

Impacto dos adsorventes de micotoxinas β -glucana ou montmorilonita sobre a fermentação ruminal de bovinos *in vitro*

The Effect of Mycotoxins Adsorbents Beta Glucans or Montmorillonite on Bovine Ruminal Fermentation *In Vitro*

Marcelo Dal Pozzo¹, Julio Viegas¹, Gilberto Vilmar Kozloski¹, Cristiano Miguel Stefanello¹, Alisson Minozzo da Silveira¹, Cimélio Bayer² & Janio Morais Santurio³

ABSTRACT

Background: The addition of adsorbents in foods has been the strategy used by nutritionists to reduce the toxic effects of mycotoxins in animals. Mycotoxins are found in a range of foods and commonly they present variations in the chemical structure therefore, it has been appropriate to include adsorbents from different sources in the diet of ruminants. However, few researches were conducted in order to better understand the interaction of adsorbents on ruminal fermentation. Our objective in this study was to investigate the possible effects of two adsorbent products on bovine ruminal fermentation. One consists of 65% of β -glucan (β -glu), originating cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* and used at a concentration of 1% and natural sodium montmorillonite (MMT) at a concentration of 5%.

Materials, Methods & Results: The effects of β -glu adsorbents (1%) and MMC (5%) in culture medium that simulated ruminal fermentation were evaluated. Bottles, with a capacity of 120 mL, were used to be filled with substrate such as maize and ryegrass hay ground, nutrient solution (medium of Menke), liquid extracted rumen fistulated bovine and the two adsorbents evaluated, totaling 50 mL. The experiment was conducted with three treatments, named after: control (Cont), β -glu and MMT. In the control treatment adsorbents were not added. Six replicates were used for each treatment and two trials were conducted. One of the tests aimed to determine the fermentation kinetics by means of the gas production after 72 h' incubation and quantifying the production of methane (CH₄) at 48h. While another test aimed to quantify the production of short chain fatty acids (SCFA) - acetic, propionic and butyric acid - and the production of ammonia (NH₃) in 24 h incubation. All assays were measured by gas chromatography. The highest total SCFA concentration was observed in β -glu treatment (67.71 mM) significantly superior to CONT (57.7 mM) treatment and MMT (53.28 mM), which was significantly lower than the β -glu treatment, but similar to CONT. The average representation (%) of acetic acid for the treatment MMT (62.9%) was significantly higher than the β -glu treatment (61.0%). The average proportions of propionic acid were similar between treatments, while the average representation (%) of butyric acid production was significantly higher for the β -glu treatment (13.1%) compared to CONT treatments (11.3%) and MMT (11.4%). The amount of NH₃ was significantly reduced in MMT (9.6 mM) treatment compared to β -glu treatments (12.2 mM) and CONT (11.3 mM). In another test, the greater volume of gas (mL) was produced by β -glu treatment (103.4 mL), which was significantly greater than the treatments CONT (89.0 mL) and MMT (91.6 mL). The lag time, i.e. the time taken by the bacteria inoculum to develop lead-through in the substrate, in the MMT treatment took 6.2 h, slowing significantly compared to CONT treatments (4.8 h) and β Glu (4.33 h). The concentration of CH₄ was significantly lower in MMT treatment (33.0%) compared to the CONT treatments (36.3%) and β -glu (35.68%).

Discussion: The glucans which constitute the main cell wall *S. cerevisiae* are the β -glucans with β -1-3 and β -1,6 glycosidic bonds. The largest and most significant concentration of SCFA and gas volume in the β -glu treatment can be explained by the degradation of β -glucans by rumen bacteria. The possible reason of reduced concentration of methane (CH₄) in samples collected during 48 h of incubation in MMT treatment stands on the reduction in symbiotic activity of methanogenic bacteria and protozoa. Also, the possible reason of reduction in the concentration of ammonia (NH₃) in MMT treatment could be associated to damage on protozoa with proteolytic activity. Our results showed that the amount of montmorillonite in rumen fluid influenced negatively the fermentative activity, therefore, delaying the colonization of bacteria in rumen substrate composed of maize and ryegrass hay. Moreover, the use of β -glu (1%) significantly increased the amount of short chain fatty acids such as, acetic acid and butyric acid, with the exception of propionic acid.

Keywords: ruminal fermentation, mycotoxins adsorbents, beta glucan, montmorillonite.

Descritores: fermentação ruminal, adsorventes de micotoxinas, beta glucanas, montmorilonitas.

Received: 8 October 2015

Accepted: 27 December 2015

Published: 22 January 2016

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil. ²Departamento de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil. ³Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM, Santa Maria. CORRESPONDENCE: M. Dal Pozzo [marcelodalpozzo@gmail.com - Fax: +55 (55) 3911-0200]. Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Universitário, BR 472, Km 592, Caixa Postal 118. CEP 97508-000 Uruguiana, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

Atualmente, a adição de substâncias adsorventes de micotoxinas em dietas contaminadas tem sido o método mais prático, econômico e amplamente utilizado na nutrição animal, especialmente na alimentação de suínos e aves [6]. Os ruminantes são considerados mais resistentes que monogástricos a micotoxinas, a esse fato deve-se a capacidade de microrganismos ruminais na degradação e metabolização de algumas micotoxinas [8].

Os adsorventes apresentam capacidade de se ligar às micotoxinas em sítios específicos nas estruturas internas ou de superfície [5,10]. No meio entérico a montmorilonita cálcica protegeu as aves dos efeitos tóxicos da aflatoxina [10]. Também houve redução da aflatoxina M1 no leite produzido por vacas e cabras alimentadas com adsorvente [5,15]. Montmorilonitas (MMT), são materiais argilosos naturais do grupo das esmectitas e também conhecidos como filosilicatos. Componentes da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* também apresentam boa capacidade de adsorver micotoxinas. Um dos componentes da parede celular de fungos são polissacarídeos denominados de beta glucanas (β -glu). As ligações β (1-3 e 1-6) e a estruturação tridimensional em forma de hélice, habilitam esse polissacarídeo a adsorver algumas micotoxinas de forma eficiente. As interações entre zearalenona e β -glu ocorrem por meio de ligações de hidrogênio e através de pontes de van der Waals [20]. De outra maneira, MMTs adsorvem AFB1 através de ligações iônicas de sódio ou cálcio que estão ligando as camadas destes filosilicatos [4].

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o impacto da MMT sódica e β -glu sobre a microbiota ruminal de bovinos *in vitro*, tendo como substrato feno de azevém e milho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ensaio *in vitro*

Foram utilizados 18 recipientes de vidro com tampa de borracha e com capacidade de 120 mL. Em cada frasco foram acrescentados os seguintes ingredientes: a) Substrato: 200 mg de milho moído mais 300 mg de feno de azevém seco e moído; b) solução nutriente segundo Menke [9]: 40 mL, c) Inóculo: 10 mL de fluido ruminal extraído de bovino fistulado. O delineamento experimental foi composto por 3 tratamentos, com 6

repetições por tratamento, inteiramente casualizados e composto com a finalidade de medir a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e amônia (NH₃) em 24 h de incubação (ensaio 1) e, também, avaliar a cinética de produção dos gases da fermentação além de quantificar metano (CH₄) em 72 h de incubação (ensaio 2).

Delineamento experimental

Tratamento 1: Controle - Em cada recipiente foi colocado como substrato 200 mg de milho moído + 300 mg de feno seco de azevém, 40 ml de solução nutriente de Menke e o inóculo de 10 mL de fluido ruminal.

Tratamento 2: Beta Glucanas - Mesmo substrato, nutriente e inóculo do tratamento 1 acrescido 50 mg (1 mg/mL) de beta glucanas (β -Glu).

Tratamento 3: Montmorilonita sódica - Mesmo substrato, nutriente e inóculo do tratamento 1 acrescido de 250 mg (5 mg/mL) de montmorilonita (MMT).

Inoculação *in vitro*

Previamente a inoculação do fluido ruminal, os frascos com o substrato, nutriente e β -Glu ou MMT foram lacrados com tampa de borracha armazenados a 4°C por 12 h. Após este período os recipientes foram aquecidos em banho-maria até atingir 32°C e, então, inoculado o fluido ruminal conforme Silveira [14].

Preparo do Substrato

Foi utilizado feno de azevém (*Lolium multiflorum*) e grãos de milho (*Zea mays*) colhidos na região sul do Brasil e livres de micotoxinas. As amostras desses alimentos foram secas em estufa com ar forçado a 55-60°C por um período de 72 h e depois moídas utilizando-se peneiras de 2 mm de diâmetro.

Fluido Ruminal

Um novilho da raça holandesa, com fístula permanente no rúmen foi usado como doador do fluido ruminal. O novilho tinha acesso livre a água, recebia 30 kg de alimentos (silagem de milho, milho moído, farelo de soja e premix de minerais com vitaminas), divididos em duas refeições iguais às 8:00 e às 17:00 h. O fluido ruminal foi coletado 2 h após a alimentação da manhã. Depois de colhido, foi filtrado em oito camadas de gaze [16]. Este filtrado de fluido ruminal foi mantido em temperatura de 39°C sob constante gaseificação com CO₂ durante o período precedente (± 5 min) de sua adição às garrafas.

Ensaio 1

No ensaio 1, nos tempos 6 h, 12 h e 24 h de incubação, foram realizadas as leituras da pressão de gás gerados por um transdutor de pressão e um “data logger” (PDL 800®)¹ e no tempo 24 h foram coletadas amostras (1 mL) do conteúdo fermentado de cada frasco. Para cada amostra do fluido ruminal fermentado obtido das garrafas foi misturado com 0,3 mL de 2,5g/L de uma solução de ácido meta fosfórico, centrifugadas a 10.000 g por 15 min a 4°C. O sobrenadante (0,5 mL) foi coletado e congelado -20°C para posterior análise quantitativa de NH₃ e dos AGCC [14].

Os AGCC foram determinados por meio de cromatografia gasosa utilizando o cromatógrafo (Shimadzu®)², modelo GC-2014, equipado com detector de ionização de chama (DIC). A coluna capilar utilizada foi do modelo (HP-INNOWax®)³ 19091N-213 (30 m, 0,32 mm, 0,5 μ m). A temperatura de trabalho do injetor foi de 200°C e do detector de 250°C. A injeção foi no modo “split” com relação 1:30, utilizando o nitrogênio como gás de arraste. A curva de calibração externa foi feita com padrões cromatográficos (Chem Service®)⁴ de ácido acético (99,5%; CAS 64-19-97), propiônico (99%; CAS 79-09-4), butírico (98,7%; CAS 107-92-6). A concentração de NH₃ foi determinada nas amostras mediante colorimetria através de um fotocolorímetro modelo LGS 53 (Bel photonics®)⁵ utilizando a reação do indofenol [3].

Ensaio 2

Para interpretação das leituras de pressão (em psi= pressão por polegada quadrada) foi desenvolvida, a seguinte equação descrita por Silveira [14]:

$$V = 4,9515p + 0,656;$$

onde, V = volume de gás (mL); p = pressão mensurada (psi). Essa equação permite transformar psi por mililitro de gás. A produção total de gás foi considerada como a soma das produções parciais de cada leitura.

Nos tempos 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 18 h, 24 h, 36 h, 48 h e 72 h da incubação, foram realizadas as leituras da pressão de gás e o volume de gás foi estimado. A produção total de gás foi considerada como a soma das produções parciais de cada leitura. As médias de volumes acumulados, nas repetições de cada tratamento, foram usadas para estimar os padrões da fermentação microbiana conforme o modelo unicompartmental

descrito por Schofield *et al.* [11]: $V_t = V_f \times (1 + \exp(2-4 \times S \times (t-L))^{-1})^{-1}$, onde V_f é o volume final de gás (mL) no tempo t, S é a taxa de degradação (h^{-1}) e L é o tempo de colonização. Esse modelo foi ajustado pelo procedimento não-linear do pacote estatístico SAS do ano de 2001.

Para quantificação do metano (CH₄) por cromatografia gasosa foram coletadas 4 amostras de 10 mL do gás, de cada tratamento, acumulado entre os tempos 0-6 h, 6-12 h, 18-24 h e 24-48 h. As amostras (10 mL) de gás foram coletadas com auxílio de seringa e agulha, armazenadas em tubos tipo “extiner” com vácuo. A quantificação de CH₄ foi realizada empregando-se o cromatógrafo gasoso (Shimadzu®)² 2014 modelo Greenhouse equipado com três colunas empacotadas operando à 80°C, utilizando N₂ como gás de arraste (25 mL/min), injetor (250°C) com amostragem direta de 1 mL e detector de captura de elétrons (DCE) com Ni63 à 325°C. No DCE utilizou-se uma mistura de 5% de Argônio/Metano (P5) como gás “make-up” para melhorar a detecção de N₂O.

Para calcular a quantidade de CH₄, produzida em cada intervalo de leitura, foi utilizada a seguinte equação: $Px_iV = n_iRT$; onde P = pressão do sistema (atmosférica); x_i = fração molar do gás; V = volume de gás produzido; n_i = número de mols do gás (metano); R = constante dos gases ideais; T = temperatura [13]. Os resultados de volume de gás produzido e da concentração de CH₄ por cromatografia gasosa foram adicionados a equação, sendo assim, foi possível estimar a quantidade de CH₄ produzido nos intervalos de tempo da incubação.

Análise estatística

Os dados foram analisados no programa IBM SPSS 19.0, usando uma análise de variância ($Y_i = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$, onde: Y_i = efeito calculado, μ = média, T_i = efeito do tratamento, ε_{ij} = erro) e suas médias contrastadas pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

RESULTADOS

As menores produções dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram observadas no tratamento MMT (53,28 mM) sendo que essas médias foram significativamente menores que as produções observadas no tratamento β -glu (67,71 mM). As médias de AGCC do tratamento β -glu foram significativamente maiores que a do tratamento controle (57,7 mM). A representação

média (%) do ácido acético para o tratamento MMT (62,9 %) foi significativamente maior que a do tratamento β -glu (61,0%). As proporções médias de ácido propiônico foram semelhantes entre os tratamentos. Enquanto a representação média (%) da produção de ácido butírico foi significativamente maior para o tratamento β -glu (13,1%) em relação aos tratamentos CONT (11,3%), e MMT (11,4%). A quantidade de NH₃ foi reduzida de forma significativa no tratamento MMT (9,6 mM) em relação aos tratamentos β -glu (12,2 mM) e CONT (11,3 mM) [Tabela 1].

Na Tabela 2 observamos que o maior volume de gás (mL) foi produzido pelo tratamento β -glu (103,4 mL), que foi significativamente maior que o tratamento CONT (89,0 mL) e MMT (91,6 mL). O tempo de colonização, ou seja, o tempo em que as bactérias do inóculo levam para desenvolverem-se completamente no substrato, no tratamento MMT foram 6,2 h retardando a produção de forma significativa em relação aos tratamentos CONT (4,8 h) e β -glu (4,33 h). A produção de CH₄ foi significativamente menor no tratamento MMT (33,0 %) em relação aos tratamentos CONT (36,3%) e β -glu (35,68%).

Tabela 1. Efeitos de Beta-Glucanas (β -glu) e Montmorilonita sódica (MMT) sobre a produção média de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), amônia (NH₄) em 24 h de incubação *in vitro* de líquido ruminal de bovino com substrato composto por milho e feno de azevém.

Parâmetro	Tratamentos			SEM	P
	CON	β -glu (1%)	MMT (5%)		
AGCC (mM)	57,7 ^{bc}	67,71 ^a	53,28 ^c	3,99	<0,001
Acético (%)	61,9 ^{ab}	61,0 ^b	62,9 ^a	3,02	0,031
Propiônico (%)	23,8 ^a	23,3 ^a	23,4 ^a	0,77	0,65
Butírico (%)	11,3 ^{bc}	13,1 ^a	11,4 ^{bc}	0,76	<0,001
NH ₄ (mM)	11,3 ^{ab}	12,2 ^a	9,6 ^c	0,84	<0,001

Tratamentos: CON= Controle; β -glu = β -glucano; MMT = montmorilonita; SEM = Erro Padrão Médio; P < 0.05.

Tabela 2. Efeitos de Beta-Glucanas (β -glu) e Montmorilonita sódica (MMT) sobre a cinética da produção de gás em 72 h e representação média (%) de CH₄ no gás no acumulado em 48 h (4 medições) de incubação *in vitro* de líquido ruminal de bovino com substrato composto por milho e feno de azevém.

Parâmetro	Tratamentos			SEM	P
	CON	β -glu (1%)	MMT (5%)		
Vf gás (mL)	89,0 ^b	103,4 ^a	91,6 ^b	2,46	<0,001
S (h ⁻¹)*100	4,1 ^{bc}	4,61 ^a	4,2 ^{bc}	1,25	<0,001
L (h)*100	4,8 ^{bc}	4,33 ^{bc}	6,2 ^a	0,32	<0,001
CH ₄ (%)	36,3 ^a	35,68 ^a	33,0 ^b	0,87	<0,001

Tratamentos: CON= Controle; β -glu = β -glucano; MMT = montmorilonita; Cinética da produção de gás: Vf = volume final de gás (ml) no tempo t; L = tempo de colonização bacteriana em cada frasco no período 72 h (h); S = taxa de degradação por hora (h⁻¹). SE = Erro Padrão; P < 0.05.

DISCUSSÃO

Os adsorventes de micotoxinas são substâncias que atuam como esponjas químicas, adsorvem as micotoxinas no trato gastrointestinal e pelas fezes são eliminados; reduzem a absorção sanguínea e subsequente distribuição aos órgãos-alvos. A inclusão de adsorventes na ração é uma estratégia para reduzir a exposição do animal às micotoxinas.

A maior e expressiva produção de AGCC e volume de gás no tratamento β -glu podem ser explicados pela degradação de β -glucanas no meio ruminal. As principais glucanas que constituem a parede celular de *S. cerevisiae* são os β -glucanos com ligações glicosídicas β -1,3 e β -1,6 [20]. No rúmen, algumas bactérias podem produzir β -1,3 glucanases que rompem essa complexa estrutura e disponibiliza moléculas de glicose

para o metabolismo bacteriano [12]. Na literatura não foram encontrados trabalhos investigando os produtos resultantes da fermentação ruminal de β -glucanas. O produto usado no presente estudo continha 65% de β -glucanas e outros constituintes da parede celular de *S.cerevisae* podem estar envolvidos nos resultados obtidos. A utilização da parede celular de *S.cerevisae* na alimentação de vacas leiteiras aumentou o número de bactérias e a produção diária de leite confirmando os resultados encontrados neste estudo [7].

A influência de adsorventes de natureza argilosa como a montmorilonita sobre indicadores de fermentação ruminal foi investigada em outros estudos [1,2,17-19]. A redução na quantidade de metano (CH₄) em 24 h, observada no presente estudo, possivelmente foi decorrente da menor atividade das bactérias metanogênicas. A MMT induziu a diminuição da viabilidade de protozoários responsáveis em abrigar bactérias metanogênicas, prejudicando a relação de simbiose dessas bactérias com a população de protozoários [18]. A redução significativa da quantidade de amônia (NH₃) pode ser relacionada à capacidade de armazenamento de NH₃ pela MMT ou pela redução da atividade proteolítica dos protozoários [1]. A adição de 0,75% de MMT na dieta de ovinos, alimentados com alto teor de grãos, aumentou a quantidade de AGCC e o pH ruminal foi estabilizado mais próximo da neutralidade [19]. A literatura registra que não foi detectada redução na quantidade de AGCC no fluido ruminal com a adição de 2 mg/mL de MMT, em avaliação conduzida *in vitro* [2], enquanto que, em outra pesquisa, foi observado

um aumento nos níveis AGCC devido na presença de zeolita, bentonita ou carvão ativado [17]. Montmorilonita no meio ruminal parece influenciar negativamente a atividade fermentativa, como no presente estudo, onde essa argila induziu ao aumento do tempo para a colonização das bactérias ruminais no substrato composto por milho e feno de azevém.

CONCLUSÕES

Os adsorventes β -glu (65% de β -glucanas; 1 mg/mL) e MMT (montmorilonita) 5 mg/mL afetaram a fermentação ruminal *in vitro* na presença dos substratos compostos por milho e silagem de azevém.

O tratamento com β -glu aumentou significativamente a quantidade de ácidos graxos de cadeia curta - ácido acético e ácido butírico, com exceção do ácido propiônico,

A MMT induziu uma redução na produção de amônia em quanto a β -Glu estimulou a produção de gases totais.

A MMT retarda a colonização das bactérias ruminais no substrato.

MANUFACTURERS

¹LANA/CENA/USP. Piracicaba, SP, Brazil.

²Shimadzu do Brasil. São Paulo, SP, Brazil.

³Agilent Fast Fact. Santa Clara, CA, USA.

⁴Chem Service. West Chester, PA, USA.

⁵Bel Photonics do Brasil Ltda. Piracicaba, SP, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest and alone is responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 **Abdel-Rahman, M. A. 2010.** *In vitro* Manipulation of Rumen Fermentation Efficiency by Fumaric acid - Bentonite Coupled Addition as an Alternative to Antibiotics. *Journal of Agricultural Science*. 2(2): 174-180.
- 2 **Aitchison E.M., Rowe J.B. & Rix G.S. 1986.** Effect of Bentonite Clays on Rumen Fermentation and Diet Digestibility. *Proceeding Nutrition Society Australian*. 11: 111-114.
- 3 **Bal M.A., Shaver R.D., Jirovec A.G., Shinnors K.J. & Coors J.G. 2000.** Crop processing and chop length of corn silage: effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 83(6): 1264-1273.
- 4 **Desheng Q., Fan, L., Yanhu Y. & Niya Z. 2005.** Adsorption of aflatoxin B1 on montmorillonite. *Poultry Science*. 84(6): 959-961.
- 5 **Diaz D.E., Hagler Jr. W.M., Blackwelder J.T., Eve J.A., Hopikins B.A., Anderson K.L., Jones F.T. & Whitlow L.W. 2004.** Aflatoxin Binder II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia*. 157(2): 233-241.
- 6 **Diaz D.E. & Smith T.K. 2005.** Micotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralization of mycotoxins. In: Diaz E.D. (Ed). *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham: University Press, pp.323-339.

- 7 Dobicki A., Jerzy P., Andrzej Z. & Roman K. 2006. *Saccharomyces cerevisiae* preparations in the feeding of cows and their effect on milk yield and composition well as rumen microorganisms. *Electronic Journal Polish Agricultural Universities*. 9(4),#48. Disponível em: <<http://ps.oxfordjournals.org/content/84/6/959.full.pdf>> [Accessed online March 2015].
- 8 Jouany J.P., Yiannikouris A. & Bertin G. 2009. Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminants products. *Options Méditerranéennes*. A(85): 205-224.
- 9 Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steigass H., Fritz D. & Schneider W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*. 93(1): 217-222.
- 10 Phillips T.D., Kubena L.F., Harvey R.B., Taylor D.R. & Heidelbaugh N.D. 1998. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Science*. 67(2): 243-247.
- 11 Schofield P., Pitt R.E. & Pell A.N. 1994. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *Journal Animal Science*. 72(11): 2980-2991.
- 12 Selinger L.B., Forsberg C.W. & Cheng K.J. 1996. The Rumen: A Unique Source of Enzymes for Enhancing Livestock Production. *Anaerobe*. 2(5): 263-284.
- 13 Silva L.S., Griebeler G., Freire D. & Bayer C. 2011. Dinâmica da emissão de metano em solos sob cultivo de arroz irrigado no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 35(2): 473-481.
- 14 Silveira, A. M. 2013. Efeito de ácidos orgânicos ou monensina sódica sobre a fermentação ruminal. 52f. Santa Maria, RS. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.
- 15 Smith E.E., Phillips T.D., Ellis J.A. Harvey R.B., Kubena L.F., Thompson J. & Newton G. 1994. Dietary hydrated sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxina M1 residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *Journal Animal Science*. 72(3): 677-682.
- 16 Upadhaya S.D., Sung H.G. & Lee C.H. 2009. Comparative study on the aflatoxin B1 degradation ability of rumen fluid from Holstein steers and Korean native goats. *Journal of Veterinary Science*. 10 (1): 29-34.
- 17 Váradyová Z., Baran M., Siroka P. & Styriaková I. 2003. Effect of silicate minerals (zeolite, bentonite, kaolin, granite) on *in vitro* fermentation of amorphous cellulose, meadow hay, wheat straw and barley. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 116(7-8): 317-321.
- 18 Wallace R.J. & Newbold C.J. 1991. Effect of bentonite on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec) and rumen ciliate protozoa. *Journal of Agriculture Science Cambridge*. 116(1): 163-168.
- 19 Waltz L.S., White T.W., Fernandez J.M., Gentry L.R., Blouin D.C., Froetschel M.A., Brown T.F., Lupton C.J. & Chapa A.M. 1998. Effects of fish meal and sodium bentonite on daily gain, wool growth, carcass characteristics, and ruminal and blood characteristics of lambs fed concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 76(8): 2025-2031.
- 20 Yiannikouris A., André G., Poughon L., François J., Dussap C.G., Jeminet G., Bertin G. & Jouany J.P. 2006. Chemical and conformational study of the interactions involved in mycotoxin complexation with beta-D-glucans. *Biomacromolecules*. 7(4): 1147-1155.