

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós Graduação em Zootecnia



Dissertação

**Níveis de Inclusão do Coproduto da Vitivinificação Associado ao Zinco na
Dieta de Ovinos**

FLÁVIA PLUCANI DO AMARAL

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

A111n Amaral, Flávia Plucani do

Níveis de inclusão do coproduto da vitivinificação associado ao zinco na dieta de ovinos / Flávia Plucani do Amaral ; Cássio Cassal Brauner, Fernanda Medeiros Gonçalves, orientadores ; Marcio Nunes Corrêa, Francisco Augusto Burkert Del Pino, coorientadores. — Pelotas, 2016.
68 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Bagaço de uva. 2. Enzimas hepáticas. 3. Dieta de ovinos. 4. Intoxicação cúprica. 5. Ganho de peso. I. Brauner, Cássio Cassal, orient. II. Gonçalves, Fernanda Medeiros, orient. III. Corrêa, Marcio Nunes, coorient. IV. Pino, Francisco Augusto Burkert Del, coorient. V. Título.

CDD : 636.3

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Flávia Plucani do Amaral

**Níveis de Inclusão do Coproduto da Vitivinificação Associado ao Zinco na
Dieta de Ovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Produção animal: ênfase em nutrição de ruminantes).

Orientador: Dr. Cassio Cassal Brauner
Co-orientadores: Dra. Fernanda Medeiros Gonçalves
Dr. Marcio Nunes Corrêa
Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino

Pelotas, 2016

Banca examinadora: Dr. Cassio Cassal Brauner

Dra. Carolina Jacometo

Dra. Elisabeth Schwegler

Dr. Henrique Ribeiro Filho

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por ter guiado meus passos até a realização de um sonho profissional, tenho certeza que a minha fé me levará sempre para o caminho do progresso!

Agradeço aos meus amigos e familiares, pais Mauro e Vera Amaral, irmãs, sobrinhos e avó pelo carinho, apoio, compreensão em todas as etapas desta jornada. Pelo auxílio nos finais de semana no pavilhão de ovinos! Sempre uma surpresa boa demonstrando o reconhecimento do meu trabalho e dedicação! Agradeço eternamente!

Aos meus orientadores que oportunizaram e me confiaram à responsabilidade de trabalhar em equipe e desenvolver um projeto inovador, de potencial prático e científico. Agradeço toda a coordenação do NUPEEC e a Prof.^a Fernanda Medeiros Gonçalves pela atenção e orientação de sempre, em especial ao meu orientador Cassio Cassal Brauner! Obrigada!

Aos amigos, colegas colaboradores do NUPEEC e Núcleo GAPA por dedicarem seus esforços diariamente na rotina do experimento com os animais, e no planejamento de cada etapa realizada! Especialmente àqueles que abraçaram o Projeto de “corpo e alma” e fizeram acontecer: Lucas Hasse, Lucas Jackson, Maurício Cardozo, Monique Frata e ao meu colega Pós-Graduando Rodrigo Grazziotin! Muito Obrigada!

À Estância Guatambu por oportunizar a realização do Projeto nos cedendo os ovinos e o coproduto da vitivinificação! Além da confiança e receptividade do Sr. Valter José, colega e amigo Carlos Suñe e ao enólogo Javier González! Obrigada!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de efetuar meu mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico –Cnpq- pelo financiamento do projeto. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa.

RESUMO

AMARAL, Flávia Plucani do. **Níveis de Inclusão do Coproduto da Vitivinificação Associado ao Zinco na Dieta de Ovinos** 2016. 71p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O coproduto da vitivinicultura é uma alternativa de alimento volumoso, no entanto apresenta altos níveis do micro mineral cobre. Ovinos alimentados com dieta rica em Cu podem apresentar intoxicação cúprica cumulativa (ICC). Os objetivos deste trabalho foram avaliar os níveis de inclusão do coproduto da vitivinificação em substituição ao volumoso na dieta e a eficácia do zinco na prevenção da intoxicação cúprica em ovinos. Utilizaram-se para o estudo 34 cordeiras fêmeas mestiças das raças Texel e Corriedale. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, os animais foram divididos em 4 grupos de 2 repetições. Os tratamentos constaram de quatro níveis de substituição do feno de Jiggs (*Cynodon dactylum*) pelo coproduto da vitivinicultura na matéria seca total (MST), foram eles: Grupo Controle (GC): dieta basal + 0% de coproduto na MST; Trat 1: dieta basal + 10% de coproduto na MST; Trat 2: dieta basal + 20 % de coproduto na MST; Trat 3: dieta basal + 30 % coproduto na MST. As dietas foram ajustadas para apresentarem a mesma relação de Zn 6:1 Cu da dieta basal. Semanalmente era realizada a pesagem individual dos animais e coleta de sangue das cordeiras para as seguintes análises bioquímicas: PPT, Albumina, AST, GGT, glicose e bilirrubina total e direta. O consumo do coproduto em até 30 % em substituição ao feno contribuiu para o ganho de peso semelhante entre os tratamentos ($P = 0,92$) e satisfatório para categoria animal. O aumento do cobre na dieta apresentou efeito linear ($P < 0,01$) nos valores da enzima GGT e AST, bilirrubina total ($P = 0,05$) e o grupo com maior nível de cobre na dieta também apresentou maior consumo ($P < 0,01$). A substituição do feno pelo coproduto da vitivinificação e até 30 % na MS demonstrou-se satisfatório e não afetou negativamente o consumo e o ganho de peso de cordeiros em crescimento. A suplementação com sulfato de zinco em dietas a base de coproduto da vitivinificação para ovinos, não é eficaz para a prevenção de lesão hepática decorrente da absorção cúprica durante um período de 70 dias de utilização.

Palavras chave: Bagaço de uva, micro minerais, enzimas hepáticas, ruminantes, ganho de peso.

ABSTRACT

AMARAL. Flavia Plucani. **Levels of inclusion by product of vinification associated with zinc in sheep diet.** 2016. XXF. Thesis (Master). Graduate Program in Animal Science. Federal University of Pelotas.

The wine industry of the by product is a bulky food alternative, but has high levels of the micro mineral copper. Sheep fed diet rich in Cu may present cumulative copper poisoning. The objectives of this study were to evaluate the by product of the inclusion levels of vinification replacing hay in diet and efficacy of zinc to prevent copper poisoning in sheep. They were used to study 34 female crossbred lambs of Texel and Corriedale breeds. The experimental design was a randomized block, animals were divided into 4 groups of 2 reps. The treatments consisted of four hay replacement levels of Jiggs (*Cynodon dactylum*) by product of wine production in dry matter (DM), they were: Control Group (CG): basal diet + 0% of by product in DM; Treat 1: basal diet + 10% of by product in DM; Treat 2: basal diet + 20% of by product in DM; Treat 3: basal diet + 30% by product in DM. Diets were adjusted to present the same relationship Zn 6:1 Cu basal diet. Weekly was held individual weighing of animals and collecting blood of lambs to the following chemistries: PPT, albumin, AST, GGT, glucose and total and direct bilirubin. Consumption of by product by 30% in the hay substitution contributed to the similar weight gain between treatments ($P = 0.92$) and suitable for the animal category. The increase in copper in the diet showed a linear effect ($P < 0.01$) in values of GGT and AST enzyme, total bilirubin ($P < 0.05$) and the group with the highest dietary copper level also showed higher consumption ($P < 0.01$). The replacement of the by product of hay vitivinificação and up to 30% DM it was demonstrated satisfactory and did not negatively affect consumption and growing lambs gain weight. Supplementation with zinc sulfate in diets based on the by product of vinification for sheep, is not effective for the prevention of liver damage resulting from absorption of copper for a period of 70 days of use.

Keywords: Grape pulp, micro minerals, liver enzymes, ruminants, weight gain.

Lista de Tabelas

Tabela 1	Resultados do acompanhamento do teor de umidade em percentual do coproduto em processo de secagem.....	34
Tabela 2	Composição bromatológica dos alimentos volumosos (feno de Jiggs e Coproduto da uva) e ração comercial (Nutra Ovinos 18®) que compuseram as dietas experimentais.....	36
Tabela 3	Composição das dietas experimentais/animal/dia expressos em matéria seca (MS).....	37

Sumário

1. Introdução geral	10
2. Projeto de Pesquisa:	16
3. Relatório de trabalho de campo:	34
3.1. <i>Protocolo de secagem do coproduto:</i>	34
3.1.1. <i>Secagem em estufa de ar forçado:</i>	34
3.1.2. <i>Metodologia de Secagem a campo:</i>	35
3.2. <i>Instalações e animais:</i>	36
3.3. Delineamento experimental e dietas experimentais	37
3.4. Período de adaptação e experimental:.....	38
3.5. Coletas e análises zootécnicas e bioquímicas:	39
3.5.1. <i>Coleta das sobras:</i>	39
3.5.2. <i>Aferição do peso:</i>	39
3.5.3. <i>Acompanhamento bioquímico:</i>	39
3.5.4. <i>Análise de Cu e Zn sérico:</i>	39
3.5.5. <i>Coleta e processamento das amostras de tecido hepático:</i>	40
4.0. Artigo	41
5.0. Considerações Finais	64
6.0. Referências	65

1. Introdução geral

O Brasil é o maior gerador de coprodutos advindos das agroindústrias em toda a América Latina, o País é responsável por gerar mais de 500 mil toneladas ao ano deste produto (IPEA, 2012). O resíduo ou coproduto é basicamente resultante do processamento da indústria alimentícia e têxtil, e a possibilidade da sua utilização na dieta de ruminantes é de grande importância na redução dos custos com alimentação. Além disso, contribui para redução da poluição do meio ambiente, favorecendo a preservação de recursos naturais, como maior eficiência produtiva e ambiental do solo.

O acúmulo de resíduos sólidos na agroindústria gera impacto econômico porque exige gasto de energia para o transporte dos mesmos até aterros sanitários ou, quando isso não é possível, os resíduos são estocados próximos às áreas de produção, sem uma alternativa de destino final definida, o que pode gerar problemas sanitários e ambientais. No entanto, torna-se uma alternativa viável na alimentação animal em regiões próximas a essas indústrias e principalmente, quando o suprimento de grãos como soja e milho estão baixos ou seus preços elevados (GRASSER et al. 1995).

Dentre os coprodutos mais utilizados na alimentação de ruminantes, está o caroço de algodão, a polpa cítrica, resíduo úmido de cervejaria, resíduos da fabricação de biocombustíveis (SANTOS et al., 2012). E o advindo da vitivinicultura, atividade esta recente no Brasil, quando comparada aos tradicionais países produtores da Europa.

A produção de vinhos e uvas é uma atividade realizada em mais de 16 regiões do país e movimenta anualmente R\$ 1 bilhão, o País se consolidou como o quinto maior produtor de bebidas do Hemisfério Sul, segundo dados de 2014 do Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN, 2014). Os coprodutos da vitivinicultura caracterizam-se como sendo: o bagaço, as grainhas, o folhelho, o engaço, as borras, e o sarro. Estima-se que a geração de bagaço corresponda a 16% da uva destinada à produção de vinhos, o que equivale à produção de 210 mil toneladas de coprodutos ao ano (EMBRAPA, 2014). Somente o Rio Grande do Sul, contribui com

777 milhões de quilos de uva por ano e produz anualmente 330 milhões de litros de vinho e mosto (MAPA, 2015).

No Estado, grande parte das vinícolas encontra-se na região sudeste, também caracterizada por forte atividade na ovinocultura. O Rio Grande do Sul está entre os maiores produtores de ovinos do Brasil, com 4.000.297 bilhões de cabeças, logo após os estados da Bahia, Ceará, Piauí e Pernambuco (IBGE, 2011). As propriedades concentram-se principalmente na região da fronteira sul do Estado com o Uruguai.

O sistema de criação ovina é basicamente extensivo em campo nativo, e o investimento dos ovinocultores é principalmente, em raças com aptidão para produção de carne, lãs ou mistas. Neste tipo de sistema, em determinadas épocas do ano, há escassez na oferta de forragem como volumoso, ocasionando oscilações na produção e queda na rentabilidade dos produtores.

Atualmente, em função dos bons preços pagos pela carne ovina, há uma maior busca por tecnologias que favoreçam o ganho de peso dos animais e diminuam os custos com a produção. Uma alternativa potencial é a utilização do coproduto da vitivinicultura nas formulações, uma vez que este ingrediente poderia ter baixo custo de implementação como também apresentar efeitos nutricionais consideráveis. Dentre as vantagens da inclusão deste alimento na dieta, destaca-se a sua boa digestibilidade ruminal e interessante qualidade nutricional e relação aos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), nitrogênio digestível total (NDT), extrato etéreo (EE) e mineral (FAMUYIWA; IOANNIS; BASALAN, 1981, 2006, 2011).

A disponibilidade do coproduto inicia-se no Estado, a partir dos meses de janeiro a março quando da época da colheita da uva. O produto após o processamento na indústria pode ser armazenado na forma desidratada ou ensilada e utilizado em épocas estratégicas na alimentação de ruminantes.

O armazenamento na forma ensilada exige área adequada para construção do silo, e manejo correto do chorume produzido, devido o material possuir alto teor de umidade. Além disso, a vedação e compactação adequada do coproduto no silo, são importantes para que não ocorra perda do alimento por desenvolvimento de fungos ou bolores e odor forte de vinagre, característico de fermentação acética, ou odores desagradáveis e penetrantes, característicos de fermentação butírica, que são indicativos da degradação proteica (VILELA, 1989). Já o armazenamento na

forma desidratada, garante maior período de armazenamento do alimento, com menor risco de perdas por umidade ou desenvolvimento fúngico, também viabiliza o transporte do coproduto para longas distâncias, seja para propriedades ou indústrias de ração animal.

Alguns estudos tem procurado responder algumas questões referentes ao uso do coproduto nas formulações. Em um estudo realizado por Maciel et al (2012), avaliou o ganho de peso e qualidade de carcaça de cordeiros em fase de terminação suplementados com silagem de coproduto da vinificação, e observou que a inclusão da silagem de bagaço de uva na dieta de cordeiros, em até 50%, causou redução no consumo de alimento e ganho de peso, mas não interferiu na conversão alimentar, além disso, proporcionou ganhos médios de peso diário acima de 200 gramas e não promoveu modificações nas características da carcaça. Também Corredu et al. (2015), avaliou o perfil ruminal e qualidade do leite produzido, por ovelhas prenhes suplementadas com coproduto e observou que houve um aumento de ácidos graxos poli-insaturados (ácido linoleico conjugado - CLA *sis-9,trans-11*) no líquido ruminal, sem causar alteração no pH.

Na literatura, ainda são poucos os estudos disponíveis que avaliaram a qualidade bromatológica de coprodutos de vinícolas nacionais e a disponibilidade de macro e micro minerais do coproduto, além disso, pouco se sabe sobre o nível ótimo de inclusão na dieta de ovinos e sua conversão em ganho de peso, respectivamente.

Contudo, a qualidade do coproduto, e a possibilidade de inclusão na dieta de ruminantes, vêm desde o conhecimento das práticas adotadas durante o processo de desenvolvimento das videiras. Em geral, o coproduto da vitivinicultura apresenta altos níveis do micro mineral cobre (Cu), isso se deve ao tratamento antifúngico adotado nas videiras, para evitar o desenvolvimento do Míldio (*Plasmopara viticola*) principal doença fúngica que infecta as partes verdes da planta, causando maiores danos quando afeta as flores e os frutos (SÔNEGO, R. O; GARRIDO, R. L., 2013).

Em condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do fungo (alta umidade e temperatura amena) ocorre maior risco de infecção das plantas. O tratamento preventivo, é por meio da pulverização das videiras com sulfato de cobre (CuSO₄) a 2%. Este produto atua por contato e só protege a superfície coberta pela aplicação, não tem ação sobre o fungo no interior dos tecidos, por isso uma boa e uniforme cobertura durante a pulverização é necessário para a eficácia do

tratamento. No entanto, o uso indiscriminado do CuSO_4 principalmente na fase de florescimento da planta, pode causar fitotoxicidade (SÔNAGO, R. O; GARRIDO, R. L., 2013). O resultado desta prática é o cúmulo residual de cobre no bagaço liberado durante o processo de vitivinificação.

O cobre é um micromineral essencial, está presente em várias funções do organismo, é cofator de mais de 20 metaloenzimas e metaloproteínas ligadas à destruição de radicais livres, formação da mielina e dos ossos, pigmentação de pelos e lã e atua diretamente na hematopoiese (NRC, 2005). Em geral a necessidade de cobre para ovinos é de 8 mg/kg na matéria seca (MS) da dieta (SUTTLE, 2010). O grande desafio da utilização do coproduto na dieta de ovinos é justamente o alto teor de cobre, pois estes animais são mais sensíveis à intoxicação, por apresentarem uma tendência em acumular este mineral no organismo (SUTTLE, et al., 2003). Diferentes dos bovinos, que apresentam exigência de 115 mg/Kg de MS de cobre na dieta (McDOWELL, 1992).

Em condições normais, o Cu dietético, é absorvido no intestino delgado por meio de receptores específicos presentes nos enterócitos, estes realizam a redução do metal da forma cúprica (Cu^{+2}) para cuprosa (Cu^{+1}) e assim possibilitam sua absorção (FAZZIO et al., 2013). Uma vez absorvido, o Cu se une a proteínas plasmáticas, principalmente a metalotioneína, uma proteína que regula a absorção de cobre pelos enterócitos, de forma que quanto maior a presença desta proteína no sangue menor será a absorção de Cu. O fígado capta todo o cobre que chega por meio da circulação portal, a partir de então, ele pode ser enviado a circulação sistêmica incorporado a proteína ceruloplasmina para ser depositado em outros órgãos e tecidos. O Cu excedente é eliminado via biliar ou depositado no interior dos hepatócitos, sendo o fígado o seu único depósito orgânico (ROBERTS et al., 2008).

Há diferença de suscetibilidade a intoxicação entre as raças ovinas, sendo que as destinadas à produção de carne são mais sensíveis que as raças de lã, provavelmente pela maior capacidade genética destas em absorver o cobre dietético (RIET-CORREA et al., 2007). Ovinos jovens podem apresentar um risco de intoxicação até quatro vezes maior que os adultos devido a sua maior capacidade de absorção de cobre. As fêmeas são mais propensas a desenvolverem o quadro de intoxicação cúprica, provavelmente, pela ação do estradiol capaz de estimular maior retenção de cobre no fígado (ORTOLANI, 1996).

No Rio Grande do Sul, a intoxicação cúprica é descrita principalmente nas raças Corriedale e texel. A doença pode ocorrer na forma cumulativa ou crônica, esta é a mais comum, apresenta duas fases, uma subclínica que caracteriza-se pelo acúmulo de cobre principalmente no fígado durante semanas ou meses, e outra fase aguda, ocorre quando há liberação de Cu na circulação sanguínea, causando hemólise, anemia, icterícia e hemoglobinúria (RIET-CORREA, et al., 2007). A outra forma de manifestação clínica da doença, é na forma aguda que ocorre quando há ingestão de uma grande quantidade de cobre em poucas horas, causando uma severa gastroenterite e morte (RIET-CORREA, et al., 2007).

O quadro de intoxicação cúprica acumulativa (ICA) é caracterizado por três fases distintas: pré-hemolítica, hemolítica e pós-hemolítica. Na primeira fase, ocorre acúmulo de cobre hepático em níveis superiores a 1.000 mg/Kg MS sem que haja o aparecimento da sintomatologia clínica da doença, que só irá ocorrer se houver o rompimento de lisossomos provocando necrose intracelular, morte dos hepatócitos e liberação do cobre no sangue. Uma vez livre o Cu se liga ao eritrócito desestabilizando sua membrana e causando hemólise (GOONERATNE; ALLEN, 1987).

Durante a crise hemolítica, outro órgão bastante afetado são os rins, a hemoglobina livre, decorrente do quadro de hemólise, torna-se substância nefrotóxica (FAZZIO, 2007). Em ambas fases ocorre aumento da atividade sérica de aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), ureia, creatinina e bilirrubina (RIET-CORREA, et al., 2007).

A dosagem plasmática das enzimas hepáticas é de auxílio no diagnóstico de intoxicação cúprica, pois a ingestão de alimentos contendo níveis de Cu acima do recomendado não produz sinais clínicos enquanto o cobre se acumula no fígado. Os animais permanecem saudáveis até o início da crise hemolítica, quando adoecem e morrem rapidamente. Durante a fase pré-hemolítica ocorre necrose hepática e elevação dos níveis das enzimas AST e GGT (RIET-CORREA, et al., 2007). A GGT é um bom indicador de alterações hepáticas e colestase biliar (MOREIRA et al, 2012). Esta enzima se encontra no citoplasma do hepatócito e é liberada na corrente sanguínea quando ocorre uma alteração na permeabilidade da célula hepática (MINERVINO, 2008). Já a AST encontra-se na mitocôndria do hepatócito e será liberada na corrente sanguínea uma vez que a célula hepática alcançar um nível de dano irreversível (FAZZIO et al, 2013).

O controle da absorção do Cu, é o ponto chave para evitar a ocorrência de intoxicação em ovinos expostos a dietas com alto teor deste mineral. Com o intuito de amenizar os efeitos deletérios da intoxicação por cobre em ovinos, estudos tem apontado a utilização de minerais antagonistas ao cobre como alternativa no controle dos seus altos níveis tissulares, e ação preventiva a intoxicação cúprica em ovinos (SUTTLE; ALIMON, 2012, 2011).

A suplementação com os minerais molibdênio (Mo) e enxofre (S) na dieta, demonstrou alta afinidade ao cobre no rúmen, formando um composto insolúvel tetratiomolibdato que possibilita a eliminação do excesso de Cu do organismo (VÁSQUEZ; ALIMON, 2001, 2011). Outro estudo demonstrou que a administração de tetratiomolibdato de amônia via subcutânea ou endovenosa também pode ser eficaz no controle da absorção do cobre dietético (SOARES, et al., 2012).

Alguns minerais atuam como competidores da absorção do cobre dietético, pelo mesmo sítio de absorção enteral, como o micromineral zinco (Zn), este é principalmente absorvido pelo intestino delgado e sua absorção é regulada de acordo com as necessidades do organismo animal (SPEARS, 2003). Uma vez absorvido por meio dos enterócitos, o Zn é transportado pela corrente sanguínea ligado à albumina (85 %), alfa2macroglobulina (14%) e a aminoácidos (1%) (JACKSON, 1989). Não há um órgão de eleição para deposição do zinco dietético, no entanto há maior afinidade com o tecido muscular, fígado e pele.

Segundo Tapiero (2003) o incremento de Zn hepático é capaz de aumentar a resistência do organismo a intoxicações por metais tóxicos como mercúrio, cadmo, cobalto e cobre, a partir do estímulo para produção de metalotioneína, proteína aniônica com alta capacidade quelante de metais, que realiza detoxicação hepática ao englobar e eliminar este íons para fora do organismo.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar os níveis de inclusão do coproduto da vitivinificação em substituição ao volumoso na dieta e a eficácia do zinco na prevenção da intoxicação cúprica em ovinos.

2. Projeto de Pesquisa:

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
NÚCLEO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO EM PECUÁRIA – NUPEEC
NÚCLEO DE GAPA – ESTUDOS EM GESTÃO AMBIENTAL NA PRODUÇÃO
ANIMAL**

PROJETO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO

**Viabilidade zootécnica e ambiental da utilização de coprodutos do
processo de vitivinificação na alimentação animal**

Fernanda Medeiros Gonçalves

Méd. Vet., Dr^a em Produção Animal

Prof^a do Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Coordenadora do Núcleo de GAPA

Pesquisadora associada do NUPEEC

Pelotas, RS

2014

Ministério da Ciência e Tecnologia

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CHAMADA UNIVERSAL - MCTI/CNPq N°14/2014

Faixa de A, até R\$ 30.000,00

Título do Projeto

Viabilidade zootécnica e ambiental da utilização de coprodutos do processo de vitivinificação na alimentação animal

1. IDENTIFICAÇÃO DA PROPOSTA

1.1 Título: Viabilidade zootécnica e ambiental da utilização de coprodutos do processo de vitivinificação na alimentação animal.

1.2 Coordenador (a): Fernanda Medeiros Gonçalves

2. QUALIFICAÇÃO DO PRINCIPAL PROBLEMA A SER ABORDADO

Encontrar maneiras de direcionar o desenvolvimento agrícola e rural buscando atender às exigências econômicas, sociais e ambientais, exige mudanças estruturais de médio e longo prazo, especialmente dentro do contexto agrícola atual. Desta forma, um grande desafio dos profissionais do setor agropecuário nos próximos anos é conciliar a produção agrícola, pecuária, florestal e agroindustrial com os preceitos de responsabilidade socioambiental, sem onerar os custos de produção. Assim, a preservação dos recursos naturais renováveis é questão primordial para a sustentabilidade dos sistemas agropecuários.

O Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) foi criado pela Convenção das Nações Unidas sobre Mudanças do Clima (UNFCCC - United Nations Framework Convention on Climate Change) como uma maneira de ajudar os países

a cumprirem as metas do Protocolo de Kyoto. A ideia consiste na implantação de projetos em países em desenvolvimento que objetivem a redução das emissões de gases de efeito estufa (GEEs) e contribuam para o desenvolvimento sustentável local. Desta forma, o MDL demonstra ser um extraordinário instrumento de fomento de boas práticas, de aprendizado e de padrões de produção mais ajustados a modelos sustentáveis.

Esses modelos ganham cada vez mais espaço de mercado pela busca do consumidor do produto que respeita a natureza e conserva o meio ambiente. Além disso, o Plano de Agricultura de Baixo Carbono (ABC), lançado em março de 2010 pelo governo federal, estabelece um conjunto de ações que reduzam as emissões de gases de efeito estufa pela agricultura e pecuária brasileira, possuindo como meta a redução de 214,2 milhões de toneladas de CO₂ até 2020.

Desta forma, práticas que envolvam a preservação de recursos naturais, maior eficiência produtiva e ambiental do solo, tratamento e/ou reutilização de coprodutos agroindustriais, por exemplo, estão direta ou indiretamente contribuindo para atingir essa meta nacional.

Diante de uma consciência preservacionista, além de não poluir é fundamental encontrar alternativas para despoluir os recursos contaminados ou evitar a contaminação. Assim, para a destinação e tratamento dos coprodutos gerados e com potencial para poluir o ambiente, faz-se necessários estudos para avaliar técnicas de reaproveitamento dos mesmos da maneira mais eficiente possível.

Os resíduos sólidos são conceituados pela NBR 10.004 (ABNT, 2013) como resíduos descartáveis ou inúteis resultantes das atividades humanas, em estado sólido, semi-sólido ou semi-líquido (com conteúdo líquido insuficiente para que este fluido possa se movimentar livremente). São considerados resíduos agrícolas ou coprodutos os provenientes de atividades agrícolas, florestais, agroindustriais e pecuárias, sem utilização posterior na própria exploração.

Os coprodutos sólidos orgânicos de origem vegetal representam um elevado impacto sobre o meio físico, particularmente sobre os mananciais hídricos superficiais e subterrâneos e sobre os meios biológicos. O equilíbrio depende diretamente da reciclagem da matéria orgânica e da maximização e otimização do fluxo da energia nos agroecossistemas, capazes de gerar estabilidade ecológica, social e econômica nos sistemas de produção.

O acúmulo de resíduos sólidos na agroindústria gera impacto econômico porque exige gasto de energia para o transporte dos mesmos até aterros sanitários ou, quando isso não é possível, os resíduos são estocados próximos às áreas de produção, sem uma alternativa de destino final definida, o que pode gerar problemas sanitários e ambientais. Por outro lado, na maioria das vezes, esses resíduos apresentam potencial para serem transformados em insumos agrícolas de baixo custo para serem utilizados nas proximidades das áreas onde são gerados.

Uma maneira de aproveitamento de coprodutos agroindustriais é na alimentação animal, em especial, ruminantes que têm a capacidade de aproveitar fontes ricas em lignocelulose. A utilização de coprodutos agroindustriais na alimentação de ruminantes é de grande importância já que o uso de grãos como a soja e o milho apresentam preço elevado, contribuindo com parcela importante dos custos de produção de leite e carne e concorrem com a alimentação humana.

Em alguns países, que possuem uma grande diversidade e quantidade de coprodutos com diferentes potenciais alimentícios (coprodutos hortifrutícolas e agroindustriais), que se perdem ou são subutilizados devido ao desconhecimento do valor nutricional e dos níveis de inclusão na dieta, tem se observado relevância no valor nutritivo e no uso destes na alimentação de ruminantes. Cabe destacar, que o Brasil é considerado um dos maiores geradores de coprodutos agrícolas do mundo, em virtude da sua intensa atividade neste setor. Isso faz com que haja uma constante busca por alternativas de utilização destes coprodutos, principalmente na alimentação animal como forma também de favorecer a integração dos sistemas produtivos.

A vitivinicultura é uma atividade econômica recente no Brasil, quando comparada aos tradicionais países produtores da Europa, especialmente no que se refere a vinhos finos. A produção de vinhos e uvas é uma atividade realizada em 16 regiões do país e movimenta anualmente R\$ 1 bilhão, segundo dados de 2011 do Instituto Brasileiro do Vinho (Ibravin). No ano de 2011, o Brasil atingiu a marca de 1.463.481,00 toneladas, sendo o RS o maior produtor nacional, seguido por Pernambuco e São Paulo (IBGE, 2012).

De acordo com Costa e Belchior (1972) a produção de 100 litros de vinho fino implica em 25 Kg de coprodutos. No RS a produção de vinhos finos em 2011 foi de 47.598.471 litros, o que implica na geração de 11.899.617,75Kg de coprodutos provenientes do processo de vitivinificação. Os coprodutos da vitivinificação

caracterizam-se como sendo: o bagaço, as grainhas, o folhelho, o engaço, as borras e o sarro. O potencial de utilização de coprodutos da vitivinificação na alimentação de ruminantes possui um grande apelo em relação à redução de custos com alimentação e, adicionalmente, atender normas ambientais referentes ao descarte de resíduos.

Contudo, a principal limitação em utilizar estes resíduos nas dietas de ruminantes, relaciona-se ao alto conteúdo de lignina e taninos presentes, substâncias frequentemente associadas de forma negativa no desempenho animal. Atribuir aos taninos apenas efeitos antinutricionais pode conduzir a interpretações errôneas, pois estes compostos podem apresentar vantagens quando fornecidos aos ruminantes. O efeito benéfico dos taninos, além da proteção contra degradação da proteína ruminal, também pode se estender a redução da atividade das bactérias metanogênicas refletindo em maior eficiência ambiental. De acordo com Woodward (2001), o fornecimento de dietas contendo 2,59% de taninos condensados propiciou menor produção de metano por unidade de matéria seca ingerida por bovinos.

De acordo com o exposto, reforça-se a necessidade de avaliar as amplas possibilidades de utilização de coprodutos da indústria alimentícia, destacando aqueles gerados pelo processamento da uva para a produção de vinhos.

3. OBJETIVOS E METAS A SEREM ALCANÇADOS

3.1 Objetivos

3.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade nutricional, zootécnica e ambiental de coprodutos gerados durante o processo de vitivinificação.

3.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição nutricional dos coprodutos da vitivinificação;
- Avaliar o nível ótimo de inclusão dos coprodutos nas dietas para ovinos;
- Validar a utilização destas dietas para ovinos em crescimento;
- Avaliar a relação econômica do uso dos coprodutos para animais, em substituição a alimentos energéticos e proteicos normalmente usados na formulação de dietas;
- Estimar as emissões de metano pelo aproveitamento dos coprodutos testados;

- Determinar indicadores de sustentabilidade pelo sistema de integração agroindústria-pecuária.

3.2 Metas

3.2.1 Metas Relativas às Atividades Técnica-científicas Específicas

Tabela 1. Metas Técnico-Científicas Específicas do Projeto:

META	SITUAÇÃO ATUAL	SITUAÇÃO PRETENDIDA
Determinar a composição dos coprodutos oriundos do processo de vitivinificação referida região.	Sabe-se da composição geral dos coprodutos da uva, no entanto não se sabe das diferenças entre as qualidades e épocas de colheita.	Realizar análises bromatológicas nestes coprodutos, coletados em diferentes períodos e de diferentes qualidades, identificando a sua composição nutricional.
Introduzir os coprodutos nas formulações de dietas para ovinos, buscando melhores índices de desempenho. Validar, posteriormente, a utilização destes ingredientes nas dietas dos animais.	Existem poucos estudos sobre a utilização destes coprodutos na alimentação de ovinos, havendo uma demanda especial por tais informações na região sul do RS, considerando a expansão da vitivinicultura em uma área tradicionalmente direcionada a ovinocultura.	Utilizar os coprodutos na alimentação para ovinos permitirá o aproveitamento das qualidades nutricionais desses, gerando assim uma fonte sustentável e viável para a dieta destes ruminantes. Validar posteriormente a utilização deste nas dietas dos animais.
Estimar as emissões de metano pelos animais suplementados com os coprodutos.	Mercado consumidor e organizações mundiais pressionando para uma produção mais limpa, que priorizem a redução das emissões de carbono.	Os taninos presentes nos coprodutos promoverão a redução das bactérias metanogênicas e consequentemente menor emissão de metano pelos animais suplementados.

3.2.2. Metas Relativas à Formação de Recursos Humanos

- Fomentar a formação de recursos humanos nos ambientes de pesquisa e extensão, dentro das premissas da Medicina Veterinária, Zootecnia, Bioquímica e da Gestão Ambiental da UFPel;
- Auxiliar na formação de doutores e mestres nos diversos programas de Pós-graduação envolvidos (Veterinária, Zootecnia e Bioquímica) da UFPel;
- Introduzir acadêmicos dos cursos de graduação de Medicina Veterinária, Zootecnia e Gestão Ambiental da UFPel na pesquisa, desenvolvendo assim a iniciação científica.

4. METODOLOGIA A SER EMPREGADA

O projeto será distribuído em etapas, as quais seguem discriminadas abaixo:

4.1 Etapa 1 - **Avaliação bromatológica e do valor alimentar dos coprodutos da vitivinificação.**

Serão coletados coprodutos provenientes de uma vinícola localizada no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, situada a uma altitude de 439 metros e com clima subtropical úmido. As amostras serão acondicionadas em recipientes estéreis, hermeticamente vedados e mantidos sob refrigeração durante o transporte e congelados a -18°C durante o armazenamento.

As amostras dos resíduos serão recebidas no laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) onde, serão processadas para a determinação do teor de umidade. Para tal, será utilizada a pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar a 55°C até que o peso das amostras permaneça constante, o que varia de um a três dias, dependendo do grau de umidade da amostra. As amostras serão pesadas antes e depois da pré-secagem para determinação da primeira matéria seca. Após a pré-secagem, as amostras serão moídas em moinho de facas com peneira de 1mm. As amostras moídas serão acondicionadas em recipientes de vidro estéreis e identificadas.

Os coprodutos serão segregados em seis grupos: G1 – bagaço, G2 – grainhas, G3 - folhelho, G4 - engajo, G5 – borras, G6 – sarro.

Previamente às análises, cada amostra será moída e/ou macerada, conforme necessidade em reduzir e homogeneizar seu conteúdo. Os grupos serão avaliados quanto sua composição percentual de 1) Umidade; 2) Matéria seca (MS); 3) Extrato etéreo; 4) Fibra bruta; 5) Cinzas; 6) Extrato não nitrogenado (ENN); 7) Fibra detergente neutra (FDN); 8) Fibra detergente ácida (FDA); 9) Perfil de aminoácidos; 10) Perfil de ácidos graxos; 11) Perfil de polifenóis, 12) Taninos totais. As análises serão realizadas em triplicata.

Os teores de MS serão determinados por liofilização prévia das amostras e secagem em estufa a 105°C por 24 horas. O conteúdo de matéria orgânica será quantificado por combustão em forno mufla a 550°C por 4 horas. A porcentagem de extrato etéreo será quantificada por refluxo em equipamento Soxhlet utilizando éter etílico por um período de 6 horas. O teor de proteína bruta será analisado pelo método Kjeldahl (método 984.13; Cunniff, 1995). As determinações de FDN serão realizadas com o uso de alfa amilase, mas sem o uso de sulfito de sódio (Mertens, 2002), com amostras pesadas em sacos filtrantes e tratadas com solução detergente neutro em um equipamento ANKOM (ANKOM Technology, Macedon NY, USA). As concentrações de FDA e lignina serão analisadas conforme descrito no AOAC (1997) (método nº 973.18).

O perfil dos aminoácidos sulfurados, metionina e cistina, serão realizados através da oxidação com ácido per fórmico para evitar degradação dos mesmos, seguindo o procedimento de Cunniff (1995). O perfil dos demais aminoácidos será avaliado por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (CLAD), seguindo a metodologia proposta por Ishida et al. (1981).

O perfil de ácidos graxos será determinado por cromatografia gasosa a partir das amostras transesterificadas com hidróxido de potássio metanólico e n-hexano, segundo método AOCS Ce 2-66 (1997). A avaliação do perfil de taninos será pelo método de Fólin-Denis, utilizando-se o reagente fosfotúngstico-fosfomolibdico. As análises de taninos totais serão realizadas por laboratórios comerciais.

Através dos dados obtidos na avaliação bromatológica, serão escolhidos os coprodutos da uva que apresentem os melhores resultados de composição nutricional de acordo com potenciais utilizações dentro dos sistemas produtivos de ruminantes.

4.2 Etapa 2 - Avaliação do desempenho zootécnico

O estudo será realizado em um galpão com 10 baias de 7m² de área (2,00 x 3,5m), com capacidade para cinco animais. Cada baia terá uma área de cocho de 25 cm por animal, um bebedouro e serão forradas de casca de arroz, que será trocada semanalmente. Serão selecionados 30 cordeiros machos, da raça Corriedale, castrados, com 45 dias de idade. Durante o período de adaptação, os animais serão mantidos em uma área de pastejo com dois hectares de pastagem de aveia e azevém e receberão cerca de 600 g/dia de suplementação de concentrado (Irgovino Premium® - fibra bruta 13.9%, extrato etéreo 5.68%, proteína bruta 14.8%; IRGOVEL - Indústria Riograndense de Óleos Vegetais Ltda., Brasil), com livre acesso à água.

O delineamento experimental será inteiramente casualizado, com a inclusão de dois coprodutos da vitivinificação (CP), com cinco repetições/tratamento. Os tratamentos serão atribuídos aleatoriamente as unidades experimentais, e serão divididos em:

T1 – controle (dieta básica sem coprodutos) (n=10);

T2 – dieta básica reformulada com inclusão do CP1 (n=10);

T3 – dieta básica reformulada com inclusão do CP2 (n=10);

Serão avaliadas variáveis relacionadas ao desempenho dos animais, tais como: peso vivo inicial (PVI), peso vivo ao abate (PA), ganho de peso semanal (GMS), consumo de matéria seca (CMS) e conversão alimentar (CA) após a suplementação por um período de 60 dias.

4.3 Etapa 3 - Avaliação de parâmetros ambientais

4.3.1 Emissões de metano

As emissões de metano serão mensuradas durante a etapa de desempenho pela técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆), conforme a metodologia proposta por Johnson et al. (1994), utilizando-se cangas coletoras. Para a captação de amostras do gás emitido serão utilizados tubos de aço inoxidável submetidos previamente à formação de vácuo em seu interior e ajustado em um buçal preso na cabeça do animal. As válvulas fixadas na canga coletam amostras do ar expelido pela respiração e eructação, durante cinco dias. O equipamento utiliza uma cápsula de liberação controlada de SF₆, a qual é calibrada para liberar quantidade conhecida deste gás a cada 24h (Amaral, 2011). Também devem ser instalados três tubos, em

diferentes locais da área experimental, para captação de amostras do ar e quantificação do metano presente no ambiente (branco).

O delineamento experimental será em blocos ao acaso representados por quatro semanas consecutivas, aplicado nos tratamentos experimentais, um animal por tratamento, duas coletas por dia, durante cinco dias consecutivos. As duas medições diárias e ao longo de cinco dias constituirão 10 sub-repetições para compor as quatro repetições.

As concentrações CH_4 e do SF_6 serão determinadas por meio de cromatografia gasosa. A análise será realizada utilizando o cromatógrafo a gás (Shimadzu 2014 modelo “Greenhouse”) equipado com injetores acoplados a duas válvulas automatizadas, com detectores de ionização de chama (leitura do CH_4) e de captura de elétrons (leitura do SF_6). As leituras da cromatografia das concentrações de CH_4 e SF_6 serão corrigidas para a diluição.

A emissão diária de metano liberado por animal será calculada a partir do SF_6 emitido, conforme a equação:

$$Q\text{CH}_4 = Q\text{SF}_6 \times [(\text{CH}_4 - \text{CH}_4\text{B}) / (\text{SF}_6 - \text{SF}_6\text{B})] \text{ onde:}$$

$Q\text{CH}_4$: taxa de emissão de metano g/dia;

$Q\text{SF}_6$: taxa de liberação do SF_6 da cápsula de permeação;

CH_4 e SF_6 : concentrações medidas no tubo coletor;

CH_4B e SF_6B : concentrações medidas no tubo coletor “branco”.

4.3.2 Indicadores de sustentabilidade

Serão estimados indicadores de sustentabilidade de acordo com referencial teórico de Passos e Pires (2008), abordando aspectos internos a utilização de coprodutos da vitivinificação na alimentação animal, considerando os recursos endógenos, as operações desenvolvidas internamente, as condições dos recursos, as ações impactantes e as ações voltadas para a recuperação/mitigação do estado de degradação.

A metodologia para a estimativa da redução de emissão de carbono, em $\text{tCO}_2\text{eq ano}^{-1}$, será fundamentada na metodologia aprovada pela Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre a Mudança do Clima (UFCCC, 2004) sob registro AM0057 (Avoided emissions from biomass wastes through use as feed stock in pulp and paper, cardboard, fibreboard or bio-oil production) dentro do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), instituído pelo Protocolo de Kyoto.

5. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS OU TECNOLÓGICAS DA PROPOSTA

Indicadores e metas a serem alcançados, considerando contribuições científicas, tecnológicas e de inovação as quais irão contribuir de forma sólida na formação de recursos humanos.

5.1 Científicas

- Produção de uma tese de doutorado na UFPel;
- Orientação de estudantes de iniciação científica;
- Publicação de artigos científicos em revista de reconhecimento na área (elevado fator de impacto);
- Publicação de resumos em congressos nacionais e internacionais;
- Publicação de cartilha didática e/ou circular técnica a ser utilizada pelos produtores, técnicos da área e estudantes, em todos os níveis da formação (educação básica, graduação e pós-graduação).

5.2 Ambientais

- Redução da emissão de gases de efeito estufa (GEEs), por melhorar/equilibrar a flora ruminal pela inclusão dos coprodutos nas dietas, com potencial diminuição da flora metanogênica;
- Aproveitamento de biomassa de descarte para a produção de proteína de alto valor biológico (carne), permitindo o aproveitamento dos coprodutos (considerados muitas vezes resíduos da agroindústria) destinem-se a uma finalidade mais nobre dentro de agroecossistemas.

5.3 Tecnológicas e de Inovação

O desenvolvimento de aditivos alimentares para ruminantes, com potencial de patenteamento e de comercialização, são possibilidades de relevância dessa proposta e fazem parte das metas da equipe de trabalho.

Atualmente, há uma forte concorrência no mercado de grãos entre os setores ligados a alimentação animal e aqueles envolvidos com a produção de biocombustíveis, promovendo oscilações de preços. Inovar no manejo nutricional nos sistemas de produção animal implica em buscar alimentos alternativos ao milho e soja para manutenção da produção a um menor custo possível.

Assim sendo, a potencialidade em utilizar um subproduto de descarte no processo de vitivinificação constituirá em uma alternativa economicamente viável na produção animal, podendo ser estendida a todas as regiões com inserção nestes mercados. Com o desenvolvimento desse projeto, pretende-se gerar tecnologias para o uso desses resíduos na ração animal com o objetivo de aumentar a eficiência de reciclagem de matéria orgânica nos sistemas de produção.

A proposta permite que as experiências já existentes sejam a base para a geração de inovação tecnológica, através da utilização de coprodutos de indústrias, iniciando pela indústria da vitivinicultura, sendo possível extrapolar para outras indústrias.

Adicionalmente, o que é hoje um material de descarte, demandando custos para seu transporte até depósitos apropriados de lixo, poderá se transformar em mais uma fonte de receita para a agroindústria e, conseqüentemente, para os agricultores associados.

6. Orçamento

6.1 Itens de Custeio

Tabela 2. Descrição detalhada dos itens de capital a serem adquiridos:

Descrição	Valor R\$	Qtd.	Total R\$
Materiais de Consumo			
Reagentes para análises laboratoriais (bromatologia, cromatografia), frasco 250 mL	86,00	40	3.340,00
Ovinos	60,00	30	1.800,00
Ração comercial, 40Kg	32,00	70	2.400,00
Total Materiais de Consumo			R\$ 7.540,00
Serviços de terceiros			
Análises de Taninos Totais	46,15	18	830,70
Análises das Emissões de Metano	60,00	30	1.800,00

informativo técnico									
Elaboração de resumos para Congressos de Iniciação Científica	X	X	X	X					
Preparação da tese					X	X	X	X	X
Elaboração de artigos para publicação						X	X	X	X

8. DEMAIS PARTICIPANTES DO PROJETO

8.1 Professores Colaboradores

- Marcio Nunes Corrêa – Prof. Dr. da Faculdade de Veterinária, Orientador na Veterinária e Biotecnologia – Bolsista de Produtividade em Pesquisa 1D;
- Francisco Augusto Burkert Del Pino – Prof. Dr. do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Orientador na Bioquímica e Bioprospecção e na Zootecnia - Bolsista de Produtividade em Pesquisa 2;
- Cássio Cassal Brauner – Prof. Dr. do Curso de Zootecnia, Orientador no Programa de Pós Graduação em Zootecnia;
- Viviane Rohrig Rabassa – Prof^a Dr^a da Faculdade de Veterinária.

8.2 Pós-doutores

- Rubens Alves Pereira – Farmacêutico industrial, Dr. e bolsista PNP/DACTA/CAPES;
- Raquel Fraga e Silva Raimondo – Méd.Vet. Dr^a e bolsista PNP/DACTA/CAPES;
- Beatriz Riet Correa Rivero – Méd.Vet. Dr^a e bolsista PNP/DACTA/CAPES.

8.3 Técnicos em laboratório

- Aleganí Vieira Monteiro – Téc. em Gestão Ambiental, Mestranda em Medicina Veterinária.
- Ana Elice Furtado da Silva – Téc. em Laboratório, Mestranda em Zootecnia.
- André Silveira da Silva - Téc. em Laboratório, Doutorando em Química.

8.4 Pós-graduandos

- Joice Magali Brustolin – Méd.Vet. MC e Doutoranda em Medicina Veterinária UFPel;
- Maria Amélia Agnes Weiller – Méd.Vet. e Mestranda em Medicina Veterinária UFPel;
- Flávia Plucani do Amaral - Méd.Vet e Mestranda em Zootecnia UFPel;
- Gabriela Power Teixeira da Silva - Méd.Vet e Mestranda em Zootecnia UFPel;
- Aline Marangon- Méd.Vet e Mestranda em Bioquímica UFPel.

8.5 Graduandos

Serão envolvidos na execução deste projeto os estudantes de graduação que atuam nos grupos de pesquisa do qual o coordenador desta proposta faz parte (Núcleo de GAPA/ Nupeec).

8.6 Demais colaboradores

- Eduardo Schmitt – Méd. Vet., Dr., Pesquisador A na EMBRAPA (RO).
- Fernando Rutz – PhD em Nutrição Animal, Prof. do Programa de Pós Graduação em Zootecnia (UFPel).

Marcos Antônio Anciuti – Dr. em Produção Animal, Prof. do IF-Sul Pelotas/Campus Visconde da Graça.

Fabiane Gentilini - Dr. em Produção Animal, Prof.^a do IF-Sul Pelotas/Campus Visconde da Graça.

9. GRAU DE INTERESSE E COMPROMETIMENTO DE EMPRESAS COM O ESCOPO DA PROPOSTA

Buscamos encontrar resultados que venham a otimizar a utilização dos coprodutos oriundos do processo de vitivinificação, tornando-os fonte de alimentação para ruminantes. Na área ambiental, a vantagem se estende por evitar o descarte destes elementos diretamente no solo, trazendo benefícios para as vinícolas tanto pela destinação nobre destes elementos como por estabelecer um ciclo de reciclagem de nutrientes, atendendo o conceito de sustentabilidade. Assim, através de parcerias com o setor privado, abrangeremos a interação entre qualidade nutricional e o controle ambiental, buscando a introdução de uma nova fonte alimentar no mercado de nutrição animal.

10. COLABORAÇÃO OU PARCERIAS JÁ ESTABELECIDAS COM OUTROS CENTROS DE PESQUISA NA ÁREA

O projeto envolverá diretamente 3 Programas de Pós-Graduação (PPG) da UFPel,:

- Programa de Pós-Graduação em Bioquímica – UFPel.
- Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPel.
- Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel.

11. DISPONIBILIDADE EFETIVA DE INFRAESTRUTURA E APOIO TÉCNICO DISPONÍVEL PARA O DESENVOLVIMENTO DO PROJETO

A proponente do projeto é coordenadora do grupo de pesquisa de Gestão Ambiental na Produção Animal (GAPA) e pesquisadora associada do NUPEEC, os quais possuem laboratórios com estrutura adequada para a realização das análises pertinentes ao experimento proposto, contando ainda, com laboratórios de parceiros de pesquisa.

- Laboratório de Nutrição Animal;
- Laboratório de Patologia Clínica/Hospital de Clínicas Veterinária - UFPel.
- Laboratório de Biotécnicas da Reprodução - Centro de Biotecnologia -UFPel.
- Laboratório de Biopolímeros - Centro de Biotecnologia – UFPel.
- Central Analítica da UFPel.
- Laboratório de Biologia Molecular – Centro de Biotecnologia – UFPel.
- Laboratório de Bioquímica Aplicada – UFPel.
- Laboratórios do Departamento de Química Orgânica – UFPel.
- Laboratório de Patologia Animal – UFPel.

A equipe de colaboradores e pesquisadores listada anteriormente está apta para darem o suporte técnico necessário às atividades propostas neste projeto, bem como a orientação aos alunos de graduação.

12. ESTIMATIVA DOS RECURSOS FINANCEIROS DE OUTRAS FONTES QUE SERÃO APORTADOS PELOS EVENTUAIS AGENTES PÚBLICOS E PRIVADOS PARCEIROS

Projetos aprovados pelo grupo de pesquisa Nupeec, parceiros do Núcleo de GAPA, junto a órgãos de fomento:

- “Efeito do uso de somatotropina no período pré-parto sobre os indicadores de balanço energético e potencial esteroidogênico do folículo da primeira onda pós-parto em vacas leiteiras”.

Coordenador: Marcio Nunes Corrêa.

Origem: Edital FAPERGS 02/2011 - Programa Pesquisador Gaúcho – PqG

Valor financiado: R\$ 67.000,00

- “Desempenho reprodutivo de vacas leiteiras submetidas a diferentes protocolos de sincronização de cio/ovulação e aplicação de insulina exógena”.

Coordenador: Cássio Cassal Brauner.

Origem: Edital MCT/CNPq N° 14/2013 – Universal.

Valor financiado: R\$ 27.036,56.

- “Resistência à Insulina em ruminantes e sua relação com hipomagnesemia e hipocalcemia”.

Coordenador: Francisco Augusto Burkert Del Pino.

Origem: Edital MCT/CNPq N° 14/2013 – Universal.

Valor financiado: R\$ 45.000,00.

- “Marcadores metabólicos e de resposta imune para diagnóstico e avaliação clínica de neonatos bovinos acometidos de diarreia e broncopneumonia”.

Coordenador: Viviane Rohrig Rabassa.

Origem: Edital FAPERGS 01/2013 - Programa Pesquisador Gaúcho – PqG.

Valor financiado: R\$ 24.662,79.

- “Resistência à Insulina e sua relação com hipomagnesemia e hipocalcemia em vacas leiteiras”.

Coordenador: Francisco Augusto Burkert Del Pino.

Origem: FAPERGS 04/2012 - Programa Pesquisador Gaúcho – PqG.

Valor financiado: R\$ 20.000,00.

3. Relatório de trabalho de campo:

3.1. Protocolo de secagem do coproduto:

O coproduto utilizado no experimento foi cedido pela Vinícola da Estância Guatambu, situada na cidade de Dom Pedrito/RS. O período de colheita e processamento da uva para vinhos na vinícola foi de janeiro a março de 2015. Semanalmente, acompanhávamos o processo de prensagem e liberação do bagaço úmido, em torno de 80 a 90% de umidade. O material coletado, foi armazenado em sacolas plásticas com capacidade para 40 litros hermeticamente vedadas e transportadas até a UFPel, onde realizaram-se os testes para verificar qual a melhor metodologia de secagem do material. A cada amostra coletada na vinícola, foi adicionado sulfito de potássio (KHSO₃), que é um aditivo alimentar aprovado pela União Européia utilizado durante a produção de bebidas alcoólicas como agente esterilizante. Como aditivo alimentar, na legislação brasileira, apresenta um limite máximo de utilização de 0,03 g de por 100g ou 100mL como conservante em polpas e purês de vegetais e de 0,004 g (como SO₂) por 100g ou 100mL como conservante em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas. Isso para evitar que houvesse fermentação ou ainda crescimento fúngico do transporte da vinícola até a Universidade.

Os processos de secagem do coproduto ocorreram das seguintes formas:

3.1.1. Secagem em estufa de ar forçado:

Pequena quantidade de coproduto foi espalhada em bandejas forradas com papel alumínio e acondicionadas em estufa de ar forçado de 55° C a 60° C, no laboratório de plantas forrageiras do Departamento de Zootecnia da UFPel (figura 1). A cada 12 horas, verificava-se a eficiência do processo de secagem. No entanto, após transcorrido 12 h o material encontrava-se quente, úmido e mofado. Concluímos que em decorrência do alto teor de umidade do coproduto e espaço físico da estufa limitado para secar grandes quantidades de coproduto, esse processo tornou-se inviável em grande escala.

3.1.2. Metodologia de Secagem a campo:

A metodologia para a secagem do bagaço é comumente utilizada para secagem de coproduto de frutas nas regiões do nordeste do País. De acordo com a metodologia descrita por Junior et al., (2005), realizamos a secagem da seguinte forma:

Em seguida a chegada do bagaço úmido da vinícola, na Universidade ele foi espalhado em uma lona preta sobre o solo seco e inclinado, até formar uma camada de no máximo 15 cm de espessura. Com o intuito de não favorecer o desenvolvimento fúngico e promover uma secagem uniforme do material, foi realizada a viragem do coproduto utilizando um rastilho de plástico específico para esta atividade.

Para acompanharmos a eficiência da metodologia de secagem, adequamos a metodologia da seguinte forma: o coproduto era espalhado sobre a lona as 9 h da manhã, a cada uma hora de exposição ao sol era recolhida uma amostra homogeneia do bagaço de 1 Kg, esta amostra era pesada em balança eletrônica de precisão de até 3 Kg. A cada uma hora o peso da amostra era anotado em uma planilha de controle de secagem (tabela 1), no mesmo momento, era feita a mensuração da temperatura da amostra com o auxílio de um termômetro e pH com pHmetro digital. A temperatura e umidade do ambiente foram mensuradas com o auxílio de um termo higrômetro digital.

Para estimar o teor de umidade do material exposto ao sol, utilizou-se o seguinte cálculo:

Peso inicial do coproduto úmido - Peso ao final do dia x 100% = 80 %
(umidade inicial do bagaço) - valor obtido.

Estimava-se obter ao final de cada processo de secagem um teor de umidade entre de até 40 %.

Tabela 1. Resultados do acompanhamento do teor de umidade em percentual do coproduto em processo de secagem.

Peso (Kg)	Avaliação da Amostra			Avaliações do ambiente	
	pH	T (°C)	Umidade (%)	T (°C)	Umidade (%)
Inicial: 32,28	3,79	13	80	23,2	84
Final: 12,49	2,56	41	18,7	43,8	16

Para que o coproduto chegasse ao percentual de umidade desejado, foram dois dias de exposição das amostras ao sol. Após secagem, todo o material foi armazenado em sacos com capacidade para 40 L e *bags* de 500 Kg e armazenados em local fresco e arejado.

3.2. Instalações e animais:

O estudo foi realizado no pavilhão de ovinos do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Utilizaram-se para o estudo 34 cordeiras fêmeas mestiças das raças Texel e Corriedale com idade entre 9 e 10 meses e média de 33kg de peso vivo. Os animais e o coproduto da vitivinicultura foram cedidos pela Estância e Vinícola Guatambu, localizada no município de Dom Pedrito, RS. O coproduto utilizado para o estudo foi o bagaço composto por casca, polpa e sementes. Durante a safra da uva, nos meses de janeiro a março de 2015, foi coletado todo o bagaço descartado a cada processo de vinificação.

Logo após a chegada dos ovinos, estes foram pesados e separados em grupos de 4 e 5 animais os quais foram alocados em 8 baias de 7m² (2,00 x 3,5m), composta por cochos coletivos com espaço de 25 cm por animal e cocho com água a vontade. A lotação animal/baia respeitou um espaço de no mínimo de 1 m² por animal, as camas foram forradas com casca de arroz, e eram trocadas semanalmente. No dia posterior a chegada das cordeiras, realizou-se coleta de sangue para hemograma e fezes para exame coprológico, todos os animais foram tratados com ¹antiparasitário na dose de 1 mL para cada 10 Kg e ²coccidiostático na dose 1 mL para cada 2,5 Kg . A cada 30 dias foi realizado um novo exame coprológico e hematológico dos ovinos.

Os primeiros três meses foram destinados à adaptação ao manejo do confinamento e controle da sanidade. Durante este período os animais receberam uma dieta basal composta por feno de trevo branco (*Trifolium repens L.*) + tifton (*Cynodon spp*) e cornichão (*Lotus corniculatus*) *ad libitum* e foram adaptados

¹ Ripercol®L Solução, 250 mL, Laboratório Zoetis

² Baycox® Ruminantes, 250 mL, Laboratório Bayer

gradualmente ao concentrado até atingir o fornecimento de 1% de PV de ração Irgovel nutri ovinos 18®.

3.3. Delineamento experimental e dietas experimentais

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, os animais foram divididos em 4 grupos de 2 repetições. Três grupos apresentavam 8 animais divididos igualmente em duas repetições ou baias, estes receberam as dietas experimentais Trat 1, 2 e 3. O grupo controle foi composto por 10 animais, divididos em duas repetições/baia de 5 cordeiras cada.

Os tratamentos constaram de quatro níveis de substituição do feno de Jiggs (*Cynodon dactylum*) pelo coproduto da vitivinicultura na matéria seca (MS), foram eles:

- Grupo Controle (GC): dieta basal + 0% de coproduto na MS;
- Trat 1: dieta basal + 10% de coproduto na MS;
- Trat 2: dieta basal + 20 % de coproduto na MS;
- Trat 3: dieta basal + 30 % coproduto na MS.

A ração comercial ofertada aos ovinos foi a Nutra Ovinos 18® cedida pela Empresa Irgovel de Pelotas/RS. A composição bromatológica dos alimentos está expressa na tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica dos alimentos volumosos (feno de Jiggs e Coproduto da uva) e ração comercial (Nutra Ovinos 18®) que compuseram as dietas experimentais.

Composição Bromatológica	Feno	Coproduto da uva	Concentrado
MS (%)	96,24	73,88	92,08
MM (%)	8,92	4,93	19,67
PB (%)	9,45	9,95	18,24
NDT (%)	41,59	46,16	56,17
FDN (%)	76,04	50,88	30,50
FDA (%)	45,50	35,27	17,83
Ca (%)	0,29	0,26	3,14
P (%)	0,18	0,24	2,55
Cu (ppm)	13	36,80	16
Zn (ppm)	33	22	199

Para cálculo das dietas, utilizou-se o software de nutrição Super Crac Premium®. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas, e atenderem a exigência para peso e categoria animal de acordo com o NRC (2007). A composição das dietas encontram-se na tabela 3.

Tabela 3. Composição das dietas experimentais/animal/dia expressos em matéria seca (MS).

Composição das Dietas				
Percentual (%) em Matéria Seca				
Composição nutricional	GC	Trat 1	Trat 2	Trat 3
Feno	64,2	54,7	45,3	35,8
Concentrado	35,8	35,3	34,7	34,2
Coproducto da uva	-	10	20	30
Bicarbonato de sódio	0,5	0,5	0,5	0,5
NDT	46,8	47,2	47,6	47,9
Proteína	12,6	12,6	12,6	12,6
FDN	59,7	57,4	55,2	52,9
FDA	35,5	34,7	33,8	32,9
Cobre (ppm)	14,0	16,6	19,0	21,5
Zinco (ppm)	89,3	87,27	85,28	83,3
Cálcio	1,3	1,3	1,3	1,3
Relação Inicial Zn:Cu	6,5:1	5,5:1	4,7:1	4,0:1
Sulfato de Zn (mg/Kg)	-	22	45	68

De acordo com o NRC, (2007) a relação ideal é de Zn 3:1 Cu na matéria seca total, no entanto, as dietas foram ajustadas para apresentarem a mesma relação da dieta basal, ou seja, Zn 6:1 Cu (Tabela 3). Sabe-se que em 198 mg de sulfato de zinco ($ZnSO_4$) contém 45 mg de Zn, com base neste valor, foi possível chegar a mesma relação para todos os tratamentos.

3.4. Período de adaptação e experimental:

Durante o período de adaptação, as dietas foram fornecidas gradativamente quando atingiram a quantidade diária de cada nível experimental em 15 dias. As

dietas foram ofertadas duas vezes ao dia às 9h e às 16h. Diariamente antes do fornecimento da dieta, eram recolhidas e pesadas as sobras do cocho de cada baia, primeiramente era ofertado o feno de Jiggs e após o coproduto e a ração, misturados em misturador Y de capacidade para 5 Kg de ração por 12 minutos, acrescidos de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e com Sulfato de Zn (ZnSO_4). De forma a manter maior homogeneidade dos ingredientes da dieta, as sobras do cocho foram ajustadas para apresentar de 5 a 10 %, indicando que os animais tinham acesso à vontade ao alimento. O período de adaptação e experimental completaram 70 dias de avaliações.

3.5. Coletas e análises zootécnicas e bioquímicas:

3.5.1. Coleta das sobras:

Uma vez por semana, era coletada uma amostra homogênea das sobras do cocho de cada baia pela manhã e a tarde, para posterior análise bromatológica.

3.5.2. Aferição do peso:

Semanalmente era realizada a pesagem individual dos animais pela manhã em jejum em balança eletrônica para ovinos.

3.5.3. Acompanhamento bioquímico:

Semanalmente era realizada a coleta de sangue das borregas por meio da veia jugular com sistema de vacutainer®, em tubos com ativador de coágulo e tubos com fluoreto, para as seguintes análises bioquímicas: PPT, Albumina, AST, GGT, glicose e bilirrubina total e direta. Todas as leituras foram realizadas no analisador bioquímico automático Labmax® Plenno da Empresa Labtest.

3.5.4. Análise de Cu e Zn sérico:

O sangue coletado em tubos com ativador de coágulo, era centrifugado em centrífuga de tubos a 5.000 rpm durante 15 min. Após centrifugar, o soro era

armazenado em microtubos individuais e armazenados a -20°C , para posterior leitura.

3.5.5. Coleta e processamento das amostras de tecido hepático:

Foram realizadas duas biópsias hepáticas em 16 ovinos, sendo 4 por nível ou tratamento. Objetivou-se obter o acúmulo dos microminerais Cu e Zn no organismo animal. A 1ª biópsia foi realizada anteriormente ao fornecimento das dietas experimentais e a 2ª biópsia, logo após o final do experimento.

A técnica utilizada para realização das biópsias foi a percutânea com o auxílio de um trocater ovino guiado por ultrassom, adaptado a técnica descrita por Adrien-Delgado (2014).

Inicialmente foi realizada a tricotomia do flanco direito, contenção do animal em estação e assepsia do local com álcool iodado a 5%. A anestesia local e nas camadas dérmicas e musculares foi realizada com 20 mL de ¹Lidocaína a 1% por animal. A biópsia era realizada entre o 11ª e 12ª espaço intercostal, era feita incisão com bisturi das camadas dérmicas e musculares e após introduzia-se o trocater até atingir o tecido hepático, em seguida retirava-se o cateter com uma porção do tecido hepático no seu interior. Este imediatamente era dividido em duas porções: uma para análise de minerais armazenados congelados a -20°C e outro mergulhado em nitrogênio líquido e após armazenado em ultrafreezer a -80°C para análises posteriores, ambas porções de tecido hepático armazenados em criotubos estéreis.

Um dia anterior a realização das biópsias, foi administrado ³antibiótico de longa ação como forma preventiva e após a cirurgia novamente na dose de 0,8 mL para 20 Kg e ⁴antiinflamatório na dose de 0,5 mL para cada 20 Kg por mais 5 e 3 dias.

³ Xylestesin® 1 %, Laboratório Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos

⁴ Flunamine®, frasco com 50 mL, Laboratório Bayer

1 **4.0. Artigo**

2

3 **Níveis de Inclusão do Coproduto da Vitivinificação Associado ao**

4 **Zinco na Dieta de Ovinos**

5 **Revista: Animal Feed Science and Technology**

6 **Resumo:**

7 O coproduto da vitivinicultura é uma alternativa de alimento
8 volumoso, no entanto apresenta altos níveis do micro mineral
9 cobre. Ovinos alimentados com dieta rica em Cu podem
10 apresentar intoxicação cúprica cumulativa (ICC). Os objetivos
11 deste trabalho foram avaliar os níveis de inclusão do coproduto
12 da vitivinificação em substituição ao volumoso na dieta e a
13 eficácia do zinco na prevenção da intoxicação cúprica em
14 ovinos. Utilizaram-se para o estudo 34 cordeiras fêmeas
15 mestiças das raças Texel e Corriedale. O delineamento
16 experimental em blocos casualizados. Foram quatro níveis de
17 substituição do feno pelo coproduto da vitivinicultura na
18 matéria seca (MS). As dietas foram ajustadas para
19 apresentarem a mesma relação de Zn 6:1 Cu da dieta basal. O
20 consumo do coproduto em até 30 % em substituição ao feno
21 contribuiu para o ganho de peso semelhante entre os
22 tratamentos ($P = 0,92$) e satisfatório para categoria animal. O
23 aumento do cobre na dieta apresentou efeito linear ($P < 0,01$)
24 nos valores da enzima GGT e AST, bilirrubina total ($P = 0,05$)
25 e o grupo com maior nível de cobre na dieta também
26 apresentou maior consumo ($P < 0,01$). A substituição do feno

27 pelo coproduto da vitivinificação e até 30 % na MS
28 demonstrou-se satisfatório e não afetou negativamente o
29 consumo e o ganho de peso de cordeiros em crescimento. A
30 suplementação com sulfato de zinco em dietas a base de
31 coproduto da vitivinificação para ovinos, não é eficaz para a
32 prevenção de lesão hepática decorrente da absorção cúprica
33 durante um período de 70 dias de utilização.

34

35 **Palavras chave:** Bagaço de uva, micro minerais, enzimas hepáticas,
36 ruminantes, ganho de peso.

37

38 **1. Introdução**

39 O coproduto da vitivinicultura é um alimento volumoso
40 com alto potencial de utilização na nutrição animal, tendo já
41 sido investigada a sua adição em diferentes estudos
42 (Arvanitoyannis et al., 2006.; Basalan et al., 2011; Moate et al.,
43 2014). No entanto, este alimento, pode apresentar altos níveis
44 do micro mineral cobre (Cu), devido ao tratamento antifúngico
45 adotado nas videiras com sulfato de Cu (CuSO₄) a 2%. Grande
46 parte das vinícolas realizam o uso indiscriminado do CuSO₄
47 principalmente na fase de florescimento da planta, levando a
48 fitotoxicidade (Sônego; Garrido, 2013). O resultado desta prática
49 é o acúmulo residual de cobre no bagaço liberado durante o
50 processo de vitivinificação.

51 Ovinos alimentados com dieta rica em cobre, podem
52 apresentar intoxicação cúprica cumulativa (ICC), pois o limite

53 máximo deste mineral na dieta não deve exceder 8 mg/kg de
54 matéria seca (Suttle, 2010). Ovinos jovens podem apresentar
55 um risco de intoxicação até quatro vezes maior que os adultos
56 devido a sua maior capacidade de absorção de cobre (Ortolani,
57 1996). Esta intoxicação pode ocorrer na forma cumulativa, que
58 apresenta duas fases, uma subclínica que caracteriza-se pelo
59 acúmulo de cobre principalmente no fígado durante semanas ou
60 meses, e outra fase aguda, ocorre quando há liberação de Cu na
61 circulação sanguínea, causando hemólise, anemia, icterícia e
62 hemoglobinúria (Nederbragt, 2011).

63 A suplementação com Zn na dieta, é capaz de aumentar
64 a resistência do organismo a intoxicações por metais tóxicos
65 como mercúrio, cádmio, cobalto e cobre, a partir do estímulo
66 para produção de metalotioneína hepática, proteína aniônica
67 com alta capacidade quelante de metais, que realiza
68 detoxicação hepática ao englobar e eliminar este íons para fora
69 do organismo (Botha et al., 2001; Fazzio et al. 2013). No
70 entanto, poucos estudos estão disponíveis na literatura, sobre a
71 ação do zinco na prevenção da intoxicação cúprica em ovinos.
72 Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar os níveis
73 de inclusão do coproduto da vitivinificação em substituição ao
74 volumoso na dieta e a eficácia do zinco na prevenção da
75 intoxicação cúprica em ovinos.

76

77 1. Material e Métodos

78/1.1. *Animais, dietas e tratamentos experimentais:*

79 O estudo foi realizado no pavilhão de ovinos do
80 Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de
81 Pelotas. Os procedimentos realizados durante a execução do
82 experimento foram previamente aprovados pelo Comitê de
83 Ética e Experimentação Animal da UFPel e registrado sob o
84 número 3527. Foram utilizados 34 cordeiras cruza das raças
85 Texel e Corriedale com idade entre 9 e 10 meses e média de
86 33kg de peso vivo. O delineamento experimental foi em blocos
87 casualizados. Os animais foram divididos em 4 grupos com 2
88 repetições e alocados em baias com cama composta por casca
89 de arroz, trocadas semanalmente. Antes do início do
90 experimento, todos os animais foram tratados com
91 antiparasitário e coccidiostático. A cada 30 dias realizavam-se
92 um novo exame coprológico e hematológico dos ovinos.

93 As dietas foram formuladas para serem isoproteicas e
94 isoenergéticas, e atenderem a exigência para peso e categoria
95 animal de acordo com o NRC (2007). A composição
96 bromatológica dos alimentos esta expressa na Tabela 1. As
97 dietas foram constituídas de feno de Jiggs (*Cynodon*
98 *dactylum*), coproduto seco da uva (Bagaço, polpa e sementes)
99 e concentrado comercial (Nutra Ovinos 18® da Empresa
100 Irgovel).

101 Tabela 1. Composição bromatológica dos alimentos utilizados nas dietas
102 experimentais.

Composição Bromatológica ^a	Feno	Coproduto da uva	Concentrado
MS (%)	96,24	73,88	92,08
MM (%)	8,92	4,93	19,67
PB (%)	9,45	9,95	18,24
NDT (%)	41,59	46,16	56,17
FDN (%)	76,04	50,88	30,50
FDA (%)	45,50	35,27	17,83
Ca (%)	0,29	0,26	3,14
P (%)	0,18	0,24	2,55
Cu (ppm)	13,00	36,80	16,00
Zn (ppm)	33,00	22,00	199,00

103 ^a MS, matéria seca, MM, matéria mineral, PB, proteína bruta, NDT,
 104 nutrientes digestíveis totais, FDN, fibra em detergente neutro, FDA, fibra
 105 em detergente ácido, Ca, cálcio, P, fósforo, Cu, cobre, Zn, zinco.

106

107 Os tratamentos constaram de quatro níveis de
 108 substituição do feno pelo coproduto da vitivinicultura na
 109 matéria seca (MS), foram eles: Grupo Controle GC (n= 10 dieta
 110 basal + 0% de coproduto na MS); Trat 10 (n=8 dieta basal +
 111 10% de coproduto na MS); Trat 20 (n=8 dieta basal + 20 % de
 112 coproduto na MS) e Trat 30 (n=8 dieta basal + 30 % coproduto
 113 na MS). Para cálculo das dietas, utilizou-se o software de
 114 nutrição Super Crac Premium®.

115 De acordo com o NRC, (2007) a relação ideal Zn:Cu é
 116 de 3:1 na matéria seca total. No entanto, as dietas foram
 117 ajustadas para apresentarem a mesma relação da dieta basal,
 118 relação Zn:Cu de 6:1. Considerou-se o valor de 198 mg de
 119 sulfato de zinco (ZnSO₄) contendo 45 mg de Zn, como base
 120 para cálculo dos tratamentos. A composição nutricional e
 121 bromatológica das dietas experimentais estão descritas na
 122 tabela 2.

123 Tabela 2. Composição das dietas experimentais expressos em percentual de
124 matéria seca (MS).

Composição nutricional	Percentual (%) em Matéria Seca			
	GC	Trat 10	Trat 20	Trat 30
Ingredientes				
Feno	64,2	54,7	45,3	35,8
Concentrado	35,8	35,3	34,7	34,2
Coproduto da uva	-	10	20	30
Bicarbonato de sódio	0,5	0,5	0,5	0,5
Composição bromatológica				
NDT	46,8	47,2	47,6	47,9
PB	12,6	12,6	12,6	12,6
FDN	59,7	57,4	55,2	52,9
FDA	35,5	34,7	33,8	32,9
Cu (ppm)	14,0	16,5	19,0	21,5
Zin (ppm)	89,2	87,2	85,2	83,2
Ca	1,3	1,3	1,3	1,3
Relação Inicial Zn:Cu*	6,5:1	5,5:1	4,7:1	4,0:1
Sulfato de Zn (mg/kg)	-	22	45	68

125 * Após a inclusão de Sulfato de Zn nos tratamentos, todos os
126 grupos apresentaram uma relação de 6:1 de Zn:Cu.

127

128 Durante o período de adaptação, as dietas foram
129 fornecidas gradativamente até atingirem a quantidade diária de
130 cada nível experimental em 15 dias. As dietas eram ofertadas
131 duas vezes ao dia às 9h e às 16h. Primeiramente era ofertado o
132 feno picado com tamanho de partículas de 3 a 5 cm. Após 30
133 minutos realizava-se a batida da ração em misturador modelo Y
134 com capacidade para 5 kg/batida com: coproduto +
135 concentrado + Sulfato de Zn ($ZnSO_4$) + bicarbonato de sódio
136 ($NaHCO_3$).

137 Diariamente antes do fornecimento da dieta, eram
138 recolhidas e pesadas as sobras dos cochos de cada baia.
139 Semanalmente era realizada a pesagem individual dos animais

140 pela manhã, em jejum em balança eletrônica para ovinos. Uma
141 vez por semana era realizada a coleta de sangue das cordeiras
142 por meio da veia jugular com sistema de vacutainer®, em tubos
143 com ativador de coágulo e tubos com fluoreto, para as
144 seguintes análises bioquímicas: PPT, Albumina, AST, GGT,
145 glicose e bilirrubina total e direta.

146

147 *2.1. Avaliações*

148

149 Para indicativo de lesão hepática em caso de
150 intoxicação cúprica foi realizado o acompanhamento da
151 atividade sérica das enzimas hepáticas
152 aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase
153 (GGT) e dosagem de bilirrubina total e direta. Além dos
154 valores de ureia indicativos de distúrbio renal no quadro de
155 crise hemolítica.

156 O sangue foi coletado em tubos com ativador de
157 coágulo e fluoreto e centrifugado em centrífuga de tubos a
158 5.000 rpm durante 15 min. Após centrifugar, o soro era
159 armazenado em microtubos individuais e armazenados a -20°C.
160 As leituras das análises bioquímicas foram realizadas no
161 analisador bioquímico automático Labmax® Plenno (Labtest),
162 pelo método cinético UV-IFCC.

163

164 *1.2. Análise estatística*

165
166 O delineamento experimental utilizado foi de blocos
167 casualizados, considerando-se os quatro tratamentos e duas
168 repetições de cada. Para se verificar uma possível relação entre
169 as características estudadas a análise estatística foi realizada
170 por meio da aplicação dos testes de análise de medidas
171 repetidas para as variáveis bioquímicas (GGT, AST,
172 Bilirrubina total e direta, albumina, PPT e glicose) e de
173 desempenho (GMD, GPS, GP e consumo), considerando-se
174 como efeitos fixos dos tratamentos, bloco, período avaliado e
175 efeito aleatório do indivíduo. Foi avaliado o efeito entre o
176 valor médio dos tratamentos, semanas (dias) e suas interações.
177 When F-tests were significant, single degree of freedom
178 orthogonal contrasts (Steel and Torrie, 1980) were used to
179 determine linear, quadratic, and cubic effects of cooper levels.

180 Considerou-se significância de ($P < 0,05$) e as análises
181 foram realizadas no software NCSS®, 2005.

182

183 **2. Resultados**

184 *2.1. Desempenho*

185 Durante o período experimental, os animais
186 consumiram 100% do coproduto junto ao concentrado em todos
187 os tratamentos. O ganho de peso dos ovinos, que foi semelhante
188 entre os tratamentos ($P = 0,92$) e satisfatório para categoria
189 animal (Tabela 3). Houve variação significativa nos valores

190 médios finais de consumo de feno entre os grupos, onde o Trat
 191 30 apresentou maior ($P < 0,01$) consumo de feno em relação
 192 aos Trat 10,20 e GC.

193 Tabela 3. Valores médios de ganho de peso e consumo da dieta
 194 pelos ovinos submetidos a quatro Tratamentos de substituição do feno pelo
 195 coproduto na dieta durante u período de 70 dias.

	GC	Trat 10	Trat 20	Trat 30	Ep	Valor de P
Peso vivo inicial (kg)	33,3	34,3	33,2	33,7	2,22	0,94
GMD (kg)	0,080	0,081	0,086	0,100	0,01	0,92
GMS (kg)	0,509	0,518	0,545	0,636	0,11	0,92
Ganho no período (kg)	5,6	5,7	6,0	7,0	1,10	0,92
Consumo feno (%)	86,9 ^{ab}	82,2 ^b	81,9 ^b	88,7 ^a	0,03	0,01
Peso vivo final (kg)	38,9	40,0	39,2	40,8	3,10	0,98

196 ^{a,b,c} A diferença entre as letras na mesma linha, apresenta
 197 significância de $P < 0,05$.

198

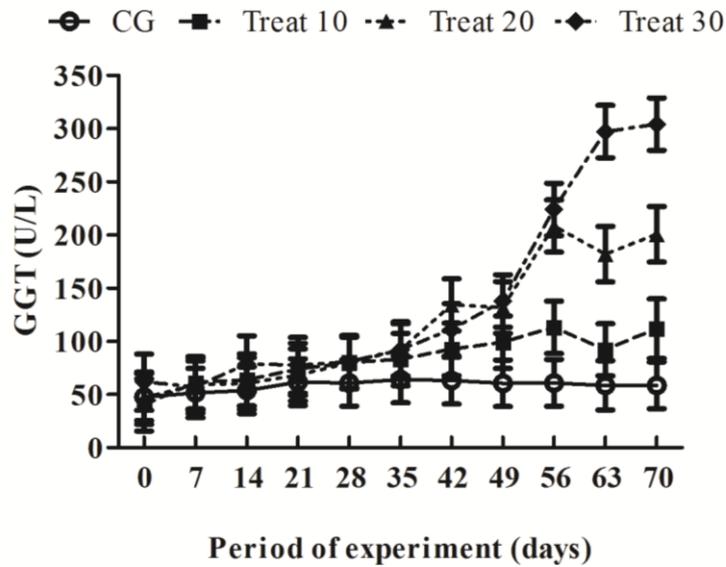
199 2.2. Monitoramento de função hepática

200

201 3.1.1 Atividade da enzima GGT

202

203 Na Figura 1, estão demonstrados os resultados dos
 204 valores médios semanais de GGT por tratamento. Os níveis
 205 basais foram de $47,6 \pm 21,6$ U/L, $40,1 \pm 24,2$ U/L, $46,3 \pm 24,2$
 206 U/L e $61,5 \pm 24,2$ U/L para GC, Trat 10, Trat 20 e Trat 30,
 207 respectivamente.



208

209 CG = grupo controle;

210 Trat 10, 20 e 30 = níveis de substituição com coproduto em (% na
211 MS);

212 Figura 1. Valores médios semanais da atividade da enzima GGT
213 (U/L), em quatro níveis de tratamento de ovinos alimentados com dieta
214 contendo alto teor de cobre e suplementados com sulfato de zinco.

215

216 Considerando-se o nível fisiológico dos ovinos, pôde-se
217 observar um aumento linear ($P < 0,001$) de acordo com a
218 inclusão de coproduto, onde a partir do 14º dia para Trat 30 (81
219 $\pm 25,9$ U/L) e 28º dia para Trat 10 ($80 \pm 24,2$ U/L) e para o Trat
220 20 ($79,5 \pm 24,2$ U/L) os valores da enzima GGT já se
221 apresentavam elevados em relação ao grupo controle ($58,5 \pm$
222 $21,6$ U/L). Estas diferenças foram estendendo-se durante todo o
223 restante do período experimental, aos 70 dias o Trat 30
224 apresentou maior acréscimo ($304,1 \pm 24,2$ U/L) em relação aos
225 demais tratamentos e controle (Figura 1).

226

227 *3.1.2. Comportamento enzima AST*

228

229 A figura 2 apresenta os valores de AST. Inicialmente a

230 atividade da enzima entre os tratamentos foram semelhantes

231 ($P > 0,05$), sendo estes de: GC ($135,3 \pm 36,4$ U/l), Trat 10 ($131,2$ 232 $\pm 40,7$ U/L), Trat 20 ($135,3 \pm 40,7$ U/L) e Trat 30 ($107,4 \pm 43,5$

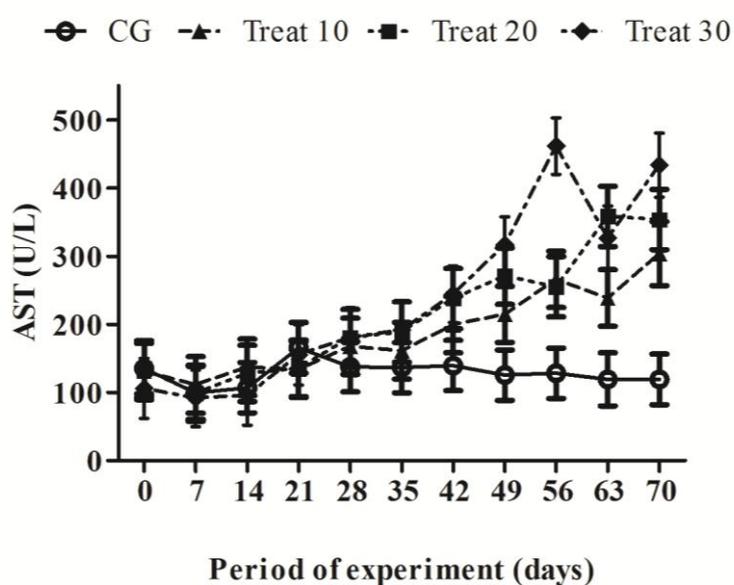
233 U/L), respectivamente. Durante as primeiras semanas, todos os

234 tratamentos apresentaram um aumento similar nos valores da

235 enzima, até o 21º dia de experimento. A partir do dia 28, os

236 valores para o GC se mantiveram, havendo um comportamento

237 de aumento linear de acordo com o incremento de cobre na

238 dieta ($P < 0,0001$).

239

240 CG = grupo controle;

241 Trat 10, 20 e 30 = níveis de substituição com coproduto em (% na

242 MS);

243

244 Figura 2. Valores médios semanais da atividade da enzima AST
245 (U/L), em quatro níveis de tratamento de ovinos alimentados com dieta
246 contendo alto teor de cobre e suplementados com ZnSO₄.

247

248 *3.1.3. Bilirrubina total e direta, Proteínas plasmáticas totais,*
249 *Albumina e Glicose:*

250

251 Houve aumento ($P < 0,01$) nos níveis plasmáticos médios da
252 bilirrubina total (Bili – T) para o Trat 30 ($1,09 \pm 0,22$ mg/dL)
253 em relação ao GC ($0,17 \pm 0,22$ mg/dL). Além disso, houve um
254 comportamento de aumento linear ($P < 0,0001$) da Bili – T de
255 acordo com os níveis de cobre na dieta. Contudo, a bilirrubina
256 direta ou conjugada (Bili – D) permaneceu dentro dos limites
257 fisiológicos para espécie entre 0,0 e 0,27 mg/dL ao longo de
258 todo o experimento, não demonstrando ser afetada ($P = 0,24$)
259 pelo incremento de cobre na dieta.

260 Os valores de albumina (Tabela 2) permaneceram
261 dentro dos limites fisiológicos para espécie (2,4 a 3,0 g/dL),
262 assim como os valores de PPT (6,0 a 7,9 g/dL) e glicose de 50 a
263 80 mg/dL (Shakeri, 2016).

264

265 Tabela 2. Média dos parâmetros bioquímicos semanais de ovinos
266 recebendo alto nível de cobre dietético e suplementados com sulfato de
267 zinco.

268

269

Parâmetros ¹	Tratamentos (%) ²					Valor de P ³	
	GC	Trat 10	Trat 20	Trat 30	Ep	S*T	T
Bili – T (mg/dL)	0,30 ^b	0,42 ^b	0,53 ^{ab}	0,68 ^a	0,07	P = 0,89	P = 0,01
Bili – D (mg/dL)	0,11	0,11	0,19	0,13	0,03	P = 0,68	P = 0,24
PPT (g/dL)	7,20	7,10	7,30	7,30	0,13	P = 0,00	P = 0,62
Albumina (g/dL)	2,90	2,90	2,90	2,90	3,98	P = 0,50	P = 0,43
Glicose (mg/dL)	52,50	52,50	52,40	52,60	1,50	P = 0,84	P = 1,00

270 ¹ PPT, Proteínas plasmáticas totais.

271 ² Níveis de substituição do feno pelo coproduto da vitivinicultura na
 272 dieta (0% de coproduto, 10 % de coproduto, 20 % de coproduto e 30 % de
 273 coproduto), Ep, erro padrão.

274 ³ S*T, interação semana x tratamento, T, tratamento.

275 ^{a,b,c} A diferença entre as letras na mesma linha, apresenta significância
 276 de P < 0,05.

277 Ao final das avaliações enzimáticas, mesmo com
 278 valores acima dos já descritos na literatura para ovinos (Suttle,
 279 2010; González, 2006), nenhuma cordeira apresentou
 280 sintomatologia clínica de intoxicação cúprica e não houve
 281 óbitos por crise hemolítica. Ainda, em sete animais do
 282 experimento (três do Trat 10, dois Trat 20 e dois Trat 30) por
 283 apresentarem valores de GGT alterados entre os demais dos
 284 respectivos grupos, foi realizada dosagem de ureia, creatinina e
 285 hemograma. No entanto, foi verificado que a função renal,
 286 estava dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie, e não
 287 houve alteração nos valores de contagem de glóbulos
 288 vermelhos no hemograma.

289

290 **3. Discussão**

291 A substituição do feno pelo coproduto na dieta em até

292 30 % na MS, não afetou negativamente o consumo e o ganho
293 de peso dos animais. Estes resultados estão de acordo com
294 Celaya et al. (2010) que não encontraram diferenças no
295 desempenho de cordeiros quando substituiu alfafa por até 30%
296 de bagaço de uva desidratado, obtendo 106 g de média de
297 ganho de peso diário. Desta forma, é possível a utilização do
298 coproduto da uva compondo em até 30% da matéria seca a
299 dieta de cordeiros sem afetar o desempenho destes.

300 O aumento precoce nos valores de GGT a partir do 14º
301 dia) no Trat 30 indica que há possibilidade de lesão hepática
302 decorrente da possível deposição de cobre neste órgão, uma vez
303 que outros trabalhos indicam que o limite para intoxicação é de
304 44 U/L (Suttle, 2010).

305 De acordo com Moreira et al, (2012), a GGT é a enzima
306 de eleição no monitoramento de lesão hepática, antes mesmo da
307 ocorrência dos sinais clínicos de intoxicação cúprica. A
308 liberação do Cu excedente no fígado é desencadeada pelo
309 processo de oxidação e morte dos hepatócitos, a enzima GGT
310 encontra-se no citoplasma da célula hepática e por isso é a
311 primeira enzima a apresentar aumento nos valores séricos,
312 quando ocorre qualquer processo que desestabilize a membrana
313 celular (Minervino, 2008). No entanto, o metabolismo do
314 fígado não parece ter sido afetado de modo a influenciar
315 negativamente o desempenho dos animais (Tabela 3).

316 Danos hepáticos podem afetar o metabolismo proteico e
317 energético e prejudicar o aproveitamento dos nutrientes
318 absorvidos (Shakeri, 2016). No entanto, é provável que em um
319 período maior de avaliações, poderia ter sido observado queda
320 no ganho de peso das cordeiras, devido a absorção de cobre
321 hepático e lesão celular. Suttle et al., (2012) observaram
322 aumento gradual da GGT em cordeiros recebendo uma dieta
323 com alto nível de cobre e suplementados com minerais
324 antagonistas (Mo, S e Zn) por 96 dias, após este período os
325 animais receberam uma dieta de depleção de cobre, quando
326 houve um decréscimo nos valores séricos da enzima.

327 Neste experimento, a AST da mesma forma que a
328 GGT, demonstrou indícios de dano hepático, porém a elevação
329 nos valores desta enzima só ocorreu a partir de três semanas
330 (dia 49). A enzima AST é a principal indicadora de dano
331 tecidual e está presente no citosol e mitocôndria dos
332 hepatócitos. O aumento dos seus níveis séricos pode indicar
333 hemólise no caso de intoxicação cúprica (González, 2006). Os
334 resultados do presente estudo estão de acordo com Ortolani et.
335 al. (2003) que acompanhou durante a fase pré-hemolítica a
336 atividade das enzimas (GGT, AST, fosfatase alcalina - FA e
337 sorbitol dehydrogenase - SDH). Os autores concluíram que a
338 variável mais precoce para indicar o acúmulo de cobre hepático
339 foi a atividade da GGT. Sendo assim, a AST não parece ser o
340 indicador mais eficiente e precoce relacionado à intoxicação

341 cúprica, embora apresente comportamento similar a GGT e
342 compatível com danos hepáticos.

343 Além disso, houve aumento da bilirrubina total, que
344 ocorre na perda da funcionalidade hepatocelular, obstrução do
345 fluxo biliar ou após uma hemólise intravascular aguda ou grave
346 (González, 2006). Sendo assim, pode se considerar mais um
347 indício de dano hepático pelos resultados de Bili -T ($P < 0,05$)
348 de acordo com a maior utilização de coproduto (Trat 30), ou
349 seja, maior quantidade de cobre na alimentação. Porém, da
350 mesma forma que os resultados das enzimas hepáticas (GGT e
351 AST), este potencial dano não foi capaz de exercer efeito
352 negativo sobre o desempenho dos animais.

353 Os resultados indicam que logo nas primeiras semanas a
354 suplementação com Zn, não foi eficiente para diminuir a
355 absorção do cobre dietético via intestinal e provavelmente, não
356 houve absorção de Zn suficiente para estimular a produção de
357 metalotioneína hepática. Em um período de 70 dias neste
358 experimento, demonstraram que a suplementação com zinco foi
359 ineficiente para diminuir a absorção de cobre, no entanto, de
360 alguma forma evitou que os animais entrassem em crise
361 hemolítica.

362

363 **4. Conclusão**

364

365 A substituição do feno pelo coproduto da vitivinificação
366 em até 30 % na MS demonstra-se satisfatório e não afeta
367 negativamente o consumo e o ganho de peso de cordeiros em
368 crescimento. A suplementação com sulfato de zinco em dietas
369 com alto nível de cobre para ovinos não é eficaz para a
370 prevenção de lesão hepática decorrente da absorção cúprica
371 durante um período de 70 dias de utilização, embora não
372 ocorram efeitos deletérios relacionados ao desempenho dos
373 animais e manifestações clínicas dos distúrbios. Assim, novos
374 estudos são necessários para elucidar melhor o mecanismo de
375 atuação do Zn na diminuição dos efeitos deletérios do Cu
376 dietético e o impacto deste último no desempenho e saúde
377 animal em períodos prolongados de utilização de dietas a base
378 de coproduto da vitivinificação para ovinos.

379

380 **Agradecimentos**

381 À Estância Vinícola Guatambú por ter cedido os ovinos
382 e o coproduto os quais viabilizaram a realização do
383 experimento. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento
384 Científico e Tecnológico – Cnpq pelo financiamento do
385 projeto, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
386 Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa.

387

388 **Referências**

389

390 Alimon, A.R., Ivan, M., Jalaludin, S., 2011. Effects of different
391 levels of dietary sulfur and molybdenum on concentrations

392 of copper and other elements in plasma and liver of lambs
393 fed palm kernel cake diets. *British Journal of Nutrition*.
394 106, 1224–1230 .

395

396 Allen, J.D., Gawthome, J.M., 1987. Effect of Molybdenum
397 Treatments on the Distribution of Cu and Metallothionein
398 in Tissue Extracts from Rats and Sheep. *Journal of*
399 *Inorganic Biochemistry* 31, 161-170 .

400

401 Antonelli, A. C., 2007. Avaliação do uso de um sal mineral
402 rico em molibdênio na prevenção da intoxicação cúprica
403 acumulativa em ovinos. Tese (Doutorado em Clínica
404 Médica) - USP. São Paulo, Brasil, 122 p.

405

406 Arvanitoyannis, I.S., Ladas, D., Mavromatis, A., 2006.
407 Potential uses and applications of treated wine waste: a
408 review. *International Journal of Food Science and*
409 *Technology* 2006, 41, 475–487.

410

411 Basalan, M., Gungor, T., Owens, F.N., Yalcinkaya, I., 2011.
412 Nutrient content and in vitro digestibility of Turkish grape
413 pomaces. *Anim. Feed Sci. Technol.* 169, 194–198.

414

415 Botha, C.J., Shakespeare, A.S., Gehring, R., Van Der Merwe,
416 D., 2001. Evaluation of a commercially available

417 molybdate formulation and zinc oxide boluses in
418 preventing hepatic copper accumulation and thus enzootic
419 icterus in sheep. JI S.Afr.vet.Ass. 72(4): 183–188.

420

421 Celaya, Y. P. et al., Influence of substitution of alfalfa hay for
422 unfermented dried grape pomace on performance and
423 carcass characteristics of growing sheep.
424 Proceedings...Western Section, American Society of
425 Animal Science Vol. 61, 2010.

426

427 EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária),
428 2014. Bagaço da uva vira alimentos funcionais - Portal
429 Embrapa. [https://www.embrapa.br/buscadenoticias//](https://www.embrapa.br/buscadenoticias//noticia/2235712/bagacodeuvaviraalimentosfuncionais)
430 [noticia/2235712/bagacodeuvaviraalimentosfuncionais](https://www.embrapa.br/buscadenoticias//noticia/2235712/bagacodeuvaviraalimentosfuncionais).
431 (Acesso em 30/12/2015).

432

433 Fazzio, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., Relling, A. E., Rosa,
434 D. E., 2013. Nutrición mineral y vitamínica de bovinos.
435 cap. 6, pág 95 a 120.

436

437 González, F. H. D.; Silva, S. C., 2006. Introdução a
438 Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª edição. Porto Alegre:
439 Editora da UFRGS.

440

441 Gooneratne, S.R., Howell, J.M., Aughey+, E., 1986. An

442 ultrastructural study of the kidney of normal, copper
443 poisoned and thiomolybdate -treated sheep. J. Comp.Path.
444 Vo~.96.

445

446 Grasser, L. A.; Fadel, J. G.; 1995. Garnett, I., Depeters, E. J.
447 Quantity and economic importance of nine selected by-
448 products used in California dairy rations. Journal of Dairy
449 Science, v. 78, n. 5, p. 962-971.

450

451 Minervino, A. H., Barrêto Júnior R. A., Queiroz, G. F.,
452 Headley S. A., Ortolani E. L. Predictive values of
453 aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl
454 transferase for the hepatic accumulation of copper in cattle
455 and buffalo. J. Vet Diagn Invest. 2008; 20(6): 791-5.
456 Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J.,
457 RELLING, A. E., Rosa, D. E.; Nutrición mineral y
458 vitamínica de bovinos. Ed. 2013, cap. 6, pág 95 a 120.

459

460 Moate, P.J., Williams, S.R.O., Torok, V. a, Hannah, M.C.,
461 Ribaux, B.E., Tavendale, M.H., Eckard, R.J., Jacobs, J.L.,
462 Auldish, M.J., Wales, W.J., 2014. Grape marc reduces
463 methane emissions when fed to dairy cows. J. Dairy Sci.
464 97, 5073–5087.

465

- 466 Moreira, C. N., Souza S. N., Barini A. C., Araújo, E. G.,
467 Fioravanti M. C. S. Serum γ -glutamyltransferase activity
468 as na indicator of chronic liver injury in cattle with no
469 clinical signs. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2012; 6: 1403-
470 1410. Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S.
471 J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; Nutrição mineral y
472 vitamínica de bovinos. Ed. 2013, cap. 6, pág 95 a 120.
473
- 474 Nederbragt, H., Van Den Ingh T. S. G. A. M., & Wensvoort, P.
475 2011. Pathobiology of copper toxicity Department of
476 Veterinary Pathology , University of Utrecht , Yalelaan 1,
477 Utrecht, 3508 T D, the Netherlands.
478
- 479 NCSS 7.0. 2005. Statistical System for Windows. User's Guide
480 I, II, III. Kaysville. Utah.
481
482
- 483 NRC (National Research Council) 2007. *Nutrient*
484 *requerements of sheep*. Washington: National Academy
485 Press, 408 p.
486
- 487 Ortolani, E. L., 1996. Intoxicações metabólicas em ovinos:
488 intoxicação cúprica,. In: Silva Sobrinho, A. G.; Batista, A.
489 M. V.; Siqueira, E. R; Ortolani, E. L.; Susin, I.; Silva, J. I.
490 C.; Teixeira, J. C., Borba, M. F. S. Nutrição de ovinos,
491 Jaboticabal: Funep, p. 241-246.

- 492
- 493 Ortolani, E.L., 2003. Intoxicação cúprica acumulativa em
494 ovinos. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, 5., Anais...
495 Salvador: Associação Brasileira de Buiatria,. p. 113-114.
496
- 497 Shakeri, P., 2016. Pistachio by-product as an alternative forage
498 source for male lambs: Effects on performance, blood
499 metabolites, and urine characteristics. *Animal Feed
500 Science and Technology* 211, 92–99 Contents.
501
- 502 Soares, P.C., Lizandra, M., Leal, R., Mori, C.S., Claudia, M.,
503 Sucupira, A., Ortolani, E.L., 2012. Blood gas profile of
504 copper-poisoned in sheep treated with ammonium
505 tetrathiomolybdate Perfil de gases sanguíneos de ovinos
506 intoxicados por cobre e tratados com tetratiomolibdato de
507 amônio. *Semin. Ciências Agrárias* 33, 731–740.
508
- 509 Sônego, O.R., Garrido, R. L., 2003. Uvas Americanas e
510 Híbridas para Processamento em Clima Temperado.
511 Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção, 2 .Versão
512 EletrônicaJan.[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.b](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaAmericanaHibridaClimaTemperado/doenca.htm#topo)
513 [r/FontesHTML/Uva/UvaAmericanaHibridaClimaTempera](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaAmericanaHibridaClimaTemperado/doenca.htm#topo)
514 [do/doenca.htm#topo](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaAmericanaHibridaClimaTemperado/doenca.htm#topo) (acesso em 15.01.2016).
515
- 516 Suttle, N.F., Lewis, R.M., Small, J.N.W., 2002. Effects of

517 breed and family on rate of copper accretion in the liver of
518 purebred Charollais, Suffolk and Texel lambs. *Anim. Sci.*
519 75, 295–302.

520

521 Suttle, N. F., 2010. *Mineral nutrition of livestock* / Neville F.
522 Suttle. - - 4th ed.

523

524 Suttle, N.F., 2012. Control of hepatic copper retention in Texel
525 ram lambs by dietary supplementation with copper
526 antagonists followed by a copper depletion regimen.
527 *Anim. Feed Sci. Technol.* 173, 194–200.

528

529

530 Vásquez, E. F. A., Herrera, N., P., Santiago, S., G., 2001.
531 Revisão Bibliográfica. Interação cobre, molibdênio e
532 enxofre em ruminantes copper, molybdenum and sulphur
533 interaction in ruminant nutrition 31, 1101–1106.

534

535

5.0. Considerações Finais

A substituição do feno pelo coproduto da vitivinificação em até 30 % na MS demonstra-se satisfatório e não afeta negativamente o consumo e o ganho de peso de cordeiros em crescimento. A suplementação com sulfato de zinco em dietas com alto nível de cobre para ovinos não é eficaz para a prevenção de lesão hepática decorrente da absorção cúprica durante um período de 70 dias de utilização, embora não ocorram efeitos deletérios relacionados ao desempenho dos animais e manifestações clínicas dos distúrbios. Assim, novos estudos são necessários para elucidar melhor o mecanismo de atuação do Zn na diminuição dos efeitos deletérios do Cu dietético e o impacto deste último no desempenho e saúde animal em períodos prolongados de utilização de dietas a base de coproduto da vitivinificação para ovinos.

6.0. Referências

ALLMON, A.R., Ivan, M., Jalaludin, S.. Effects of different levels of dietary sulfur and molybdenum on concentrations of copper and other elements in plasma and liver of lambs fed palm kernel cake diets. **British Journal of Nutrition**. 106, 1224–1230, 2011.

ALLEN, J.D., Gawthome, J.M., 1987. Effect of Molybdenum Treatments on the Distribution of Cu and Metallothionein in Tissue Extracts from Rats and Sheep. **Journal of Inorganic Biochemistry**. 31, 161-170 .

ANTONELLI, A. C., Avaliação do uso de um sal mineral rico em molibdênio na prevenção da intoxicação cúprica acumulativa em ovinos. **Tese (Doutorado em Clínica Médica)** - USP. São Paulo, Brasil, 122 p. 2007.

BASALAN, M., Gungor, T., Owens, F.N., Yalcinkaya, I.. Nutrient content and in vitro digestibility of Turkish grape pomaces. **Anim. Feed Sci. Technol**. 169, 194–198, 2011.

BREMNER, I., Young, B.W., Mills, C.F., 1976. Protective effect of zinc supplementation against copper toxicosis in sheep. **Brit. J. Nutr**. 36, 551–561.

CORREDDU, F., A. Nudda, G. Battacone, R. Boe, A.H.D. Francesconi, G. Pulina. Effects of grape seed supplementation, alone or associated with linseed, on ruminal metabolism in Sarda dairy sheep. **Anim. Feed Sci. Technol** 199, 61–72, 2015.

DRIEN-DELGADO, M. L; **La biopsia hepática en ovinos y bovinos como herramienta diagnóstica**. Nota Técnica, D.M.V. Dpto. Salud en los Sistemas Pecuarios, EEMAC. Cangue, nº 35, Julio, 2014.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Bagaçõ da uva vira alimentos funcionais** - Portal Embrapa. <https://www.embrapa.br/buscadenoticias/noticia/2235712/bagacodeuvaviraalimentosfuncionais>. 2014. (Acesso em 30/12/2015).

FAMUYIWA, O.; Ough, C. S., GRAPE POMACE: POSSIBILITIES AS ANIMAL FEED. 44 Am. **J. Enol. Vitic.**, Vol. 33, No. 1, 1982.

FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; **Nutriciõn mineral y vitamínica de bovinos**. Ed. 2013, cap. 6, pág 95 a 120.

GRASSER, L. A.; Fadel, J. G.. Garnett, I., Depeters, E. J. Quantity and economic importance of nine selected by-products used in California dairy rations. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 5, p. 962-971, 1995.

GOONERATNE, S.R., Howell, J.M., Aughey+, E., 1986. An ultrastructural study of the kidney of normal, copper poisoned and thiomolybdate -treated sheep. **J. Comp.Path.** Vo~.96.

IBRAVIN - Instituto Brasileiro do Vinho - estatistica@ibravin.org.br. **Panorama Geral**. Acesso em: 14 de novembro de 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. **Efetivo de ovinos em 31.12 e participações relativa e acumulada no efetivo total, segundo as Unidades da Federaçãõ e os 20 municípios com os maiores efetivos, em ordem decrescente** – 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produçãõ Agrícola – LSPA. **Pesquisa mensal de previsãõ e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Fevereiro, 2012.

IOANNIS, S., Arvanitoyannis, Demetrios Ladas & Athanasios. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, 41, 475–487. 2006.

JACKSON, M. J. Physiology of zinc: general aspects. Ed Mills C. F. Zinc in human biology. London: Springer Verlag (England). 1989; p 1-14. Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; **Nutrición mineral y vitamínica de bovinos**. Ed. 2013, cap. 6, pág 95 a 120.

JUNIOR, J. E. L., NEIVA, J. N. M., RODRIGUEZ, N. M., PIMENTEL, J. C. M., LÔBO, R. N. B., Consumo e Digestibilidade de Subprodutos do Processamento de Frutas em Ovinos. **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.2, p.659-669, 2005.

MACIEL, M. B. níveis de inclusão de silagem de bagaço de uva na alimentação de cordeiros em fase de terminação. **Tese de doutorado**, Santa Maria, RS, Brasil, 2012.

MAPA (Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento). **Culturas – Uva**. <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/uva>. Acesso em 28 de dezembro de 2015.

McDOWELL, L.R. 1992. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic, 524p.

MINERVINO, A. H., Barrêto Júnior R. A., Queiroz, G. F., Headley S. A., Ortolani E. L. Predictive values of aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl transferase for the hepatic accumulation of copper in cattle and buffalo. **J. Vet Diagn Invest**. 2008; 20(6): 791-5. Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; Nutrición mineral y vitamínica de bovinos. cap. 6, pág 95 a 120. Ed 2013.

MOREIRA, C. N., Souza S. N., Barini A. C., Araújo, E. G., Fioravanti M. C. S. Serum γ -glutamyltransferase activity as na indicator of chronic liver injury in cattle with no clinical signs. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. 2012; 6: 1403-1410. Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; Nutrición mineral y vitamínica de bovinos., cap. 6, pág 95 a 120. Ed. 2013.

NCSS 7.0. **Statistical System for Windows**. User's Guide I, II, III. Kaysville. Utah. 2005.

N.R.C.(National Research Council), 2005. **Mineral tolerance of animals / Committee on Minerals and Toxic Substances**, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies.— 2nd rev. ed

NRC (National Research Council) 2007. **Nutrient requirements of sheep**. Washington: National Academy Press, 408 p.

ORTOLANI, E. L. Intoxicações metabólicas em ovinos: intoxicação cúprica,. In: SILVA SOBRINHO, A. G.; BATISTA, A. M. V.; SIQUEIRA, E. R; ORTOLANI, E. L.; SUSIN, I.; SILVA, J. I. C.; TEIXEIRA, J. C., BORBA, M. F. S. **Nutrição de ovinos**, Jaboticabal: Funep, 1996. p. 241-246.

ORTOLANI, E.L., Machado, C.H., Sucupira, M.C.A.,. Assessments of some clinical and laboratory variables for early diagnoses of cumulative copper poisoning in sheep. **Vet. Hum. Tox.** 45, 289–293. 2003.

RIET-CORREA, F.; Schild, A. L.; Lemos, R. A. A.; Borges, J. R. J. **Doenças de ruminantes e equinos** – Santa Maria: Pallotti, 2007. 3ª ed. Vol 2 – pág. 62 a 68.

SCHNEIDER, V. E., PERESIN, D., TRENTIN, A. C., BORTOLIN, T. A., SAMBUICHI, R. H. R. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas** – ©Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - Ipea, Brasília, 2012.

SOARES, P.C., Lizandra, M., Leal, R., Mori, C.S., Claudia, M., Sucupira, A., Ortolani, E.L. Blood gas profile of copper-poisoned in sheep treated with ammonium tetrathiomolybdate Perfil de gases sanguíneos de ovinos intoxicados por cobre e tratados com tetratiomolibdato de amônio. **Semin. Ciências Agrárias** 33, 731–740, 2012.

SPEARS, J. W. Trace mineral bioavailability in ruminants. *J. Nutr.* 133:1506S–1509S, 2003.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R. Uvas Americanas e Híbridas para Processamento em Clima Temperado – **Doenças Fúngicas e Medidas de Controle**. Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção, 2 ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica Jan/2003. Acesso em: 14 de novembro de 2015.

SUTTLE, N. F.; **Mineral nutrition of livestock** / Neville F. Suttle. - - 4th ed. 2010.

SUTTLE, N.F. Control of hepatic copper retention in Texel ram lambs by dietary supplementation with copper antagonists followed by a copper depletion regimen. **Anim. Feed Sci. Technol.** 173, 194–200, 2012.

TAPIERO, H., Tew, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother.* 2003; 57 (9): 399-411. Citado por: FAZZIO, L. E, Mattioli, G. A., Picco, S. J., RELLING, A. E., Rosa, D. E.; **Nutrición mineral y vitamínica de bovinos**. Ed. 2013, cap. 6, pág 95 a 120.

VÁSQUEZ, E. F. A., Herrera, N., P., Santiago, S., G. Interação cobre, molibdênio e enxofre em ruminantes copper, molybdenum and sulphur interaction in ruminant nutrition. **Revisão Bibliográfica** 31, 1101–1106, 2001.

VILELA, D. Aditivo na ensilagem. Coronel Pacheco: **EMBRAPA/CNPGL**, 1989. 32p.