nas diferentes relações volumoso:concentrado.....	24

RESUMO

Nos últimos anos, têm crescido o interesse dos nutricionistas de ruminantes em substituir os ionóforos comerciais por aditivos (ou extratos) oriundos de plantas. Estes aditivos são constituídos por diversos componentes bioativos oriundos do metabolismo secundários das plantas, os quais na maioria das vezes apresentam ação antimicrobiana. Por conta disso, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes doses de extrato aquoso da moringa EAM (*Moringa oleífera Lam.*) associadas com diferentes relações volumoso:concentrado em substituição à lasalocida sódica, sobre os seguintes parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*: pH, produção de metano CH⁴ (%), nitrogênio amoniacal N-NH³ (mg/dl) e degradabilidade da matéria seca DEGMS (%). Utilizou-se um delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 4x3x6+1, sendo quatro doses de moringa (0; 2; 4 e 6µl) como fator principal, três relações volumoso:concentrado (80:20; 50:50 e 20:80) como fator secundário, seis tempos de incubação (0; 3; 6; 12; 24 e 48 horas) como fator terciário e um tratamento adicional (LAS; 0,00016g de lasalocida sódica) O processo de incubação *in vitro* foi feito em tubos de ensaio (16x150mm) contendo 100mg de substrato com seus respectivos níveis de volumoso:concentrado, EAM e lasalocida, e 10ml de inóculo (2ml de líquido ruminal e 8ml de solução tampão). Este processo se repetiu em cinco rodadas distintas em um banho-maria a 39°C, onde cada rodada representou um bloco. Os efeitos das doses, relação volumoso:concentrado e tempos de incubação foram verificados através da análise de variância com o auxílio do software R, respeitando-se as interações significativas que poderiam existir entre os fatores a 5% de probabilidade. A partir da hora 6 de incubação, a lasalocida sódica juntamente com a dose 0µl de EAM aumentaram a DEGMS em comparação aos demais tratamentos (P<0,05). Houve efeito quadrático negativo dos tempos de incubação dentro dos tratamentos 0µl de EAM e LAS, enquanto que na dose 6µl de EAM, houve efeito linear decrescente do tempo sobre a DEGMS. Os valores de N-NH³ não diferiram entre as doses de EAM e LAS. Contudo, dentro das diferentes relações volumoso:concentrado, as doses de EAM resultaram em valores diferentes de N-NH³. O tempo de incubação não influenciou nos valores de N-NH³. O pH apresentou efeito quadrático (negativo ou positivo) em função do tempo de incubação. O metano não diferiu entre as doses de EAM e LAS, e as diferentes relações volumoso:concentrado (P>0,05). Neste estudo, as doses de moringa não substituíram a lasalocida sódica, pois reduziram a degradabilidade da matéria seca e a produção de nitrogênio amoniacal.

Palavras-chave: aditivos, compostos bioativos, modulador ruminal, nitrogênio amoniacal.

ABSTRACT

In recent years, ruminant nutritionists have grown interested in replacing commercial ionophores with plant-derived additives (or extracts). These additives are made up of several bioactive components from the secondary metabolism of plants, which in most cases have antimicrobial action. Therefore, the objective was to evaluate the effects of different doses of aqueous extract of moringa EAM (*Moringa oleifera* Lam.) associated with different forage:concentrate ratios in substitution of sodium lasalocid, on the following parameters of in vitro ruminal fermentation: pH, CH₄ methane production (%), N-NH₃ ammonia nitrogen (mg/dl) and DEGMS dry matter degradability (%). A randomized block design was used in a 4x3x6+1 factorial arrangement, with four doses of moringa (0; 2; 4 and 6µl) as the main factor, three forage:concentrate ratios (80:20; 50:50 and 20:80) as a secondary factor, six incubation times (0; 3; 6; 12; 24 and 48 hours) as a tertiary factor and an additional treatment (LAS; 0.00016g of lasalocid sodium). test tube (16x150mm) containing 100mg of substrate with their respective levels of roughage: concentrate, EAM and lasalocid, and 10ml of inoculum (2ml of ruminal fluid and 8ml of buffer solution). This process was repeated in five different runs in a water bath at 39°C, where each run represented a block. The effects of doses, forage:concentrate ratio and incubation times were verified through analysis of variance with the aid of the R software, respecting the significant interactions that could exist between the factors at 5% probability. From the 6th hour of incubation, sodium lasalocid together with the 0µl dose of EAM increased DEGMS compared to the other treatments (P<0.05). There was a negative quadratic effect of incubation times within the 0µl EAM and LAS treatments, while at the 6µl EAM dose, there was a decreasing linear effect of time on DEGMS. N-NH₃ values did not differ between EAM and LAS doses. However, within the different roughage:concentrate ratios, the ADE doses resulted in different values of N-NH₃. The incubation time did not influence the N-NH₃ values. The pH showed a quadratic effect (negative or positive) as a function of incubation time. Methane did not differ between EAM and LAS doses, and the different roughage:concentrate ratios (P>0.05). In this study, moringa doses did not replace sodium lasalocid, as they reduced dry matter degradability and ammoniacal nitrogen production.

Keywords: additives, bioactive compounds, rumen modulator, ammonia nitrogen.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o agronegócio no Brasil passou por diversas mudanças, as mais importantes delas foram o aumento da utilização de tecnologias nos diversos setores produtivos. A eficiência em produzir maior quantidade de alimento em área igual ou menor, não tendo a necessidade de abertura de novas áreas cultiváveis e o aumento das medidas sustentáveis e sociais, tudo isso vem tornando o Brasil conhecido no mundo todo como o celeiro do mundo, por sermos responsáveis por alimentar um quinto da população mundial.

A pecuária no Brasil teve como base o sistema extensivo, com os animais soltos em grandes áreas se alimentando apenas de capim, atualmente a maioria dos animais continuam a ter acesso ao pasto a maior parte de sua vida, porém os animais são apresentados a novos produtos, como Suplementos alimentares, sais minerais, vermífugos, adubo para as pastagens. Entretanto, a preocupação com o uso de antibióticos na alimentação animal, vem crescendo muito, pois são moléculas que são excretadas no leite e depositadas na carne, sendo assim consumidas, juntamente com a resistência dos microorganismos por essas moléculas, vários países tem o interesse e já sinalizaram que iram proibir e restringir o uso de Ionóforos na alimentação animal.

A utilização de aditivos iniciou com produtos simples sendo incluídos ao sal branco que os animais recebiam e esses aditivos tem diferentes funções no organismo, os mais estudados e avaliados são os prebiótico, probióticos e simbióticos. Para os ruminantes são muito efetivos pois a maior parte dos nutrientes são oriundo da fermentação ruminal. Com o intuito de aumentar o desempenho produtivo se busca em plantas já conhecidas, compostos que tem o efeito de modular a fermentação ruminal.

A *Moringa oleífera* Lam. é muito consumida e utilizada em diversos preparos no mundo todo, por ser uma fonte proteica e resistir aos mais diversos climas. Por também ser rica em diversos metabolitos secundários que seus efeitos ainda não são claros na alimentação de ruminantes. Criou-se a hipótese de utilizar a um extrato aquoso das folhas de moringa, as folhas são onde se concentram os metabolitos, e a água foi o solvente escolhido por ser o método mais simples e prático e em tese capaz de extrair os compostos desnecessários para ter o efeito de modulador ruminal, podendo atuar como bactericida nas bactérias gram. positivas e patogênicas, tendo efeito similar aos ionóforos sendo neste estudo comparado com a lasalocida.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do uso do extrato aquoso de *Moringa oleífera* Lamarck como aditivo em incubação *in vitro* comparando com a lasalocida sódica, sobre parâmetros fermentativos ruminal em diferentes relações concentrado:volumoso.

REVISÃO DE LITERATURA

Criação de ruminantes no país

A população de bovinos no Brasil de acordo com a ABIEC (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne) é a segunda maior do mundo, com cerca de 196,4 milhões de cabeças, ficando atrás apenas da Índia, sendo está uma criação não produtiva para carne. Da população de bovinos do Brasil, foram abatidos um total de 39,1 milhões de cabeças, onde mais de 25% foram destinados à exportação, fazendo com que houvesse um aumento no valor das carcaças comercializadas (Beef Report, 2022).

Nos últimos anos, mesmo com um aumento no peso das carcaças comercializadas, houve uma diminuição das áreas de pasto com uma taxa de lotação atual de 1,2 cab/ha e lotação de 0,9UA/ha. Os dados demonstram que mesmo com uma queda do produto interno bruto PIB do Brasil, o PIB pecuário teve um aumento na sua representatividade de 8,4 para 10%, o que evidencia a importância da pecuária para a economia do país (Beef Report, 2021).

Com base nos dados expostos, as técnicas para a melhoria do sistema produtivo de ruminantes abrangem o melhoramento genético, manejo sanitário rigoroso, bem estar e adequação na nutrição, por meio de manejo eficiente de forragens, conservação de alimento durante a sazonalidade e utilização de aditivos moduladores da fermentação ruminal (Lemos, 2013).

Uso de moringa na alimentação

A Moringa é uma planta nativa da Índia que pode ser encontrada por diversos países, principalmente nos subdesenvolvidos, pela sua adaptação em diversas condições climáticas, solos áridos e com baixa fertilidade (Olson & Fahey, 2011). A Moringa pertence a um único gênero, da ordem *Papaverale*, família das *Moringácea* que pode ser encontrada em 14 espécies diferentes, a espécie mais conhecida é a *Moringa oleífera Lam.* (Anwar et al., 2007).

No Brasil a Moringa é uma planta alimentícia não convencional (PANC) perene de médio porte, da qual pode alcançar 12m de altura, com tronco estreito de 10 a 30 centímetros de diâmetro com cascas de cortiça branqueada, troca suas folhas de modo anual e sua copa é aberta em forma de sombra (Lorenzi et al., 2002). Por ser uma planta partilhada por muitas regiões e culturas ganhou diversos nomes populares como: Quiabo de quina, Lírio, Cedro branco e meramente Moringa que acaba sendo diferenciada conforme a finalidade de uso (Ferreira et al., 2008).

As flores tem formato de panícula e fazem fecundação cruzada por serem alógama, são comestíveis, mas devem passar por processos de cocção e ser cozidas, fritas e misturadas a outros alimentos e muitas vezes é utilizada para fabricação de medicamentos (Gualberto et

al., 2014).

O valor nutritivo da Moringa é muito conhecido pelo mundo e segundo Silva (2005) ela é conhecida como “a melhor amiga da mãe” por muitas comunidades locais, pela sua diversidade de utilização e de produtos a figura 1 compara 1,0 grama de alguns alimentos usados comumente na alimentação a 1,0 grama de folhas de Moringa. As folhas e semente são onde contém a maior concentração de aminoácidos essenciais, que suprem a exigência de proteína para crianças de 2 a 5 anos de idade por recomendação da FAO/WHO/ONU, e a composição das folhas é similar a todos os aminoácidos essenciais da soja (Vieira et al, 2018).



Figura 1. Equivalência da ingestão de 1,0 grama de folhas de *Moringa oleífera* Lam. comparada com outros alimentos (adaptado de Silva, 2005).

Uso de Moringa como modulador de fermentação ruminal

A Moringa foi utilizada por ser uma planta com um conhecido potencial de ser utilizada na produção animal por ser uma planta já muito utilizada na alimentação humana não apresenta toxicidade. Seu potencial medicinal deriva da presença de metabolitos secundários como ácidos fenólicos, alcaloides, taninos, flavonoides, esteroides, saponinas, cumarinas, quinonas glicosinolatos e isotiocianatos e resinas (Anwar et al., 2007; Brunelli et al., 2010). Para os ruminantes estes compostos vão atuar sobre o crescimento dos protozoários, fungos e bactérias ruminais, alterando os produtos finais da fermentação, como a amônia e ácidos graxos voláteis (AGV), podendo melhorar o desempenho e eficiência dos animais. Os principais mecanismos de ação dos metabolitos secundários são fluidificação e expansão das membranas celulares, citotoxicidade pelo bloqueio dos canais de cálcio e formação de compostos irreversíveis (Bodas et al, 2012).

As moringas apresentam altos níveis de polifenóis totais, quando passam por algum processo de cocção (medidos como equivalentes de ácido gálico), chegando a 260mg/100g; antioxidantes totais, e segundo Lako et al, (2007) o teor de flavonóis também foi determinado, sendo encontrado um valor de 100mg/100g para quercitina.

Vários estudos estão sendo realizados para que se possa medir e comparar os efeitos dos extratos de Moringa sob parâmetros de fermentação ruminal. Medir o potencial destes extratos dependem do método de extração, dosagem e a concentrações de metabolitos (Benchaar et al., 2008; Elghandour et al., 2018).

A utilização de experimentos *in vitro* facilita e simplifica estes estudos pela rapidez, repetibilidade, diminuição do uso de animais e custos (Aderinboye et al., 2016). A tabela 1 apresenta trabalhos que demonstram os efeitos da Moringa em experimentos *in vitro*, estes trabalhos tiveram doses e análises realizadas semelhantes, porem foram realizados em locais e com características distintas.

Tabela 1. Experimentos com extratos aquosos da folha de *Moringa oleífera* em ruminantes (adaptado de Oliveira, 2020).

Dieta experimental	Dosagem	Resultados	Autores
Aveia, soja, cevada, trigo, melão e milho	0, 0,6, 1,2 e 1,8 mL/g de MS da dieta	< CH ⁴ , >pH, >AGCC e ≠ Digestibilidade da MS	Parra-Garcia et al., 2019
Aveia, soja, cevada, farelo de trigo, milho, melão e diferentes níveis de cacto.	0, 0,6, 1,2 e 1,8 mL/g de MS da dieta	< CH ⁴ , >CO ₂ e ≠pH	Elghandour et al., 2018
75% de forragem e 25% de concentrado	0, 0,6 e 1,8 mL/g de MS da dieta	> GP, ≠ pH e degradabilidade da MS	Pedraza- Hernández et al., 2019
Trevo-do-egípcio, milho, farelo de soja farelo de trigo	0, 10, 20 e 40 mL /ME40	< CH ⁴ , > Ingestão de nutrientes, na digestibilidade de MO/MS, carboidratos não estruturais, FDN, hemicelulose, celulose e ≠ pH	Kholif et al., 2018
Trevo-do-egípcio, milho, farelo de soja farelo de trigo.	0, 10, 20 e 40 mL /ME40	< ácidos graxos saturados, > de CLA e ácidos graxos insaturados.	Kholif et al., 2019

> = Aumento; < Diminuiu e ≠ Não houve diferença significativa.

MATERIAL E MÉTODOS

O referente estudo se desenvolveu no Laboratório de Manejo de Forragens e Resíduos Agropecuários pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, localizada no município de Dourados, a 230 km da capital Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

As coletas da *Moringa* foram realizadas pela manhã, na estação de inverno, de diversas plantas adultas de *Moringa oleífera Lam*, foram coletadas as folhas compostas de *Moringa Oleífera*, sendo desprezado a haste principal das folhas. As amostras foram congeladas frescas em freezer a -4 °C e descongeladas em refrigerador a 2 °C para serem então utilizadas.

O extrato aquoso de *Moringa* (EAM) foi preparado conforme adaptação da metodologia de Ferris e Zheng (1999). O material coletado foi fatiado em um tamanho menor que 10mm de diâmetro e misturado em bécker com água destilada previamente aquecida a 95°C na proporção de 1g de matéria seca de folhas fresca de *Moringa oleífera* para cada 10ml

de água destilada. Esta mistura permaneceu em temperatura ambiente durante 24 horas. Após este tempo, a mistura foi filtrada em um filtro Wathman n° 1 e estocada em refrigerador a 2°C até sua utilização no ensaio *in vitro*.

Utilizou-se um delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 4x3x6+1, sendo quatro doses de EAM (0; 2; 4 e 6µl) como fator principal, que foram calculadas com base no consumo de matéria seca e convertidos para a dose de substrato, três relações volumoso:concentrado (80:20; 50:50 e 20:80) como fator secundário, seis tempos de incubação (0; 3; 6; 12; 24 e 48 horas) como fator terciário e um tratamento adicional (LAS; 0,00016g de lasalocida sódica). O processo de incubação *in vitro* foi feito em tubos de ensaio (16x150mm) contendo 100mg de substrato com seus respectivos níveis de volumoso:concentrado, EAM e lasalocida, e 10ml de inóculo (2ml de líquido ruminal e 8ml de solução tampão). Este processo se repetiu em cinco rodadas distintas em um banho-maria a 39°C, onde cada rodada representou um bloco.

O líquido ruminal utilizado neste ensaio era oriundo de bovinos fistulados alimentados exclusivamente de pasto. A coleta de líquido ruminal foi feita de manualmente 30 minutos antes do início da incubação. Após a colheita por meio das cânulas, o líquido ruminal foi filtrado e armazenado em garrafa térmica pré-aquecida a 39°C até seu uso. Na tabela 2, encontram-se dispostos os substratos utilizados neste estudo e suas respectivas composições centesimais. Para sua utilização no processo de incubação, o substrato foi moído em moinho tipo Wiley com peneiras de crivos de 1 mm.

Tabela 2. Composição centesimal dos substratos utilizados

Ingredientes (%)	Relação Volumoso:concentrado		
	80:20	50:50	20:80
Feno	80	50	20
Milho	14,5	38,2	63,2
Farelo de soja	3,9	10,2	15,2
Mineral*	0,8	0,8	0,8
Carbonato de Cálcio	0,8	0,8	0,8
Sal comum*			

A solução tampão utilizada neste estudo foi composta por duas frações (A e B) em uma proporção de 1:5 para obter um pH final de 6,8 conforme a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Após a adição de substrato, aditivos e inóculo, os tubos receberam CO₂ por 5s. Posteriormente, todos os tubos de ensaio foram selados tampas de borracha e incubados em banho-maria a 39 °C durante 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Os tubos pertencentes à hora 0, foram apenas mergulhados em banho-maria, imediatamente abertos e levados ao freezer a -20°C a fim de interromper o processo de fermentação. Esses mesmos processos de abertura e congelamento foram realizados para os tubos dos demais horários.

As análises realizadas para avaliar o efeito das diferentes doses EAM em associação às diferentes relações volumoso: concentrado e em substituição à LAS foram: pH, nitrogênio amoniacal (N-NH³), degradabilidade da matéria seca (DEGMS) e produção de metano (CH⁴).

Para a produção de CH⁴ (%), utilizou-se apenas a hora 48. Para esta análise, os tubos permaneceram fechados e uma agulha acoplada a um analisador de gás automático foi inserida através da tampa de borracha. Quando a concentração de CH⁴ alcançou o pico, o valor foi anotado (GA - 21 Plus, da Madur Electronics).

Para as demais variáveis, os tubos foram descongelados a 2°C e posteriormente foram centrifugados a 1200RPM por 15 minutos, no intuito de separar a fração sólida da líquida. Para a análise de pH, utilizou-se um pHmetro de bancada (Ms Tecnopon modelo mPA210) em uma parte do líquido após a centrifugação. Após a determinação do pH, 2ml da fração líquida foi retirada e armazenada em eppendorfs para a determinação do N-NH³ (mg/dl) através do método de destilação a vapor proposto por Detmann et al. (2021).

Para a DEGMS, os tubos de ensaio foram levados à estufa de ventilação forçada a 65°C até atingir peso constante. Assim, determinou-se a degradabilidade da matéria seca através da seguinte fórmula:

$$(1) \quad \text{DEGMS (\%)} = 100 - (((\text{PIS-PFS})/\text{PIS}) * 100)$$

Onde: PIS: peso inicial do substrato (100mg); PFS: Peso final do substrato.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no software R a 5% de probabilidade, respeitando-se as interações significativas que poderiam existir entre os fatores estudados. Os efeitos dos tratamentos principais (EAM e LAS) foram comparados considerando a LAS um tratamento adicional e as doses de EAM o fatorial. As doses de EAM foram comparadas entre si através de regressão, quando diferenças significativas foram achadas pela ANOVA. Quando significativos, os efeitos das diferentes relações volumoso:concentrado foram comparados pelo teste Tukey e o fator tempo submetido à análise de regressão. A concentração de CH⁴ foi analisada em arranjo fatorial duplo, uma vez que para esta variável, utilizou-se apenas a hora 48.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a degradabilidade da matéria seca (DEGMS, %), observou-se que um mesmo comportamento entre os tratamentos em relação ao tempo de incubação. Como já esperado, houve um aumento da degradabilidade ao longo do tempo de incubação (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de degradabilidade da matéria seca (%).

Tempo	Tratamentos						Valor de P ⁵		
	0 ¹	2	4	6 ²	LAS ³	EPM ⁴	Trat	Tempo	Trat*Tempo
0	0	0	0	0	0	0			
3	14,93	7,99	12	10,62	4,4	1,79			
6	31,67	10,87	16,58	13,46	31,77	4,52			
12	35,14 ^a	13,54 ^{ab}	2,77 ^b	17,85 ^{ab}	30,45 ^a	4,57	<0,0001	<0,0001	<0,0001
24	21,46 ^b	10,76 ^b	8,16 ^b	9,62 ^b	49,98 ^a	7,89			
48	33,63 ^{ab}	16,22 ^{bc}	11,07 ^c	23,87 ^{bc}	49,91 ^a	7,90			

LAS: Lasalocida Sódica; Trat: Tratamento; os valores do tratamento adicional diferiram das diferentes doses de EAM pelo teste Tukey; 0: tratamento controle; 2: 2µl; 4: 4µl; 6:6µl;

¹y = -0,0218x² + 1,465x + 11,256; R² = 0,545;

²y = -0,0217x² + 0,9045x + 5,6911; R² = 0,633;

³y = -0,0454x² + 3,1717x + 1,8129; R² = 0,907;

⁴Erro padrão da média;

⁵Probabilidade pelo teste F.

As diferentes relações volumosas:concentrado não apresentaram efeito sobre a DEGMS. Os resultados da DEGMS observados neste estudo foram semelhantes de aos de Oliveira, 2020, Parra-Garcia et al., 2019, Kholif et al., 2019, que não observaram efeito positivo do EAM sobre a DEGMS. Em um estudo conduzido por Parra-Garcia et al., (2019). O EAM não afetou positivamente a fermentação ruminal, mas não interferiu na DEGMS, para a dose 0µ, 6µl e LAS.

Na figura 2 é possível observar que o tratamento LAS e 0µl resultaram em maior DEGMS com a partir de hora 6 de incubação. (P>0,05) já as diferentes doses de EAM não diferiram (P>0,05) para DEGMS, o que indica que o aumento nas doses não foi bem sucedido. A degradabilidade observada foi próxima a encontrada na literatura. Segundo Medjekal et al., (2017) o crescimento microbiano e a acessibilidade dos nutrientes que influencia na fermentação do substrato e sua degradação.

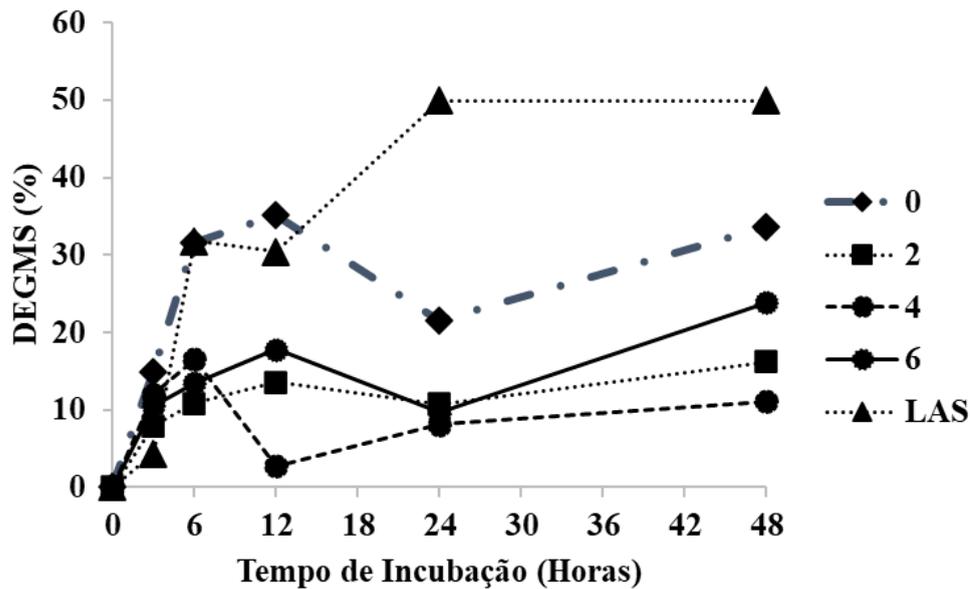


Figura 2. Gráfico de DEGMS (%) dos tratamentos principais em função dos tempos de incubação.

Como observado na figura 3, o $N-NH^3$ teve um aumento linear em função dos tempos de incubação. As concentrações encontradas estão próximas às encontradas por Detmann (2014) que sugere que acima de 8 mg/dl ocorre um aumento na degradação das fibras no rúmen, por apresentar maior quantidade de nutrientes para o crescimento microbiano.

Vários estudos vêm mostrando que níveis baixos, e às vezes médios, de metabólitos secundários em extratos fitogênicos têm efeitos positivos na fermentação e produtividade ruminal *in vivo* e *in vitro* em comparação com níveis altos (Salem et al., 2014). Maiores concentrações de metabólitos secundários, como ácidos fenólicos, alcalides, taninos, flavonoides, esteroides, saponinas, podem afetar negativamente a degradabilidade substratos ruminais por meio da ligação de enzimas microbianas McSweeney et al., (2001) ou diminuindo suas taxas de digestão (Bodas et al., 2012). A variação entre os resultados dos estudos pode estar relacionada ao local de cultivo da Moringa, método de preparo do extrato e concentração dos metabólitos secundários nos diferentes extratos.

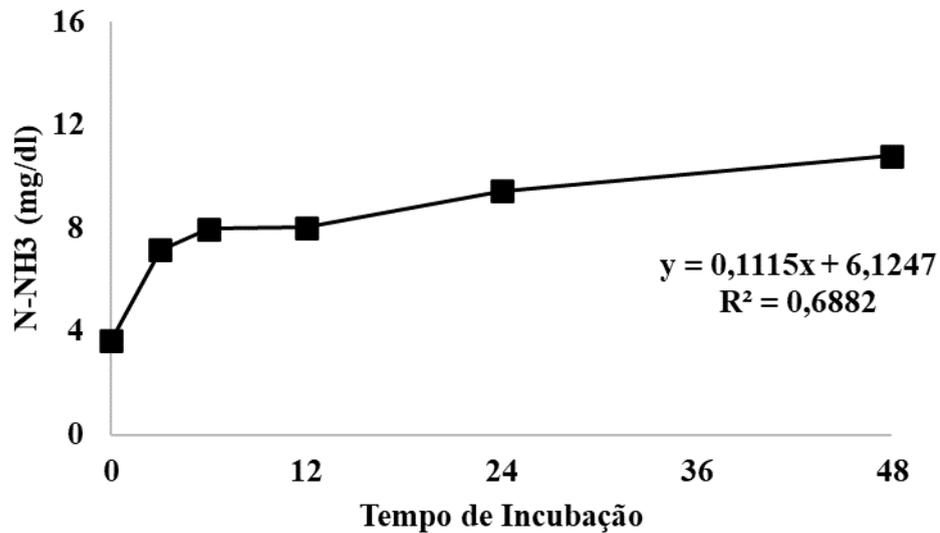


Figura 3. Gráfico de concentração de N-NH³ (mg/dl) em função dos tempos de incubação.

Para o N-NH³, não houve diferença significativa entre as relações volumoso:concentrado, houve efeito significativo para a produção de N-NH³ para o tratamento com maior dose de EAM (6). O menor valor de pH pode ter interferido, aumentando a concentração de N-NH³, onde a maior produção ocorreu com a relação 20:80, observou-se também regressões para as relações volumoso:concentrado, sendo, para 80:20 uma regressão linear, 50:50 e 20:80 regressões quadráticas, o maior valor de N-NH³ foi observado para o tratamento controle.

O uso dos taninos quando administrados corretamente, atuam como moduladores ruminais, proporcionando benefícios nutricionais ao animal Tabke et al., (2017). Pela capacidade de formação de complexos de taninos-proteínas no rúmen, resultando na diminuição da degradação da proteína em N-NH₃, conseqüentemente em aumento do fluxo de proteína para o intestino delgado Al-Dobaib, (2009). O complexo tanino-proteína ocorre devido a presença de grupos fenólicos onde a ligação pode ocorrer através dos grupos carbonil de peptídeos Bunglavan & Dutta, (2013). A principal influência nas proteínas está relacionada a capacidade destes compostos fenólicos em formar ligações de hidrogênios que são estáveis em pH 3,5 a 8 Jerónimo et al., (2016) e o pH ruminal (5,7 a 7,3) viabiliza estas ligações.

Tabela 4. Médias de concentração de N-NH³ (mg/dl) em função das diferentes doses de EAM e Lasalocida Sódica (AD) e diferentes relações volumoso:concentrado).

Relação V:C	Tratamentos (ul)*						Valor de P ⁴		
	0	2	4	6	LAS	EPM ⁵	Trat	Relação	Trat*Relação
80:20 ¹	13,25	8,59	6,29	5,15 ^b	9,47	1,3			
50:50 ²	16,65	6,63	5,21	3,39 ^b	9,06	2,28	<0,0001	0.5763	0.0043
20:80 ³	14,84	5,08	5,42	9,60 ^a	10,01	2,05			

*Os valores do tratamento adicional não se diferiram das diferentes doses de EAM.; 0: tratamento controle; 2: 2µl; 4: 4µl; 6:6µl;

¹y = -15,666x + 69,653; R² = 0,5915;

²y = 5,1184x² - 41,175x + 83,601; R² = 0,9626²;

³y = 2,056x² - 15,358x + 34,447; R² = 0,9181;

⁴Probabilidade pelo teste F;

⁵Erro padrão da média.

Os valores observados por Kholif, (2018) de concentração ruminal de N-NH³ variaram de 28,5 a 29,2 g/L, o que falha dentro da faixa 50mg/l relatada por Satter e Slyter (1974) para crescimento e atividade microbiana máxima. A falta de efeito na concentração de N-NH³ com a alimentação de extrato de Moringa é mais uma evidência de que os níveis de extrato de Moringa utilizados foram ótimos para a fermentação ruminal Kholif et al. (2019), que também observou uma diminuição na concentração ruminal de N-NH³ com a alimentação de folhas frescas de Moringa, como feno ou silagem em comparação com uma dieta controle, o que é interessante para diminuir as perdas de N-NH³.

A inclusão do EAM e LAS na incubação *in vitro*, não influenciou (P=0,6885) o pH. Para relação volumoso:concentrado também não houve diferença significativa (P=0,2073), visto na Tabela 4. No entanto, o valor do pH foi afetado pelo tempo de incubação *in vitro*, diminuindo de 7,67 para 6,84 (P <0,0001; Figura 4).

Tabela 5. Media de pH em função das doses de EAM e LAS e diferentes relações volumoso:concentrado

Relação	Tratamentos (µl)*						Valor de P ²		
	0	2	4	6	AD	EPM ¹	Trat	Relação	Trat*Relação
80:20	6,89	6,9	6,94	6,82	6,97	0,03			
50:50	6,8	6,83	6,84	6,87	6,86	0,01	0.6858	0.2073	0.9398
20:80	6,83	6,9	6,83	6,78	6,85	0,02			

*Os valores do tratamento adicional não se diferiram das diferentes doses de EAM.; 0: tratamento controle; 2: 2µl; 4: 4µl; 6:6µl;

¹Erro padrão da média;

²Probabilidade pelo teste F.

Assim como esperado, o EAM não interferiu no pH, podendo ter cooperado para um melhor desempenho dos microorganismos. Sabe-se que o pH ruminal é determinante para o perfil de nutrientes disponíveis para absorção, e os complexos tanino-proteína são estáveis em pH ruminal 6,5, segundo Jerónimo et al., (2016). Estes complexos dissociam-se em pH < 3,5 ou > 8, tornando-se disponível para utilização gástrica ou digestão pancreática. O EAM pode ter atuado nas bactérias Gram-positivas e patogênicas, que com seus metabolitos diminuem o pH ruminal (Bodas et al, 2012).

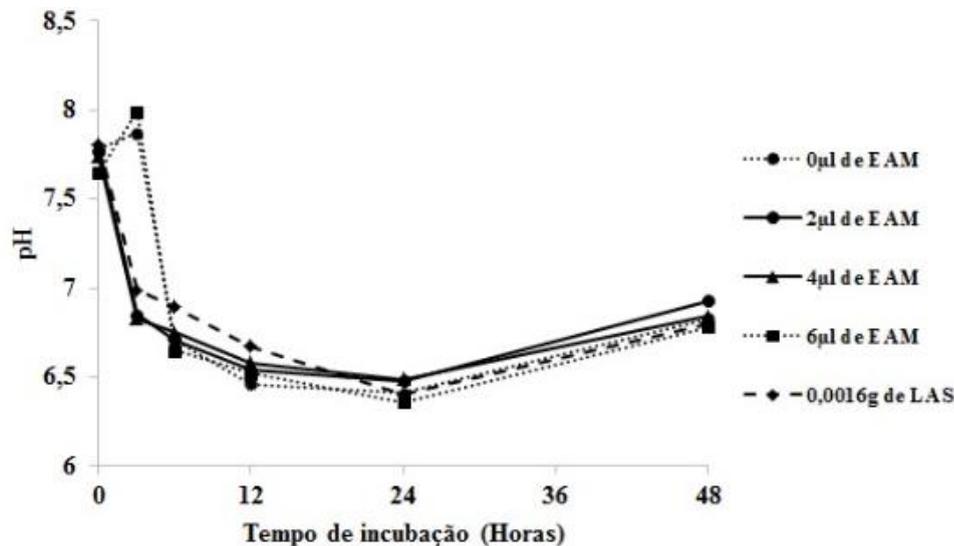


Figura 4. Gráfico de pH em função de diferentes doses de EAM e LAS e tempo.

Não houve efeito significativo ($P > 0,005$) para metano entre os tratamentos, e relações volumoso:concentrado ($P = 0,065$), não houve efeito estatístico ($P = 0,0635$) diferindo as diferentes doses de EAM e a lasalocida sódica.

Como dito anteriormente a moringa tem em suas folhas compostos fenólicos (taninos e saponinas) que estão presentes nos extratos em maior quantidade, estes apresentam efeito semelhante aos dos ionóforos (Stevanovic et al., 2018). Estes compostos agem sobre a microbiota do rúmen, disponibilizando de forma mais eficaz os metabólitos da degradação ruminal (Jayanegara et al., 2015), ou seja, diminuindo o gasto de energia em forma de metano. Por outro lado, autores atribuem efeitos negativos ao uso destes compostos fenólicos (Tabke et al., 2017), porém, o uso de níveis baixos ou moderados não produzirão efeitos adversos.

Tabela 6. Média de CH⁴ (%) em função das doses de EAM e LAS nas diferentes relações volumoso:concentrado.

Relação	Tratamentos (µl)*					Valor de P ²			
	0	2	4	6	AD	EPM ¹	Trat	Relação	Trat*Relação
80:20	0,54	0,38	0,68	1,19	0,59	0,15673			
50:50	0,77	0,64	0,72	0,89	0,89	0,04683	0.26	0.0651	0.314
20:80	0,91	1,09	1,11	0,95	0,2	0,04465			

*Os valores do tratamento adicional não se diferiram das diferentes doses de EAM.; 0: tratamento controle; 2: 2µl; 4: 4µl; 6:6µl;

¹Erro padrão da média;

²Probabilidade pelo teste F.

As pesquisas realizadas até o momento designam os efeitos da *Moringa oleifera lam.*, estão ligados aos metabolitos secundários, e assim como este trabalho, não identificam os compostos presentes no extrato e suas concentrações. Segundo Kholif et al, (2018) os animais alimentados com de 20 a 40ml de EAM obtiveram melhora no desempenho da fermentação ruminal e quantificaram taninos e fenólicos, sendo 2,75 e 6,0g por litro respectivamente de seu EAM.

CONCLUSÃO

O EAM não foi similar a lasalocida sobre os parâmetros fermentativos desejáveis. Os parâmetros fermentativos não foram afetados pelas relações volumoso:concentrado, a degradabilidade diminuiu com as doses de EAM, não reduziram o metano em comparação a lasalocida sódica.

A falta de uma análise de composição fitoquímica impossibilita garantir os níveis dos compostos necessários para que se possa comparar a moringa com a lasalocida sódica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC: **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**, [2022]. disponível em: <<http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>> Acesso em: julho 19, 2022.

ABIEC: **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**, [2021]. disponível em: <<https://drive.google.com/file/d/1-BE8JXsFQ9CW9FfIEoqoryU77uvwXCS/view>> Acesso em: julho 19, 2022.

ADERINBOYE, Y.; AKINLOLU, A. O.; ADELEKE, M. A.; NAJEEM, G. O.; OJO; V. O. A.; ISAH, O. A.; SLOVAK, O. J. B. In vitro gas production and dry matter degradation of four browse leaves using cattle, sheep and goat inocular. *J. Anim. Sci.*, v. 49, n. 1, p. 32- 43, 2016.

AL-DOBAIB, S. N. Effect of different levels of quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. *Animal Science Journal*. v. 5, p. 532-541, 2009.

ANWAR, F., LATIF, S., ASHRAF, M. & GILANI, A. H. Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2007.

BATISTA, L. S. **Flavonoides e mana oligossacarídeos em dietas para frangos de corte**. 2005. Dissertação (Especialização em Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BEEF REPORT: **Perfil da Pecuária no Brasil** [2021]. disponível em: <<https://drive.google.com/file/d/1-BE8JXs-FQ9CW9FfIEoqoryU77uvwXCS/view>> Acesso em: julho 19, 2022.

BEEF REPORT: **Perfil da Pecuária no Brasil** [2022]. disponível em: <<https://drive.google.com/file/d/1-BE8JXs-FQ9CW9FfIEoqoryU77uvwXCS/view>> Acesso em: julho 19, 2022.

BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; COLOMBATTO, D.; MCALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, v. 145, n. 1-4, p. 209-228, 2008.

BODAS, R.; PRIETO, N.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F. J.; LÓPEZ, S. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plants secondary metabolites. *Anim. F. Sc. and Tec.*, v. 176, p. 78-93, 2012.

BRUNELLI, M.; TAVECCHIO, C.; FALCIONI, R., FRAPOLLI, E.; ERBA, R.; IORI, M.; D'INCALC, I. The isothiocyanate produced from glucomoringin inhibits NF-kB and reduces myeloma growth in nude mice in vivo. *Biochemical Pharmacology*, v. 79, p. 1141-1148, 2010.

BUNGLAVAN, S. J., DUTTA, N. Use of tannins as organic protectants of proteins in

digestion of ruminants. **Livestock Science**. v. 4. p. 67-77, 2013.

DETMANN, E.; VALENTE, E. E. L.; BATISTA, E. D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, p. 141-153, 2014.

DETMANN, E.; SILVA, L. F. C.; ROCHA, G. C.; PALMA, M. N. N.; RODRIGUES, J. P. P. **Métodos para análise de alimentos. Instituto de ciência e tecnologia animal: Produção Independente**. Visconde do Rio Branco, v.1, 193p, 2021.

ELGHANDOUR, M. M. Y.; RODRÍGUEZ-OCAMPO, I. A. PARRA-GARCIA, A.Z. M. SALEM, R. GREINER, O.; MÁRQUEZ-MOLINA, M.; BARROS-RODRÍGUEZ, A.; BARBABOSA-PILEGO, B. Biogas production from prickly pear cactus containing diets supplemented with Moringa oleifera leaf extract for a cleaner environmental livestock production J. **Clean. Prod.**, v. 185, p. 547-553, 2018.

GUALBERTO, A. F., FERRARI, G. M., DE ABREU, K. M. P., DE LIMA PRETO, B., & FERRARI, J. L. Características, propriedades e potencialidades da moringa (Moringa oleífera Lam.): Aspectos agroecológicos. **Revista verde**, v 9, n.5, 2014.

FERREIRA, P. M. P., FARIAS, D. F., OLIVEIRA, J. & CARVALHO, A. F. U. Moringa oleifera: compostos bioativos e potencialidade nutricional. **Revista de Nutrição**, v.21, n. 4, p. 431-437. 2008.

FERRIS, H. & ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, n.3, 241p, 1999.

JAYANEGARA, A., GOEL, G., MAKKAR, H. P., BECKER, K. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. **Ani. Feed Sci. and Tech**. v. 209, p. 60-68, 2015.

JERÓNIMO, E., PINHEIRO, C., LAMY, E., DENTINHO, M. T., SALES-BAPTISTA, E., LOPES, O. S., CAPELA E SILVA, F. Tannins in ruminant nutrition: **Impact on animal performance**. 2016.

KHOLIF, A. E.; GOUDA, G. A.; ANELE, U. Y.; GALYEAN, M. L Extract of Moringa oleifera leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. **Small Rumin Res** v. 158, p. 69-75, 2018.

KHOLIF, A. E.; GOUDA, G. A.; GALYEAN, M. L. ANELE, U. Y.; MORSY, T. A. Extract of Moringa oleifera leaves increases milk production and enhances milk fatty acid profile of Nubian goats. **Agroforestry Systems**. v. 93, n. 5, p 1877-1886, 2019.

LAKO, J.; TRENERRY, V.C.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R., Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1727–1741. 2007.

LEMONS, F.K. **A evolução da bovinocultura de corte brasileira: elementos para a caracterização do papel da ciência e da tecnologia na sua trajetória de desenvolvimento.**

2013. p.64-80. Dissertação. (Mestrado em engenharia de produção) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

LORENZI, H., MATOS, F. J. & FRANCISCO, J. M. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2002.

MADRONA, G.S. **Estudo da extração/purificação do composto ativo da semente da Moringa oleífera Lam e sua utilização no tratamento de água de abastecimento**. 2009. Tese. (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Maringá, Maringá.

MCSWEENEY, C., PALMER, B., BUNCH, R., KRAUSE, D., Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. **J. Appl. Microbiol.** v. 90, p. 78–88, 2001.

MEDJEKAL, S.; BODAS, R.; BOUSSEBOUA, H.; LÓPEZ, S.; **Avaliação de três plantas medicinais quanto ao potencial de produção de metano, digestão de fibras e fermentação ruminal *in vitro***. Energia Procedia, p. 632-64, 2017.

OLIVEIRA, I.S.T. **Extratos Aquosos de Folhas Secas e Frescas de Moringa Sob Parâmetros de Fermentação Ruminal In Vitro**. 2020. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

OLSON, M.E. & FAHEY, J.W. Moringa oleifera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, 82, 1071-1082. 2011.

PARRA-GARCIA, A.; ELGHANDOUR, M. M. M. Y.; GREINER, R.; BARBABOSAPLIEGO; A.; CAMACHO-DIAZ, L. M.; SALEMET, A. Z. M. Effects of Moringa oleifera leaf extract on ruminal methane and carbon dioxide production and fermentation kinetics in a steer model. **Environ Sci Pollut Res**, v. 26, n. 15, p. 15333-15344, 2019.

PEDRAZA-HERNÁNDEZ, J. M.; ELGHANDOUR, M. M. Y.; KHUSRO; A.; CAMACHODIAZ, M. V., L. H; BARBABOSA-PLIEGO, A.; SALEMA, A. Z. M. Mitigation of ruminal biogases production from goats using Moringa oleifera extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment. **Jour. of Cl. Prod**, v. 234, p. 779-786, 2019.

PELL, A.N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W.C. Rates of digestion of feeds measured in vitro with computers. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference**, v.13, p.74-81, 1994.

SALEM, A.Z.M., KHOLIF, A.E., ELGHANDOUR, M.M.Y., BUENDÍA, G., MARIEZCURRENA, M.D., HERNANDEZ, S.R., CAMACHO, L.M., Influence of oral administration of Salix ba-bylonica extract on milk production and composition in dairy cows. **Ital. J. Anim. Sci.** v. 13, p. 10–14, 2014

SATTER, L.D., SLYTER, L.L., Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **Br. J. Nutr.** v. 32, p. 199–208, 1974.

SILVA, C. A., **Estudos aplicados ao uso da Moringa oleífera como coagulante natural para melhoria da qualidade de águas**. 2005. 18p. Dissertação. (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. 235 p. 2002, Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa.

STEVANOVIC, Z. D., BOŠNJAK-NEUMÜLLER, J., PAJIĆ-LIJAKOVIĆ, I., RAJ, J., VASILJEVIĆ, M. Essential Oils as Feed Additives—**Future Perspectives**. *Molecules*. v. 7, p. 1717, 2018.

VIEIRA, A. M. S.; AMBROSIO-UGRI, M. C. B.; NISHI, L.; SILVA, G. F.; BERGAMASCO, R. Potencial nutricional e aplicações da moringa na alimentação humana e animal. In: SILVA, G. F.; SANTANA, M. F. S.; LIMA, A. K. V. O.; BERGAMASCO, R.; PAIVA, P. M. G.; SANT'ANNA, M. C. S.; SERAFINI, M. R.; BERY, C. C. S. (eds.). **Potencialidades da Moringa oleifera Lam**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, 2018. 162-186 p.

TABKE M.C, SARTURI J.O, GALYEAN M.L, TROJAN S.J, BROOKS J.C, JOHNSON B.J, MARTIN J, BAGGERMAN J, THOMPSON A.J. Effects of tannic acid on growth performance, carcass characteristics, digestibility, nitrogen volatilization, and meat lipid oxidation of steers fed 86 steam-flaked corn-based finishing diets. *J of An Sci*. v. 11. p. 5124-5136, 2017.