AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DIGESTÃO DO BAGAÇO DE
CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* sp. L) AUTO-HIDROLISADO EM BOVINOS

FERNANDO BASILE DE CASTRO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr.

PAULO FERNANDO MACHADO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração : Nutrição Animal e Pastagens.

P i r a c i c a b a
Estado de São Paulo - Brasil
Abril - 1989

C355a Castro, Fernando Basile de
Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum sp. L*) auto-hidrolisado em bovinos. Piracicaba, 1989.
123 p.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Bagaço de cana-de-açúcar - Digestibilidade 2. Bagaço de cana-de-açúcar - Hidrólise 3. Bagaço de cana-de-açúcar na alimentação animal 4. Bovino - Alimentação I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 636.2084

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DIGESTÃO DO BAGAÇO DE
CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* sp. L) AUTO-HIDROLISADO EM BOVINOS

FERNANDO BASILE DE CASTRO

Aprovada em: 16.05.1989

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Antonio Carlos Silveira

FCA/UNESP

Prof. Dr. Celso Boin

ESALQ/USP

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado

ESALQ/USP

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado
Orientador

AGRADECIMENTOS

- Ao prof. Dr. Paulo Fernando Machado, pela orientação e incentivo constante ao longo da minha formação acadêmica e iniciação científica.

- Aos profs. Drs. Raul Dantas d'Arce e Wilson Roberto Soares Mattos, pelo grande apoio e incentivo dado à minha iniciação científica e durante o curso de pós-graduação.

- Ao prof. Dr. Celso Boin, pelas valiosas sugestões durante o planejamento e condução deste trabalho.

- Aos estagiários Eda Maria Furlani Piedade, Humberto Maciel França Madeira, Marcelo Eduardo Pereira de Souza, Ricardo Carneiro Novaes e Sérgio Raposo de Medeiros, pela grande colaboração durante a condução do experimento.

- Aos profs. Drs. Epaminondas S.B. Ferraz e Francisco J. Krug pela possibilidade de utilização de seus laboratórios.

- A engenheira agrônoma Maria Angélica Ferraz de Toledo Machado pelo auxílio no delineamento e análise estatística deste experimento.

- Aos Departamentos de Zootecnia e Zoologia da ESALQ/USP, pelo oferecimento de condições laboratoriais necessárias à execução deste trabalho.

- A Usina São Martinho S/A - Açúcar e Alcool, pelo financiamento e colaboração na execução deste trabalho.

- A International Foundation for Science e EMBRAPA pelo financiamento do trabalho.

- A FAPESP, pela concessão de bolsa de estudos.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	vi
RESUMO	vii
SUMMARY	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Características dos componentes da parede celular ...	6
2.1.1. Celulose	6
2.1.2. Hemicelulose	6
2.1.3. Lignina	7
2.2. Características do bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i> 9	
2.2.1. Composição químico-bromatológica	9
2.2.2. Desempenho animal	11
2.3. Características do bagaço de cana-de-açúcar auto- hidrolisado	13
2.3.1. O processo de auto-hidrólise	13
2.3.2. Efeitos do processo na composição química	15
2.3.2.1. Análise pelo sistema proximal	15
2.3.2.2. Análise pelo sistema de detergentes .	16
2.3.2.3. Perda de matéria seca	17
2.3.2.4. Produção de monômeros fenólicos	18

2.3.3.0. Efeitos do processo na utilização por ruminantes	19
2.3.3.1. Efeitos na digestibilidade <i>in vitro</i> ..	19
2.3.3.2. Efeitos na degradabilidade <i>in situ</i> ..	22
2.3.3.3. Efeitos na digestibilidade <i>in vivo</i> ..	23
2.3.3.4. Efeitos na fisiologia do rúmen	25
2.3.3.5. Efeitos no desempenho animal	27
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. Descrição das fases do experimento	31
3.1.1. Fase I: Definição das condições de tratamento do bagaço de cana-de-açúcar	31
3.1.1.1. Descrição dos tratamentos	33
3.1.1.2. Rotina de amostragens e coleta de dados	34
3.1.1.3. Determinações efetuadas	34
3.1.1.4. Análise estatística	35
3.1.2. Fase II: Ensaios de degradabilidade <i>in situ</i> ..	36
3.1.2.1. Manejo dos animais	36
3.1.2.2. Descrição das dietas	37
3.1.2.3. Descrição do período de coleta	40
3.1.2.4. Descrição dos alimentos incubados ...	40
3.1.2.5. Descrição das variáveis analisadas ..	41
3.1.2.6. Análise estatística	42
3.1.3. Fase III: Avaliação da fermentação ruminal, cinética de passagem de sólidos e líquidos e digestibilidade	42
3.1.3.1. Descrição dos tratamentos	42

3.1.3.2.	Avaliação da cinética de passagem de líquidos e da fermentação ruminal ...	43
3.1.3.3.	Ensaio de digestibilidade <i>in vivo</i> e balanço de nitrogênio	47
3.1.3.4.	Avaliação da cinética de passagem de sólidos pelo rúmen e trato gastrin- testinal	48
3.1.3.5.	Análise estatística	50
3.2.	Descrição das análises utilizadas	51
3.2.1.	Análise químico-bromatológica	51
3.2.2.	Análise de digestibilidade verdadeira <i>in vitro</i>	51
3.2.3.	Análise de degradabilidade <i>in situ</i>	51
3.2.3.1.	Tratamento matemático dos resultados	53
3.2.4.	Metodologia de marcação de fase líquida, Cr-EDTA	54
3.2.5.	Metodologia de determinação de AGV	55
3.2.6.	Metodologia de determinação de N-NH ₃	57
3.2.7.	Metodologia de determinação de protozoários ..	57
3.2.8.	Metodologia de marcação de fase sólida	57
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1.	Composição químico-bromatológica, degradabilidade <i>in situ</i> e digestibilidade <i>in vitro</i> do bagaço <i>in natura</i> ..	59
4.2.	Efeitos da pressão e vapor nas características do bagaço auto-hidrolisado	61
4.3.	Ensaio de degradabilidade <i>in situ</i>	66
4.3.1.	Degradabilidade <i>in situ</i> da fração insolúvel da matéria seca, DISI	72

4.3.2. Taxa de degradação <i>in situ</i> da fração insolúvel potencialmente degradável, TD	76
4.3.3. Taxa de degradação <i>in situ</i> real da fração insolúvel, TR	78
4.3.4. Tempo de colonização <i>in situ</i> , TC	80
4.3.5. Coeficiente de correlação linear das curvas de degradação <i>in situ</i> , r^2	82
4.4. Fermentação ruminal, cinética de passagem de sólidos e líquidos e digestibilidade	84
4.4.1. Digestibilidade <i>in vivo</i> e balanço de nitrogê- nio	84
4.4.2. Cinética de passagem de líquidos e da fermen- tação ruminal	90
4.4.3. Avaliação da cinética de passagem de sólidos pelo rúmen e trato gastrintestinal	103
5. CONCLUSÕES	110
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1: Curva de degradabilidade <i>in situ</i> potencial da fração insolúvel de três tipos de alimentos	75
Figura 2: Curva de degradabilidade <i>in situ</i> efetiva da fração insolúvel de três tipos de alimentos	75
Figura 3: Efeito de diferentes condições ruminais na degradabilidade <i>in situ</i> de três tipos de alimentos	77
Figura 4: Efeito de diferentes condições ruminais na taxa de degradação <i>in situ</i> de três tipos de alimen- tos	77
Figura 5: Efeito de diferentes condições ruminais na taxa de degradação real <i>in situ</i> de três tipos de ali- mentos	81
Figura 6: Efeito de diferentes condições ruminais no tem- po de colonização <i>in situ</i> de três tipos de ali- mentos	81
Figura 7: Efeito de diferentes dietas na variação ao lon- go do dia do pH ruminal	96
Figura 8: Efeito de diferentes dietas na variação ao lon- go do dia da concentração de N-NH ₃ ruminal	96
Figura 9: Efeito de diferentes dietas na variação ao lon- go do dia da concentração de AGV ruminal	100

Figura 10: Efeito de diferentes dietas na variação ao longo do dia da porcentagem molar de isoácidos no rúmen	100
Figura 11: Efeito de diferentes condições ruminais na degradabilidade <i>in situ</i> do bagaço <i>in natura</i> e auto-hidrolisado	109
Figura 12: Efeito de diferentes condições ruminais na indegradabilidade <i>in situ</i> do bagaço <i>in natura</i> e auto-hidrolisado	109

LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1: Composição químico-bromatológica dos alimentos e das dietas	39
Tabela 2: Efeito de batelada na composição químico-bromatológica, degradabilidade <i>in situ</i> e digestibilidade <i>in vitro</i> do bagaço <i>in natura</i>	60
Tabela 3: Resultados das probabilidades da análise de variância para efeito de batelada do BIN	61
Tabela 4: Efeito do tempo de auto-hidrólise na composição químico-bromatológica, degradabilidade <i>in situ</i> , e digestibilidade <i>in vitro</i> do BAH	62
Tabela 5: Resultados das probabilidades da análise de variância para efeito do tempo de tratamento	63
Tabela 6: Resultados das probabilidades da análise de regressão linear entre o tempo de tratamento e as variáveis	65
Tabela 7: Resultados das probabilidades da análise de variância considerando os efeitos de dieta, alimento, tempo, animal e rodada	71
Tabela 8: Resultados do teste de Tukey para efeito de dieta ao nível de 5% de probabilidade, nas variáveis do método <i>in situ</i>	69

Tabela 9: Resultados do teste de Tukey para efeito de amostra ao nível de 5% de probabilidade, nas variáveis do método <i>in situ</i>	71
Tabela 10: Efeito de diferentes dietas na degradabilidade <i>in situ</i> da fração insolúvel da matéria seca de três tipos de alimentos incubados	73
Tabela 11: Efeito de diferentes dietas na taxa de degradação <i>in situ</i> de fração insolúvel potencialmente degradável de três tipos de alimentos incubados	78
Tabela 12: Efeito diferentes dietas na taxa de degradação <i>in situ</i> real da fração insolúvel de três tipos de alimentos incubados	79
Tabela 13: Efeito de diferentes dietas no tempo de colonização <i>in situ</i> de três tipos de alimentos incubados	80
Tabela 14: Efeito de diferentes dietas no coeficiente de correlação linear das curvas de degradação <i>in situ</i> em três tipos de alimentos incubados	83
Tabela 15: Consumo médio das frações brutas e digestíveis nas dietas de BIN e BAH	85
Tabela 16: Digestibilidade <i>in vivo</i> média das diferentes frações das dietas e dos nutrientes digestíveis totais, NDT	87
Tabela 17: Dados médios do balanço de nitrogênio	89

Tabela 18: Dados médios dos ensaios de Cr-EDTA, para avaliação da cinética de passagem de fase líquida do rúmen	91
Tabela 19: Dados médios de pH ruminal, pH fecal, nitrogênio amoniacal e protozoários	93
Tabela 20: Dados médios das concentrações, porcentagens e relações molares dos ácidos graxos voláteis ...	99
Tabela 21: Dados médios das estimativas de produção de gases e de hexose fermentada no rúmen a partir da proporção de C2, C3 e C4 e volume ruminal ..	103
Tabela 22: Dados médios dos ensaios de Cr-Mordente, para avaliação da cinética de passagem de fase sólida do rúmen, pós-rúmen e no trato digestivo .	105
Tabela 23: Dados médios de degradabilidade <i>in situ</i> real em condições potenciais e efetivas	107
Tabela 24: Dados médios da estimativa da fração que passa pelo rúmen sem ser degradada, em relação à potencialmente degradável	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGV	- ácidos graxos voláteis
BAH	- bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado
BIN	- bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i>
CZ	- cinzas
C2	- ácido acético
C3	- ácido propiônico
C4	- ácido butírico
DIS	- degradabilidade <i>in situ</i>
DISI	- degradabilidade <i>in situ</i> da fração insolúvel
DIV	- digestibilidade <i>in vivo</i>
DIVMS	- digestibilidade <i>in vivo</i> da matéria seca
DVIV	- digestibilidade verdadeira <i>in vitro</i>
DVIVMS	- digestibilidade verdadeira <i>in vitro</i> da matéria seca
EE	- extrato etéreo
ENN	- extrativo não nitrogenado
FDA	- fibra em detergente ácido
FDN	- fibra em detergente neutro
FB	- fibra bruta
MS	- teor de matéria seca
NDT	- nutrientes digestíveis totais
N-NH3	- nitrogênio amoniacal
PB	- proteína bruta
TC	- tempo de colonização <i>in situ</i>
TD	- taxa de degradação <i>in situ</i> da fração potencialmente degradável
TR	- taxa de degradação <i>in situ</i> real

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DIGESTÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR
(*Saccharum* sp. L) AUTO-HIDROLISADO EM BOVINOS

Autor: FERNANDO BASILE DE CASTRO

Orientador: Prof. Dr. PAULO FERNANDO MACHADO

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba, estado de São Paulo.

O objetivo foi estudar o processo de digestão em bovinos, de dietas contendo bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado (BAH), como volumoso exclusivo.

Este trabalho foi dividido em três fases:

Fase I: para se obter um BAH com as melhores características para os ensaios de alimentação, foram efetuados tratamentos em diferentes condições de pressão e tempo, quais sejam, pressão (Kgf/cm²) / tempo (minutos): 13/6, 13/8, 13/10, 15/4, 15/6, 15/8, 17/3, 17/5, 17/7, 19/2, 19/4 e 19/6. A avaliação dos tratamentos foi efetuada através das seguintes determinações: matéria seca, MS; extrato etéreo, EE; fibra em

detergente neutro, FDN; fibra em detergente ácido, FDA; lignina; celulose; hemicelulose; digestibilidade verdadeira *in vitro*, DVIV; degradabilidade *in situ* da fração insolúvel, DISI; pH e furfural.

Os resultados mostraram que, entre as determinações efetuadas, apenas lignina e DISI detectaram efeito de diferentes condições de tratamento. Através destas determinações concluiu-se que os melhores tratamentos foram: 17/7, 19/4 e 19/6. Para a avaliação posterior do BAH nos ensaios de alimentação utilizou-se o tratamento 19/6.

Fase II: utilizou-se duas fêmeas adultas fistuladas e através da metodologia *in situ*, avaliou-se a degradação de 3 tipos de alimentos: 1. Bagaço *in natura* (BIN); 2. BAH; e 3. Folhas de capim Elefante (Padrão) em três tipos de dietas: 1. 100% de feno; 2. 48,19% de BIN + 39,57% de milho + 12,24% de concentrado protéico; e 3. 65,65% de BAH + 15,99% de milho + 19,36% de concentrado protéico.

Os resultados desta fase mostraram que a degradação efetiva e potencial do BIN foram semelhantes e que a degradação potencial do BAH é superior a degradação potencial do BIN. Porém, nas condições efetivas de degradação, ou seja, na dieta de BAH, a degradação do BAH se aproxima do BIN, indicando que existem grandes possibilidades de elevação do seu valor nutritivo.

Fase III: utilizou-se seis fêmeas adultas fistuladas e através das determinações de digestibilidade *in vivo*; balanço de nitrogênio; produtos de fermentação ruminal: AGV, N-NH₃ e pH; população de protozoários e cinética de passagem de fase líquida e sólida, avaliou-se as dietas 2. e 3. descritas anteriormente.

Os resultados indicaram que a dieta de BAH proporcionou ao rúmen condições desfavoráveis à degradação de fibra, concordando com os resultados obtidos na fase II. Entre estas variáveis, destaca-se o baixo nível de N-NH₃ e pH ruminal, elevada taxa de passagem de fase líquida e sólida e elevada população de protozoários.

Observou-se também, a partir de cálculos em função da digestibilidade *in vivo* e produção estimada de AGV, que a dieta de BAH proporcionou maior consumo de energia digestível que a dieta de BIN. Porém a eficiência de utilização da dieta de BAH foi inferior, indicando que o BAH foi utilizado abaixo do seu potencial e que os resultados de desempenho obtidos com esta dieta são devidos principalmente ao elevado consumo e presença de carboidratos solúveis no BAH e não devido a maior utilização de sua fração fibrosa.

EVALUATION OF THE DIGESTION PROCESS OF AUTO-HYDROLYZED
SUGARCANE BAGASSE IN BOVINES

Author: FERNANDO BASILE DE CASTRO

Adviser: PAULO FERNANDO MACHADO, PhD

SUMMARY

The present work was developed at Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo at Piracicaba, São Paulo. The objective was to study the digestion process of diets containing auto-hydrolyzed sugarcane bagasse (AHB) in bovines as an exclusive roughage.

This work was divided in three different phases:

Phase I: in order to obtain the best characterized AHB for the feeding assays the AHB suffered the following treatments of pressure and time, pressure (kgf/cm²) / time (minutes): 13/6, 13/8, 13/10, 15/4, 15/6, 15/8, 17/3, 17/5, 17/7, 19/2, 19/4 and 19/6. The treatment evaluation was performed through the following determinations: dry matter, DM; ether extract, EE; neutral detergent fiber, NDF; acid detergent fiber;

ADF; lignin; cellulose; hemicellulose; *in vitro* true digestibility, IVD; *in situ* insoluble fraction degradability, ISD; pH and furfural.

Phase II: through the *in situ* method, two fistuled adult females were used. The degradation of three types of roughages was evaluated: 1. Crude bagasse, CB; 2. Auto-hydrolyzed sugarcane bagasse, AHB; and 3. Leaves of Elephant grass as a standard. These roughages were incubated in three types of diets containing the following ingredients: 1. 100% of hay; 2. 48.19% of CB + 39.57% of corn grain + 12.24% of protein supplement; and 3. 65.65% of AHB + 15.99% of corn grain + 19.36% of protein supplement.

The results of this phase showed that the effective ruminal degradation of CB was the same as the one under the best favorable conditions. We concluded also that in the best favorable conditions the fiber fraction of AHB has a better degradation than the CB. We see that the AHB degradation was not too different from the CB degradation under the effective ruminal conditions. This fact indicates that there are great possibilities for the nutritional value of the AHB to be increased.

Phase III: there were used six fistuled adult bovine females in order to evaluate diets number 2. and 3. described previously. This use was done through the following

determinations: *in vivo* digestibility assays, VFA, N-NH₃, pH, protozoa population and kinetics of passages of liquid and solid phases.

According to the results obtained in the Phase II, the results of this phase showed that the AHB diet caused unfavorable rumen conditions to fiber degradation. Among the variables studied, the low level of ruminal N-NH₃ and pH, the high flow rate of liquid and solid phase and the high protozoa population are evidenced.

It was observed also from calculations using *in vivo* digestibility and VFA production data that the AHB diet resulted in greater digestible energy intake than the CB diet. However, the efficiency of utilization of the AHB diet was lower, showing that the AHB was used below its maximum nutritive value and the performance of the animals receiving this diet can be due to the higher dry matter intake and the presence of soluble carbohydrates in AHB but not due to the higher fiber utilization of the AHB.

1. INTRODUÇÃO

A indústria sucroalcooleira nacional produz anualmente cerca de 50 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar. Grande parte desta produção, em torno de 80%, é utilizada nas próprias usinas e destilarias para geração de energia. Assim, existe um excedente anual de aproximadamente 10 milhões de toneladas deste subproduto.

O bagaço de cana vem sendo utilizado atualmente no Brasil com diferentes finalidades, que são: geração de energia elétrica a partir da sua combustão, produção de papel, papelão, celulose, chapas aglomeradas, furfural e utilização na alimentação animal.

A utilização do bagaço de cana na alimentação de bovinos, está sendo muito difundida nos últimos anos no Brasil, principalmente na região Sudeste. O emprego deste alimento se dá em grande parte nas usinas e destilarias de álcool, com a finalidade de engorda de bovinos durante a época da safra da cana-de-açúcar, o que coincide com a entressafra da produção de carne bovina.

Trabalhos recentes desenvolvidos no Brasil esclareceram alguns aspectos importantes sobre a utilização do bagaço de cana na alimentação de bovinos, seja na forma *in natura* (BIN) ou tratado por processo de pressão e vapor, auto-hidrolisado (BAH). Porém, existe ainda grande desconhecimento a respeito do BAH, tanto com relação ao tratamento como ao processo de digestão que ocorre em ruminantes.

O processo de auto-hidrólise teve razoável aceitação enquanto os custos de geração de vapor eram baixos. Com a escalada do custo de energia, principalmente após a "crise do petróleo" em 1973, a atratividade econômica deste processo decresceu. Em consequência disto, nos países desenvolvidos a tendência atual foi de se desenvolver e utilizar processos menos onerosos de tratamento de resíduos fibrosos de baixa qualidade.

Esta afirmativa é particularmente verdadeira nas condições existentes em países desenvolvidos. Nestes países, o tratamento químico com amônia líquida e soda cáustica, por exemplo, são altamente favorecidos em função do baixo preço destes produtos e do baixo investimento inicial. Desta forma, o tratamento de resíduos fibrosos com produtos químicos têm sido prática comum nas propriedades rurais destes países.

Devido ao desinteresse econômico neste tipo de tratamento, a produção científica e conseqüentemente o nível de conhecimento a respeito de resíduos fibrosos tratados por pressão e vapor são pequenos, o que é constatado pelo pequeno número de trabalhos científicos nesta área.

Contudo, as condições existentes no Brasil, no que se refere à utilização e tratamento do bagaço de cana, são um tanto diferentes das observadas nos países desenvolvidos, tendo em vista: 1. A disponibilidade do bagaço de cana ocorre, no caso brasileiro nas usinas e destilarias de álcool e não nas propriedades rurais, o que facilita a introdução de novas tecnologias onde o custo de implantação é elevado; 2. Já existe uma estrutura desenvolvida para geração do vapor para funcionamento da unidade industrial, deste modo a introdução da tecnologia para tratamento sob pressão e vapor do bagaço de cana torna-se um processo de maximização do uso da infra-estrutura já existente; e 3. No Brasil, diferentemente do que ocorre em países desenvolvidos, o custo dos produtos químicos é elevado.

Assim, mesmo existindo poucas informações a respeito da produção e uso do BAH, observa-se que sua utilização pelas usinas e destilarias de álcool vem crescendo de modo significativo nos últimos anos.

Os resultados práticos que estão sendo obtidos nestas condições mostram que o BAH vem sendo utilizado com eficiência muito abaixo do seu potencial, já que os resultados *in vivo* estão sempre aquém das estimativas feitas a partir de ensaios *in vitro*. Mesmo assim é grande a aceitação do BAH, porque seu uso normalmente está associado a elevados níveis de consumo da dieta e ganho de peso em relação ao observado em dietas contendo BIN.

O presente trabalho faz parte do "Programa de Avaliação de Subprodutos da Agroindústria" desenvolvido pela ESALQ-USP, iniciado em 1982 e que tem dado grande ênfase na avaliação do bagaço de cana-de-açúcar em dietas para bovinos.

O objetivo deste trabalho é o de caracterizar o processo de digestão do BAH, utilizado como fonte única de volumoso em dietas para bovinos, a fim de explicar o baixo nível de aproveitamento deste alimento em condições *in vivo* e indicar alternativas de se aumentar a utilização do potencial nutritivo desse subproduto fibroso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O bagaço de cana auto-hidrolisado é um alimento proveniente do tratamento físico sob pressão e vapor do bagaço de cana. Este alimento é produzido em usinas e destilarias de álcool, utilizando-se da pressão existente para movimentação de turbinas e moendas.

A utilização deste tipo de tratamento no BIN seria interessante para estas empresas na medida em que há utilização de infra-estrutura já existente. A elevada disponibilidade de bagaço e a existência de infra-estrutura básica para auto-hidrólise, aliados aos resultados aparentemente positivos obtidos em condições de confinamento, tornaram grande a adesão à esta tecnologia como meio de se produzir alimento volumoso a um custo baixo durante a época de escassez de forragens.

2.1. Características dos componentes da parede celular

2.1.1. Celulose

A celulose é um homopolímero de até 10.000 unidades de glucopiranosídeos, unidos através de ligações do tipo beta 1-4. Encontra-se na natureza normalmente em sua forma cristalina. Sua conformação estrutural e a presença de ligações covalentes unindo as diferentes moléculas determinam uma elevada rigidez, dificuldade à hidrólise ácida e ao ataque microbiológico.

Embora seja um composto higroscópico, na natureza está normalmente associado à lignina, o que dificulta a absorção de água (GOSSELINK, 1982). Esta interferência da lignina pode ser minimizada com a diminuição do seu grau de cristalinidade através de tratamento químico ou físico, o que facilita a sua hidrólise por enzimas do hospedeiro e microorganismos (THEANDER & AMAN, 1984).

2.1.2. Hemicelulose

Na natureza há diferentes tipos de hemiceluloses, que se constituem em homopolímeros de 50 à 200 unidades de xilopiranosídeos unidos por ligações do tipo beta 1-4. Ligam-se à

esta estrutura, através de ligações do tipo éter, diferentes radicais, tais como: arabinose, galactose, ácido acético, ácidos fenólicos, ácido urônico, ácido glucurônico e 4-O metil glucurônico, entre outros (THEANDER & AMAN, 1984). Dentre os diferentes tipos de hemiceluloses existentes, destaca-se a xilana por ser a mais abundante entre as gramíneas e consequentemente no bagaço de cana.

A hemicelulose tem higroscopicidade maior que a celulose, sendo esta característica de grande importância no que se refere a maior facilidade de degradação desta molécula em relação à celulose. E sendo as moléculas de hemicelulose e celulose interligadas por pontes de hidrogênio, após ocorrer a hidrólise da hemicelulose, as moléculas de celulose ficam livres e mais suscetíveis à degradação posterior.

2.1.3. Lignina

A lignina é um heteropolímero amorfo de fenilpropano não higroscópico, onde se encontram os seguintes radicais básicos: p-hidroxifenil, guaiacil, siringil, ácido cumárico e ferrúlico. Estas unidades se interligam através de ligações do tipo éter ou através de ligações covalentes carbono-carbono entre núcleo benzênico e radical propano ou entre

os núcleos benzênicos (THEANDER & AMAN, 1984). Esta conformação estrutural torna a lignina um composto de difícil hidrólise pelas bactérias anaeróbicas encontradas no rúmen de bovinos.

Além de ser de difícil hidrólise, a lignina reage através de ligações covalentes com os demais componentes da parede celular, principalmente celulose e hemicelulose, dificultando a hidrólise destes (LAU & VAN SOEST, 1981). As reações entre lignina e celulose são de difícil hidrólise caracterizando-se por ligações do tipo éter, entre o núcleo benzênico da lignina e a hexose da celulose. No caso da hemicelulose o mesmo tipo de ligação ocorre com a xilose, porém os demais radicais desta molécula se ligam à lignina através de ligações do tipo éster.

Devido à presença de ligações do tipo éster entre lignina e hemicelulose, esta interação é mais fácil de ser rompida através de tratamentos químicos ou físicos do que a existente entre lignina e celulose. Deste modo no tratamento químico com bases ocorre saponificação e no tratamento à pressão e temperatura ocorre hidrólise ácida destas ligações, possibilitando que a hemicelulose ou seus monômeros sejam atacados pelos microorganismos.

2.2. Características do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*

2.2.1. Composição químico-bromatológica

Segundo dados obtidos por Sharma (1974) citados por JACKSON (1977), o BIN é um alimento com elevada proporção de constituintes da parede celular, contendo aproximadamente 29% de hemicelulose, 40 % de celulose, 13% de lignina e 2% de sílica na matéria seca.

Devido à elevada concentração de celulose e hemicelulose o BIN tem grande potencial de fornecimento de energia para ruminantes. Contudo, a presença de lignina e sílica tornam a celulose e a hemicelulose pouco disponíveis ao ataque pelos microorganismos do rúmen e afetam consequentemente sua utilização pelo animal.

Diferentes tipos de análises de laboratório podem ser efetuadas a fim de caracterizar o valor nutritivo do BIN. DONEFER (1982), afirma que as análises através do sistema de detergentes são as que oferecem os resultados mais correlacionados com o valor nutritivo deste alimento. Isto pode ser observado nos dados de OLDHE & BECKER (1982), que analisando FDA, lignina e digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca, DVIVMS, de diferentes subprodutos fibrosos de 24 países obtiveram coeficientes de correlação entre DVIVMS e FDA de -0,86

e entre DVIVMS e lignina de $-0,69$. Resultados semelhantes foram obtidos por Pathirana, citado por DONEFER (1982), que utilizando 14 amostras distintas de BIN de 4 países da região do Caribe, determinaram correlação entre DVIV da celulose e FDA de $-0,91$, entre DVIV da celulose e lignina de $-0,87$, entre DVIV da celulose e hemicelulose de $0,61$ e entre a DVIV da celulose do BIN e a DVIV da celulose do BAH de $0,91$. Estes resultados confirmam que as determinações de FDA e lignina no BIN refletem a sua digestibilidade *in vitro*, que sua composição é variável e tem grande influência na qualidade do BAH.

Segundo o N.R.C (1984), o BIN possui $0,57$ Mcal de energia líquida por kg de MS e um teor de PB de $1,8\%$ na MS, o que o caracteriza como um alimento de baixa qualidade, devendo assim ser utilizado em dietas de bovinos em quantidades restritas.

Diversos dados de experimentos mostram que o BIN possui baixa DVIVMS e grande variação de acordo com a sua procedência. DONEFER (1977) analisando BIN de 14 países encontrou valores de DVIVMS de $24,6 \pm 10,6\%$ e HARRIS et alii (1983) obteve resultados de DVIVMS variando entre $20,0$ e $35,0\%$.

Dados de degradabilidade *in situ* da matéria seca, DIS, obtidos por Hovell et alii, citados por ORSKOV et alii (1980), mostram que a extensão e a taxa de DIS é superior para

bagago de cana tratado com 8% de soda em relação ao BIN, e que a assintota da curva de DIS do BIN é alcançada em aproximadamente 50 h de incubação.

MELLO Jr. (1987) trabalhando com BIN determinou a curva de DVIVMS durante 48 h de fermentação *in vitro*. Os resultados mostraram que embora a extensão da DVIVMS em 48 h tenha sido de 35,8%, a taxa de digestão *in vitro* foi elevada, 8,46%/h, tendo valores semelhantes aos do BAH, 8,37%/h, o que caracteriza que a fração potencialmente disponível à degradação é rapidamente atacada, independentemente do tratamento ou não deste alimento.

2.2.2. Desempenho animal

Diferentes trabalhos mostram que utilizando-se o BIN em proporções limitadas na dieta, ou seja, até 35-40% da MS, obtêm-se resultados satisfatórios de desempenho animal.

RANDEL (1966) obteve bom desempenho com bovinos em acabamento, utilizando 20 e 30% de BIN na MS das dietas, tendo consumo de MS de BIN de 1,75 e 2,79 kg/dia; ganho de peso de 1.110 e 1.150 g/dia e conversão alimentar de 7,84 e 8,07, respectivamente.

PACOLLA et alii (1977) estudaram o efeito de diferentes tipos de volumosos e concentrados protéicos na engorda de garrotes castrados mestiços com peso vivo médio de 290 kg. As dietas contendo 57% de BIN na MS tiveram consumo de BIN de 3,96 kg/dia; ganho de peso de 685 g/dia e conversão alimentar de 10,15.

BURGI (1985) utilizando 60% de BIN para animais em acabamento obteve baixo consumo da dieta, 1,91% do peso vivo, atingindo um ganho de peso diário de 699 g/dia e conversão alimentar de 9,60. Porém, observa-se que a proporção de BIN utilizado nesta dieta foi acima dos níveis recomendados.

O BIN pode ser utilizado também como fonte de fibra para vacas em lactação, em substituição aos alimentos tradicionais. Randel et alii, citados por KLOPFENSTEIN & OWEN (1981), obtiveram produções de leite de 15,0 kg/dia utilizando dietas com 22,5% de BIN e 77,5% de concentrado.

MARSHALL & VAN HORN (1975), utilizaram 20, 25 e 30% de BIN peletizado em substituição à casca de algodão, em dietas para vacas em lactação. O melhor resultado foi obtido com 25% de BIN, alcançando-se a produção média de leite de 18,5 kg/dia.

ROMAN-PONCE et alii (1975), obtiveram bons resultados com BIN peletizado com 10% de melaço na MS. O consumo de BIN alcançou 6,4 kg de MS/dia e a produção de leite 14,5 kg/dia em dietas com 40% de BIN. O consumo da dieta foi de 3,4% do peso vivo, o que demonstra que a introdução do BIN em níveis adequados não interfere no consumo da mesma.

Observa-se que o uso de BIN em dietas para bovinos é viável desde que seja introduzido na dieta em proporções restritas, abaixo de 35-40% da MS total da dieta.

2.3. Características do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado

2.3.1. O processo de auto-hidrólise

Segundo TAYLOR & ESDALE (1980), a auto-hidrólise é resultado da manutenção de materiais lignocelulósicos à elevadas pressões e temperaturas por um determinado tempo. Neste processo ocorre liberação de ácido acético à partir da hemicelulose provocando a degradação da mesma e do complexo lignino-celulósico. Segundo WALKER (1984), durante o tratamento há produção de outros compostos, como: ácidos, furfural e compostos fenólicos, além de perda de matéria seca através da volatilização de alguns compostos formados durante o tratamento.

O processo de auto-hidrólise já vem sendo utilizado há muitos anos. Kellner & Kohler, citados por JACKSON (1977), já utilizavam esta técnica no ano de 1900 a fim de aumentar a velocidade do tratamento de palhadas com soda, observando-se efeito positivo no uso desta primeira técnica.

Beckmann, citado por JACKSON (1977), em 1921, utilizou a pressão em substituição à água quente no tratamento com soda, também obtendo resultados positivos.

Embora já tivesse sido utilizado anteriormente, a auto-hidrólise só foi realmente introduzida como método único de tratamento de resíduos fibrosos com o trabalho desenvolvido por BENDER et alii (1970), onde avaliou-se o efeito da auto-hidrólise em madeira obtendo-se resultados de DVIVMS próximos aos de feno de média qualidade. Pelo fato do bagaço de cana possuir arranjo estrutural das fibras muito próximo ao da madeira as respostas ao tratamento deveriam ser semelhantes.

DONEFER (1977) cita que o processo de auto-hidrólise vem sendo estudado desde 1970 pelo Departamento de Agricultura dos E.U.A. A técnica de avaliação dos volumosos tratados tem sido principalmente através de DVIVMS. O autor menciona que existe muito pouca informação à respeito dos volumosos auto-hidrolisados quando utilizados *in vivo*, devendo-se dar maior atenção a esta linha de trabalho.

2.3.2. Efeitos do processo na composição química

2.3.2.1. Análise pelo sistema proximal

SHIROMA (1974), avaliou o efeito de diferentes condições de tratamento, pressão e tempo, na composição do BAH. Apenas a porcentagem de extrato etéreo, EE, teve correlação com pressão de tratamento, observando-se aumento de EE com o aumento da pressão mas não com o aumento do tempo de tratamento.

Trabalho semelhante foi conduzido por MARCOS et alii (1984), utilizando BAH a 9 Kgf/cm² de pressão e tempos entre 0 e 20 minutos. Foi encontrado efeito significativo na regressão quadrática entre as porcentagens de MS e cinzas, CZ, e intensidade de tratamento e na regressão linear entre a porcentagem de EE e intensidade de tratamento. As determinações de extrativo não nitrogenado, ENN, e fibra bruta, FB, não tiveram correlação significativa. Os dados mostram que as determinações de MS, CZ e EE podem ser utilizadas como parâmetro de controle de qualidade do tratamento físico, no intervalo de tratamento avaliado.

2.3.2.2. Análise pelo sistema de detergentes

Diversos trabalhos utilizaram-se desse sistema de análise para avaliação do BAH. DONEFER (1982), afirma que este método não deve ser utilizado para avaliar subprodutos fibrosos de baixa qualidade após serem submetidos a algum tipo de tratamento. Segundo o autor, a correlação destas análises com os resultados *in vivo* é variável e inversamente proporcional à participação do alimento tratado na dieta.

Resultados de diferentes trabalhos mostram que com a auto-hidrólise de alimentos fibrosos há diminuição no teor de hemicelulose em relação ao alimento *in natura* (DONEFER, 1977; OJI & MOWAT, 1978; PATE, 1982 e MELLO Jr., 1987).

RANGNEKAR et alii (1982) avaliaram o efeito de diferentes pressões (5, 7 e 9 kgf/cm²) e tempos de tratamento (30 e 60 segundos) na composição da parede celular e outras características do BAH. Os dados mostram que há diminuição nas porcentagens de FDN e hemicelulose, paralelamente à uma elevação da DVIVMS. No tratamento mais intenso (9 kgf/cm² em 60 segundos) a DVIVMS foi de 56,60%, o que está muito aquém do valor de 77,61% obtido por BURGI (1985), trabalhando com 17 kgf/cm² em 6 minutos. Os dados mostram que o primeiro autor utilizou tratamentos pouco intensos, assim talvez a tendência de diminuição nos teores de FDN e hemicelulose não seja detectada em tratamentos mais intensos, onde o teor de hemicelulose é próximo a zero.

2.3.2.3. Perda de matéria seca

Segundo Campbell et alii, citados por HART et alii (1981) a perda de MS que ocorre durante a auto-hidrólise é devido, principalmente à volatilização do furfural e hidroxi-metil-furfural, produzidos a partir da hidrólise ácida de pentoses e hexoses da hemicelulose. Os autores encontraram perdas de MS que variavam entre 5 e 8% a 21,1 kgf/cm² e entre 6 e 16% a 28,1 kgf/cm². SHIROMA (1974), utilizando BAH a 10 e 20 atm de pressão, determinou perdas de matéria seca de 12 e 27,4%, respectivamente.

HART et alii (1981), utilizando pressões de 7,0 a 42,2 kgf/cm², em palha de trigo, determinaram perdas de MS variando de 5 a 16% sugerindo o uso de pressões inferiores a fim de diminuir tais perdas e permitir que a estrutura da fibra seja menos alterada.

Perdas elevadas de MS em BAH foram também observadas por RANGNEKAR et alii (1982), que utilizando pressões de 5,7 a 9,0 kgf/cm² e tempos de 30 e 60 segundos, determinaram perdas de 0,9 a 20%. Segundo os autores estas perdas estão relacionadas diretamente à temperatura de tratamento e é consequência não só da volatilização de aldeídos como também da lixiviação de compostos solúveis produzidos durante o tratamento.

2.3.2.4. Produção de monômeros fenólicos

O processo de auto-hidrólise em alimentos fibrosos determina um aumento nos teores de monômeros fenólicos. Trabalhos de Wayman et alii, citados por DONEFER (1977), Campbell et alii, citados por HART et alii (1981) e MELLO Jr. (1987), mostram elevações nos teores de monômeros fenólicos de 0,43; 0,43 e 0,40% no BIN para 5,30; 6,30 e 7,20% no BAH, respectivamente.

Segundo JUNG & FAHEY Jr. (1983), monômeros fenólicos geralmente deprimem o crescimento e atividade de microorganismos anaeróbicos, a atividade das enzimas digestivas e o consumo de alimentos pelos animais. Campbell et alii, citados por HART et alii (1981) sugerem que a diminuição do consumo na dieta contendo BAH foi causada pela elevada concentração de monômeros fenólicos neste alimento.

Dados contrários aos obtidos por JUNG & FAHEY Jr. (1983), foram encontrados por MELLO Jr. (1987), onde a extração dos monômeros fenólicos do BAH não promoveu a elevação na extensão e taxa de digestão *in vitro* deste alimento.

O estudo dos efeitos dos monômeros fenólicos citados nos trabalhos de JUNG & FAHEY Jr. (1981), JUNG & FAHEY Jr. (1983) e VAREL & JUNG (1984), é baseado em compostos encontrados principalmente em forragens, em sua forma livre ou associado à lignina, que são: ácidos cinâmico, p-cumárico e

ferrúlico e vanilina, entre outros. Estes compostos determinam depressão da utilização dos alimentos pelos efeitos já comentados. Contudo, os monômeros fenólicos produzidos durante a auto-hidrólise ainda não foram identificados, podendo estes ter pouca ação contra os microorganismos do rúmen, o que explicaria os resultados obtidos por MELLO Jr. (1987).

2.3.3. Efeitos do processo na utilização por ruminantes

2.3.3.1. Efeitos na digestibilidade *in vitro*

Entre as diferentes metodologias de avaliação do efeito da auto-hidrólise sobre o valor nutritivo de alimentos fibrosos, o método *in vitro* tem sido o mais difundido e utilizado em trabalhos de pesquisa nos últimos anos.

Resultados de diferentes trabalhos com palhas, efetuados por GUGGOLS et alii (1971), KLOPFENSTEIN & BOLSEN (1971), Dhinsa e Donefer, citados por DONEFER (1977) e HART et alii (1981), mostraram que a auto-hidrólise determina um aumento da DVIVMS em relação à palha não tratada e que este aumento é observado até uma determinada intensidade de tratamento, após o que há diminuição na DVIVMS.

Resultados semelhantes foram obtidos com BAH nos trabalhos de Donefer & Pathirana, citados por DONEFER (1977), RANGNEKAR et alii (1982), MARCOS et alii (1984), Phoenix et alii, citados por THEANDER & AMAN (1984) e BURGI (1985). Os autores destes trabalhos sugerem que existe uma condição ótima de tratamento determinadas por pressão e tempo, e que elevando-se a intensidade de tratamento acima destas condições ocorrerá perda de valor nutritivo do alimento.

Porém, o que se observa é que inexistem trabalhos que confirmem tais afirmações em condições *in vivo*. Ao contrário, os trabalhos que comparam os resultados de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de BAH, mostram que a digestibilidade *in vivo* é sempre inferior à *in vitro* (GUGGOLS et alii, 1971; DONEFER, 1977 e COSTA, 1987). Isto pode ser um indicativo de que a DVIV não é um método adequado para avaliar o BAH.

BERGER et alii (1980) utilizando sabugo de milho, avaliaram o efeito do tratamento com soda na digestão deste alimento nos diferentes segmentos do trato digestivo de carneiros, concluindo que os resultados de DVIVMS são superiores aos de digestibilidade aparente *in vivo* da matéria seca, DIVMS, pois os primeiros não são afetados pelo baixo tempo de retenção do alimento no trato digestivo. Klopfenstein, citado por DONEFER (1982), obteve dados semelhantes concluindo que a baixa taxa de degradação e tempo de retenção observados *in vivo* são os responsáveis pelas diferenças entre os resultados. Contudo como

estes trabalhos foram desenvolvidos com alimentos tratados com soda, conclusões à respeito de BAH são limitadas, havendo necessidade de se comprovar tais resultados com este alimento.

A presença de monômeros fenólicos no BAH poderia explicar as curvas de resposta de DVIVMS à auto-hidrólise obtidas no trabalho de TAYLOR & ESDALE (1980), pois a elevação de concentração destes compostos poderia inibir a atividade das bactérias celulolíticas nos fermentadores. Porém MELLO Jr. (1987), estudando BAH, observou que a extração dos monômeros fenólicos do BAH não provoca aumento na extensão e taxa de digestão *in vitro*.

Através de estudos desenvolvidos *in vitro*, Cheong et alii, citado por PATE (1982), observaram que a elevada DVIVMS do BAH é devido apenas à formação de compostos solúveis em água, permanecendo a fração fibrosa com a mesma digestibilidade que a do BIN. Contudo Campbell et alii, citado por HART et alii (1981), afirmam que a fração fibrosa do BAH é mais degradável que a do BIN, o que foi confirmado por MELLO Jr. (1987) que obteve valores de DVIV da celulose de BIN e BAH iguais a: 35,86% e 52,03%, respectivamente.

2.3.3.2. Efeitos na degradabilidade *in situ*

O método *in situ* vem sendo utilizado há muito tempo para avaliar subprodutos tratados quimicamente (CHESSON, 1981). Segundo DONEFER (1982), este é o método mais apropriado para avaliar subprodutos *in natura* ou tratados, concordando com ORSKOV et alii (1980), que afirma que o método *in situ* é o que oferece resultados mais estreitamente relacionados ao ambiente ruminal e consequentemente às condições *in vivo*. Porém o que se observa é que esta metodologia tem sido muito pouco utilizada para avaliar alimentos auto-hidrolisados.

Broun, citado por PRESTON (1975), determinando a DIS de BAH à pressão de 10,5 kgf/cm², tempo entre 0 e 60 minutos e temperatura entre 130 e 198 graus Celcius, observou que após 15 minutos de tratamento, independentemente da pressão e temperatura usada, a DIS não foi mais alterada, o que é contrário aos resultados de outros trabalhos obtidos à partir do método *in vitro*. Além disto, houve grande diferença de DIS no BAH tratado durante 15 minutos entre as diferentes temperaturas, o que mostra a sua influência na eficiência da auto-hidrólise.

Embora não utilizado para BAH, o método *in situ*, segundo ORSKOV et alii (1980), é apropriado para avaliar a condição ruminal proporcionada por uma determinada dieta, que no caso do BAH poderia esclarecer muitas questões importantes a respeito da degradação ruminal deste alimento.

2.3.3.3. Efeitos na digestibilidade *in vivo*

Embora grande parte dos ensaios de DIV com alimentos auto-hidrolisados não utilizem o BAH como volumoso, a totalidade destes mostra que a DIVMS é aumentada com a substituição do alimento *in natura* pelo auto-hidrolisado.

PATE (1982), utilizando 56% de BIN ou BAH na dieta, mantendo consumo semelhante, observou haver um aumento de DIVMS de 60,7 para 65,8%, e queda na DIV da proteína de 50,9 para 35,3%, respectivamente. O autor sugere que diminuição da DIV da proteína é devido à formação, durante a auto-hidrólise, de compostos que inibem a proteólise. Trabalhos conduzidos por KLOPFESTEIN & BOLSEN (1971), GARRET et alii (1981) e COSTA (1987) com BAH e OLLOLADE & MOWAT (1975) com palha de cevada tratada com soda, encontraram a mesma tendência de diminuição da DIV da fração protéica da dieta.

Segundo PATHERSON et alii (1978), é importante a utilização de outra fonte de fibra em dietas para ruminantes contendo alimentos tratados. Os autores verificaram o efeito da substituição de alfafa por sabugo de milho tratado com 5% de soda, em dietas para carneiros. Os resultados mostram que adicionando-se 25% de alfafa ao volumoso obtém-se efeito aditivo com aumento da DIVMS, em relação aos tratamentos com 0 e 50% de substituição.

A auto-hidrólise de rolão de milho (OJI & MOWAT, 1979b) e o tratamento de palhas com soda (Klopfenstein, citado por DONEFER, 1982 e HUNT et alii, 1984) determinam uma diminuição no tempo de retenção da dieta no rúmen, causado principalmente pela diminuição na granulometria, o que conseqüentemente estimula o consumo.

Em trabalhos desenvolvidos por PATE (1982), com BAH e por UMUNNA et alii (1972), Garret et alii citado por DONEFER (1977), OJI & MOWAT (1979a) e GARRET et alii (1981) com outros alimentos fibrosos auto-hidrolisados, observou-se queda de consumo da dieta quando houve introdução do alimento auto-hidrolisado. Campbell et alii, citado por HART et alii (1981), sugerem que a queda de consumo que se observa em dietas contendo BAH é devido à elevação dos níveis de monômeros fenólicos.

Tais resultados discordam dos obtidos nos trabalhos com rolão de milho auto-hidrolisado desenvolvido OJI & MOWAT (1978) e com BAH por BURGI (1985) e COSTA (1987), onde se observou elevação nos níveis de consumo quando comparados aos obtidos nas dietas contendo BIN.

2.3.3.4. Efeitos na fisiologia do rúmen

O pH ruminal tem grande influência sobre o crescimento e atividade de bactérias celulolíticas, sendo considerado o intervalo entre 6,2 e 6,8 o ideal (KAUFFMAN, 1980 e CLARK & DAVIS, 1984). Segundo dados obtidos por RANGNEKAR et alii (1982) e COSTA (1987) o pH ruminal diminui, abaixo destes níveis, em dietas contendo BAH.

O abaixamento do pH ruminal pode ser resultado de vários fatores, como: baixo pH do alimento, condições físicas do alimento que não estimulam a ruminação e consequentemente a produção de saliva, e presença de grande quantidade de carboidratos prontamente fermentescíveis na dieta. O BAH apresenta todas estas características, o que explica o baixo pH ruminal em dietas à base de BAH.

O pH do BAH é de aproximadamente 3,30 devido à produção de ácido acético durante a auto-hidrólise, o que exerce um papel importante no abaixamento do pH ruminal.

Para a manutenção do pH ruminal nos níveis considerados ideais é necessária a ruminação, pois a produção de saliva é consequência deste processo (YARNS et alii, 1965). Segundo WELCH & SMITH (1971), a forma física da dieta é o maior

fator estimulador da ruminação, assim as características físicas das fibras do BAH em relação à sua rigidez e granulometria podem ter grande importância na determinação do pH ruminal.

Outra característica importante no BAH que pode influenciar no abaixamento do pH ruminal é a presença de grandes quantidades de carboidratos solúveis, principalmente pentoses, que compreendem de 20 à 25% da MS do BAH. Estes carboidratos alcançando o rúmen são rapidamente degradados produzindo-se grandes quantidades de ácidos graxos voláteis, AGV, que determinariam a queda do pH ruminal.

COSTA (1987), utilizando 10% de feno e 65% de BAH em dieta para bovinos, observou que o pH apresentou uma variação de 5,87 à 7,02 durante o dia. O nível mínimo de 5,87 foi atingido 6 horas após a refeição e só 4 horas após o pH atingiu 6,20, que é considerado o limite mínimo para a máxima atividade e crescimento das bactérias celulolíticas. Portanto mesmo com a utilização de feno, que deve ter estimulado a ruminação e produção de saliva, o pH ruminal permaneceu durante o dia em faixas prejudiciais aos microorganismos que degradam fibras.

Além do pH ruminal, a determinação da concentração molar de AGV no rúmen é de grande importância para se avaliar a fermentação da dieta. Os resultados de RANGNEKAR et alii (1982) mostraram que a substituição de BIN por BAH provoca um aumento na concentração molar de AGV. Ou seja, mesmo que a fração fibrosa do

BAH não esteja sendo melhor utilizada que a do BIN (Campbell et alii, citado por HART et alii, 1981), a participação dos carboidratos solúveis no fornecimento de substrato para os microorganismos do rúmen é significativa, aumentando a produção de AGV.

Embora existam autores que sugerem um efeito anti-proteolítico do BAH, não há informações a respeito de níveis de nitrogênio amoniacal, $N-NH_3$, no rúmen de animais alimentados com dietas a base de BAH quando comparados à dietas com BIN.

2.3.3.5. Efeitos no desempenho animal

Poucos trabalhos foram desenvolvidos com BAH para caracterização do desempenho animal em condições de confinamento. PRESTON (1975), utilizando touros em crescimento com peso de aproximadamente 150 kg, obteve consumo de MS de BAH de até 3,33% do peso vivo em dietas contendo 85% de BAH, 12% de melaço e 3% de uréia. O autor concluiu que com esta dieta pode-se suprir os requerimentos nutricionais para manutenção e gestação, contudo há necessidade de adição em maior quantidade de suplementos energéticos para os requerimentos de crescimento, engorda e lactação.

PATE (1982) utilizou BAH nos níveis de 0, 14, 30 e 46% da MS em dietas para animais em acabamento, obtendo ganho de peso (g/dia), consumo de MS (kg/dia) e conversão alimentar de: 1.100, 10,21 e 9,28; 1.230, 10,93 e 8,89; 1.400, 11,45 e 8,18 e 880, 10,42 e 11,84, respectivamente. O que mostra que no nível máximo de BAH houve queda no ganho de peso e elevação na conversão alimentar.

Resultados semelhantes foram obtidos por BURGI (1985), que utilizou 40, 50 e 60% de BAH em dietas para bovinos em acabamento. Observou-se ganho de peso (g/dia), consumo de MS (kg/dia) e conversão alimentar de: 960, 9,82 e 10,23; 816, 10,0 e 12,25 e 872, 10,13 e 11,62; respectivamente. Estes resultados poderiam ser explicados pela diminuição no consumo de concentrado nestas dietas (kg/dia): 5,98; 5,00 e 4,05; respectivamente. Observa-se portanto, que o efeito da adição do BAH no desempenho animal está intimamente relacionado à elevação do nível de ingestão da dieta e consequentemente do concentrado.

O que se observa nestes trabalhos é que a adição de BAH à dieta, provocando elevação de consumo em relação ao BIN, determina aumento no ganho de peso e geralmente um aumento na conversão alimentar, o que mostra menor eficiência de utilização da dieta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho teve uma fase pré-experimental conduzida no período de novembro de 1986 a junho de 1987, onde foram avaliadas, aferidas e modificadas algumas metodologias, posteriormente utilizadas no experimento. Nesta fase trabalhou-se com as seguintes metodologias:

Metologia *in situ*: para a determinação da extensão e taxa de degradação e tempo de colonização foi adaptado o método segundo MEHREZ & ORSKOV (1977).

Marcadores de fase líquida: utilizou-se o PEG 4.000 e Cr-EDTA, a fim de estimar a taxa de passagem, o tempo de renovação e o volume da fase líquida do rúmen-retículo. O PEG 4.000 não produziu resultados satisfatórios, havendo um desaparecimento rápido do marcador no líquido ruminal, o que pode ser explicado pela presença de compostos que reagiram com o marcador, precipitando-o. Segundo Kay, citado por UDEN et alii (1980), os taninos que são monômeros fenólicos condensados, reagem com o PEG causando a sua precipitação. Este efeito pode

ter ocorrido nestas condições uma vez que o BAH é rico em monômeros fenólicos. A partir destes resultados utilizou-se o método de Cr-EDTA neste experimento.

Marcadores de fase sólida: foram avaliados os métodos que utilizam marcadores externos ao alimento: Rodamina B, Sc-46 e Cr-mordente e marcador interno: FDN indigestível. Estas metodologias são utilizadas para estimar a taxa de passagem ou tempo de retenção de alimentos ou de dietas nos diferentes segmentos do trato digestivo.

O método de Rodamina-B tem o inconveniente da dificuldade e pouca precisão da determinação da concentração que é efetuada através de microscopia ótica. O método do Sc-46 proporcionou resultados muito bons no que se refere ao preparo do alimento marcado, precisão e rapidez de análise. Porém traz o inconveniente da contaminação do animal com material radiativo. O método do FDN indigestível além de ser muito trabalhoso resultou em dados com elevado coeficiente de variação.

Dentre estes métodos avaliados, o de Cr-mordente apresentou os melhores resultados no que se refere ao preparo do alimento marcado e precisão de determinação e assim foi utilizado posteriormente no experimento.

A etapa de análises de laboratório foi conduzida, nos seguintes locais: Laboratório de Tratamento de Água, da Usina São Martinho; Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia e Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Zoologia, ambos da ESALQ-USP e Laboratório de Radioisótopos e Laboratório de Química Analítica, ambos do CENA-USP.

O período de coleta de dados do presente trabalho foi conduzido de junho a dezembro de 1987, em três fases, quais sejam: Fase I: Definição das condições de tratamento do bagaço de cana-de-açúcar; Fase II: Ensaios de degradabilidade *in situ* e Fase III: Avaliação da fermentação ruminal, cinética passagem de sólidos e líquidos e digestibilidade.

3.1. Descrição das fases do experimento

3.1.1. Fase I: Definição das condições de tratamento do bagaço de cana-de-açúcar

A etapa de obtenção de dados da fase I foi conduzida na Usina São Martinho S/A - Açúcar e Alcool, localizada no município de Pradópolis, SP.

A fim de se obter um BAH com as melhores características para ser utilizado nas fases II e III do experimento, foram efetuados diferentes tratamentos, modificando-se as variáveis: pressão e tempo de tratamento.

Foi utilizado um hidrolisador do tipo batelada, da Usina São Martinho S/A, com capacidade de carga de até 800 kg de bagaço *in natura* e pressão máxima de serviço de 21 kgf/cm². O sistema de descarga possui tubulação com 10 polegadas de diâmetro, permitindo a descompressão do hidrolisador em aproximadamente 5 segundos e é acoplado a um ciclone e depósito para o BAH. O sistema de injeção de vapor é efetuado através de uma tubulação perfurada que percorre o centro do hidrolisador e a parede interna, em sistema de serpentina, permitindo uma injeção de vapor uniforme no interior do hidrolisador.

Em todos os tratamentos, o tempo de degasagem, que é o período onde há recirculação de vapor antes de se iniciar a pressurização, foi de 5 minutos. A temperatura média do vapor utilizado foi de 218 graus Celcius. A descarga do BAH, após término do tempo de tratamento, era feita a pressão de 19 kgf/cm². Assim, nos tratamentos que utilizaram 13, 15 e 17 kgf/cm² de pressão, houve necessidade de elevação da pressão até 19 kgf/cm² após o término do tempo de tratamento. Os tratamentos com pressão de 13 e 17 kgf/cm², foram efetuados em duas bateladas e os de 15 e 19 kgf/cm² em apenas uma batelada.

3.1.1.1. Descrição dos tratamentos

Tratamento	Condições de tratamento		
	Pressão (Kgf/cm ²)	Tempo (minutos)	Temperatura (graus Celcius)
13/6	13,5	6	189,5
13/8	13,7	8	185,5
13/10	13,7	10	187,0
15/4	15,0	4	189,0
15/6	14,8	6	186,0
15/8	15,6	8	188,0
17/3	17,3	3	201,0
17/5	17,4	5	196,5
17/7	17,8	7	198,0
19/2	19,2	2	205,0
19/4	19,9	4	204,0
19/6	19,9	6	203,0

3.1.1.2. Rotina de amostragens e coleta de dados

O BIN referente a cada batelada foi amostrado na esteira de alimentação do hidrolisador, em 10 subamostras. Posteriormente, retirou-se uma amostra composta, em duplicata, e foram armazenadas em congelador à -14 graus Celcius.

Após o tratamento, o BAH foi descarregado do hidrolisador e transferido para um pátio concretado onde se procedeu a amostragem do mesmo.

O BAH foi amostrado em 10 locais diferentes, homogeneizado e retirado uma amostra composta, em duplicata. Este procedimento foi realizado duas vezes, porém utilizando-se locais de amostragem distintos dos anteriores. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em congelador à -14 graus Celcius. Assim, para cada batelada, obteve-se duas amostras de BIN e quatro de BAH.

3.1.1.3. Determinações efetuadas

Foram efetuadas as seguintes determinações: matéria seca, MS; extrato etéreo, EE; fibra em detergente neutro, FDN; fibra em detergente ácido, FDA; lignina; celulose; hemicelulose; digestibilidade verdadeira *in vitro*, DVIV; degradabilidade *in situ* da fração insolúvel, DISI; pH e furfural.

As descrições destas metodologias de análise podem ser observadas no item 3.2.

A partir dos resultados obtidos na Fase I, definiu-se as condições de tratamento, pressão e tempo, para produção do BAH a ser utilizado nas Fases II e III do trabalho.

3.1.1.4. Análise estatística

Para a análise do BIN utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. Para a análise do BAH utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial de 4 X 3, 4 pressões por 3 tempos de tratamentos, com duas repetições por tratamento.

A análise estatística foi efetuada através do Sistema de Análise Estatística, SAS (1986). A análise de variância do BIN foi feita avaliando-se o efeito de batelada. Para o BAH a análise de variância foi feita avaliando-se o efeito de tempo de tratamento dentro de uma determinada pressão e entre diferentes tratamentos, pressões e tempos. A diferença entre as médias em ambos os casos foi calculada através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Foi feita análise de regressão linear para o BAH a fim de avaliar efeito de tempo de tratamento dentro de uma determinada pressão nas diferentes determinações efetuadas.

3.1.2. Fase II: Ensaios de degradabilidade *in situ*

Foram utilizados dois bovinos adultos, fêmeas, da raça Jersey, com peso aproximado de 450 Kg, providos de fistula ruminal.

Estes animais foram mantidos em baias individuais, no estábulo experimental do Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP. Antes de iniciar o trabalho, os animais receberam tratamento para combate a endo e ectoparasitas, além de aplicações mensais parenterais de complexo vitamínico A, D e E.

3.1.2.1. Manejo dos animais

Os animais permaneceram em baias individuais, sendo soltos para se exercitarem por 30 minutos, uma vez ao dia, antes da refeição da manhã.

As refeições foram fornecidas duas vezes ao dia, às 8:00 h e 17:00 h, sendo as sobras pesadas e desprezadas antes da refeição da manhã.

Esta fase consistiu em três períodos experimentais, divididos em 21 dias de adaptação à dieta e 6 dias de coleta de dados.

Durante o período de adaptação, controlou-se o consumo de alimentos dos animais a fim de se padronizar a quantidade de alimento ingerido.

3.1.2.2. Descrição das dietas

Animal	Dieta		
	Periodo I	Periodo II	Periodo III
Bruna	FENO	BAH	BIN
Marly	FENO	BIN	BAH

A seguir observa-se a descrição destas dietas: 1. Feno: dieta exclusiva de feno de capim Estrela (*Cynodon plectostachyus*) de boa qualidade, contendo 9,7% de proteína bruta, PB na MS + sal mineral e comum. Todos os ingredientes desta dieta foram fornecidos *ad libitum*; 2. BAH: dieta contendo 65,65% de BAH + 15,99% de grão de milho triturado + 19,36% de

concentrado protéico comercial + sal mineral e comum *ad libitum*; e 3. BIN: dieta contendo 48,19% de BIN + 39,57% de grão de milho triturado + 12,24% de concentrado protéico comercial + sal mineral e comum *ad libitum*.

A formulação das dietas 2 e 3, conforme se observa na tabela 1, foi efetuada do seguinte modo: forneceu-se a dieta 2 *ad libitum*. O consumo total de concentrado obtido nesta dieta, foi fornecido para os animais recebendo a dieta 3, alterando-se apenas a proporção de milho e concentrado protéico comercial. Adicionou-se à esta dieta, quantidades crescentes de BIN até que houvesse sobras. As dietas 2 e 3 foram formuladas a fim de serem isonitrogenadas, contendo aproximadamente 9,5% de PB na MS, e por isso as dietas tinham diferentes proporções de milho e concentrado protéico comercial.

Utilizou-se a dieta 2 neste experimento pois a participação do BAH é significativa além de ser muito utilizada nos confinamentos com gado de corte. A dieta 3 foi formulada a fim de maximizar o consumo de BIN, mantendo-se constante o consumo de concentrado obtido na dieta de BAH. Deste modo se poderia comparar a participação dos diferentes volumosos no fornecimento de energia da dieta.

Tabela 1: Composição químico-bromatológica dos alimentos e das dietas.

	Variável							
	MS	PB	FB	EE	CZ	ENN	FDA	FDN
Alimento								
BIN	55,40	1,11	28,86	0,27	3,34	66,43	65,50	93,09
BAH	39,64	1,23	27,89	5,72	3,50	61,66	57,57	58,63
Milho	86,03	8,27	0,97	3,38	1,21	86,18	3,97	13,59
CP	85,88	41,80	3,68	2,96	8,86	42,70	12,82	24,86
Dieta								
BIN	71,25	9,25	13,69	1,97	3,17	71,34	33,67	50,96
BAH	55,55	9,98	19,07	4,78	4,21	62,53	40,05	44,23

- Os valores das análises estão em 100% de MS.

- MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; EE: extrato etéreo; CZ: cinzas; ENN: extrativo não nitrogenado; FDN: fibra em detergente neutro; e FDA: fibra em detergente ácido.

3.1.2.3. Descrição do período de coleta

Na fase II do trabalho a única variável analisada foi a degradabilidade *in situ*, onde foram incubados três tipos de alimentos em três diferentes condições ruminais, proporcionadas pelas dietas 1, 2 e 3.

O período de coleta foi constituído de duas rodadas de degradação *in situ*, DIS. Cada rodada de DIS teve 48 horas de duração. A rodada foi iniciada com a introdução de 48 sacolas de poliéster. Cada tipo de alimento a ser incubado foi introduzido em 16 sacolas. As sacolas foram colocadas no rúmen às 8:00 horas. Nos tempos já previamente definidos de 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 e 48 horas após a introdução das sacolas no rúmen, grupos de 6 sacolas, contendo os diferentes tipos de alimentos, eram retirados do rúmen.

3.1.2.4. Descrição dos alimentos incubados

Os seguintes alimentos foram incubados: 1. Padrão: folhas de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Cameron com 25 dias de crescimento; 2. BAH: tratado nas condições definidas pela Fase I do trabalho, quais sejam: 19 Kgf/cm² durante 6 minutos de tratamento; e 3. BIN: coletado na esteira de alimentação do hidrolisador no momento da produção do BAH acima citado.

Todos os alimentos incubados foram previamente secos em estufa com ventilação de ar forçada, a 55 graus Celcius, durante 48 horas e posteriormente moidos em moinho tipo Willey-Mill, utilizando peneira de 2 mm de malha.

Os resultados de DIS obtidos na dieta de feno foram denominados de DIS potencial e os resultados obtidos nas dietas de BAH e BIN com as amostras de BAH e BIN, respectivamente, foram denominados de DIS efetiva, pois são as condições reais de degradação destes alimentos.

3.1.2.5. Descrição das variáveis analisadas

As seguintes variáveis foram analisadas: degradabilidade *in situ* da fração insolúvel, da matéria seca, DISI (%); taxa de degradação *in situ* da fração insolúvel potencialmente degradável, TD (%/h); taxa de degradação *in situ* real da fração insolúvel, TR (%/h); tempo de colonização *in situ*, TC (h); e coeficiente de correlação linear para a equação de degradação, r^2 .

3.1.2.6. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 3 X 3, 3 dietas por 3 alimentos, com quatro repetições.

A análise estatística foi efetuada através do SAS (1986). A análise de variância foi efetuada considerando os efeitos de dieta, alimento, rodada, animal e tempo.

As diferenças entre médias para as variáveis DISI, TD, TR, TC e r² foram analisadas através do teste de Tukey para efeito de dieta, alimento e dentro da interação dieta*alimento. Para a variável DISI também analisou-se o efeito de tempo dentro da interação dieta*alimento. Todos os testes foram efetuados ao nível de 5% de probabilidade.

3.1.3. Fase III: Avaliação da fermentação ruminal, cinética de passagem de sólidos e líquidos e digestibilidade

A fase III foi conduzida no estábulo experimental do Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP, localizado no município de Piracicaba, SP.

Foram utilizados seis bovinos adultos, fêmeas, providos de fistula ruminal, sendo dois da raça Jersey, com peso aproximado de 450 Kg e quatro da raça Holandesa Preto e Branca, com peso aproximado de 525 Kg. Os animais foram agrupados dois a dois segundo semelhanças de raça e peso.

Os animais foram manejados em condições semelhantes à fase II do trabalho, no que se refere a instalações, horários de alimentação, manejo higiênico e sanitário.

Nesta fase foi efetuada a determinação do consumo da água em cada horário de coleta quando se determinou a taxa de diluição de fase líquida. O controle do consumo de água foi feito pois a ingestão irregular de água pelos animais às vezes pode interferir na determinação da taxa de passagem de fase líquida pelo rúmen. Quando se monitora o consumo de água dos animais pode-se eliminar, para fins de cálculos, coletas em que a concentração do marcador está abaixo do esperado, desde que tenha sido observado um consumo excessivo de água pelo animal. Esta eliminação de dados só é possível de ser efetuada de forma segura quando se determina o consumo de água dos animais. Como não houve necessidade de eliminação de dados nestes ensaios os resultados de consumo de água não serão retratados nos resultados deste experimento.

O período experimental foi constituído de 21 dias de adaptação à dieta e 21 dias de coleta de dados.

3.1.3.1. Descrição dos tratamentos

Foram fornecidas duas dietas, semelhantes às dietas 2 e 3 da fase II do trabalho. Ou seja, eram compostas de BAH e BIN, respectivamente, como volumosos e suplementadas com concentrado protéico comercial, milho, sal mineral e sal comum.

O fornecimento das dietas nos diferentes períodos foi efetuado da seguinte forma:

Animal	Dietas fornecidas	
	Período I	Período II
Marly, Magda e Luma	BIN	BAH
Bruna, Monique e Malu	BAH	BIN

3.1.3.2. Avaliação da cinética de passagem de líquidos e da fermentação ruminal

Esta etapa teve duração de 2 dias, quando coletou-se amostras de fluido ruminal em diferentes tempos. As seguintes variáveis foram analisadas: taxa de passagem da fase líquida pelo rúmen, através de Cr-EDTA; concentração de ácidos graxos voláteis, AGV; concentração de nitrogênio amoniacal, N-NH₃; pH e população de protozoários.

As coletas foram efetuadas nos seguintes tempos, considerando 8:00 horas como início de coleta; para Cr-EDTA: 0, 3, 6, 12, 18, 24, 36 e 48 horas; para AGV, N-NH₃ e pH: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 horas e para protozoários: 0, 3, 9 e 12 horas.

A coleta do tempo zero, foi efetuada após a introdução da solução contendo Cr-EDTA. A cada horário de coleta, pesou-se as sobras da dieta e procedeu-se à leitura do hidrômetro a fim de se monitorar o consumo de alimentos e água, respectivamente.

O procedimento para coleta e processamento das amostras foi feito após homogeneização e coleta de 3 litros de amostra de conteúdo ruminal, dos sacos ventral, dorsal, anterior e posterior do rúmen.

Para protozoários retirou-se uma amostra previamente homogeneizada de 50 ml de conteúdo ruminal, transferiu-se para frasco de vidro de 200 ml tipo "snap-cap", adicionou-se 50 ml de solução de formol a 50% e armazenou-se à temperatura ambiente.

Para AGV, Cr-EDTA, pH e N-NH₃ filtrou-se o conteúdo ruminal em quatro camadas de tecido de algodão, obtendo-se aproximadamente, 500 ml de filtrado.

Deste filtrado uma aliquota de 200 ml foi transferida para béquer de 500 ml e determinado o pH em potenciômetro. Outra aliquota de 50 ml foi transferida para tubo de centrifuga, já imerso em acetona com gelo seco, a fim de inibir o processo fermentativo e posteriormente centrifugou-se à 3.500 g, durante 10 minutos. Transferiu-se em duplicata uma aliquota de 1 ml do sobrenadante para frasco de vidro de 5 ml, tipo "snap cap" e adicionou-se 0,2 ml de ácido fórmico, armazenando-se em congelador à -14 graus Celcius até a determinação de AGV. Outra aliquota do sobrenadante de 15 ml foi transferida, em duplicata, para tubo de cultura de 20 ml, armazenando-se em congelador à -14 graus Celcius, determinando-se posteriormente a concentração de cromo.

Uma outra aliquota de 2 ml do filtrado não centrifugado foi transferida para tubo de centrifuga contendo 1 ml de solução de tungstato de sódio à 10%, adicionando-se posteriormente 1 ml

de solução de ácido sulfúrico gelado 1 N. Centrifugou-se à 3.000 g durante 20 minutos, sendo transferido o sobrenadante, em duplicata, para tubos de cultura de 15 ml e armazenando-se em congelador durante no máximo 24 h à -14 graus Celcius para posterior determinação de N-NH₃.

Durante esta etapa, as amostras de conteúdo ruminal e filtrado, não utilizadas para as determinações, foram reintroduzidas no rúmen a fim de diminuir a retirada de conteúdo ruminal durante as coletas.

3.1.3.3. Ensaios de digestibilidade *in vivo* e balanço de nitrogênio

Antes de iniciar os ensaios de digestibilidade *in vivo* houve 1 dia de intervalo para descanso dos animais.

Esta etapa teve duração de 7 dias, tendo as coletas sido efetuadas às 8:00 horas. No primeiro dia colocou-se as sondas vesicais, entre o primeiro e o quinto dia foram coletadas as amostras de alimentos e sobras e entre o terceiro e o sétimo dia foram coletadas as amostras de fezes e urina. Após a coleta das amostras, estas foram mantidas em congelador à -14 graus Celcius até sua compostagem.

As amostras de fezes foram coletadas em relação à 5% do total excretado e as de urina em relação à 2% do total excretado. Após o término do ensaio de digestibilidade fez-se uma amostra composta de alimentos, sobras, fezes e urina.

As seguintes determinações foram efetuadas nas amostras de alimentos, sobras e fezes coletadas: matéria seca, MS; proteína bruta, PB; extrato etéreo, EE; fibra bruta, FB; extrativo não nitrogenado, ENN; cinzas, CZ; fibra em detergente neutro, FDN; e fibra em detergente ácido, FDA. Nas amostras de urina determinou-se PB e nas amostras de fezes determinou-se o pH, além das já descritas.

3.1.3.4. Avaliação da cinética de passagem de sólidos pelo rúmen e trato gastrintestinal

Antes de iniciar os ensaios com Cr-mordente houve um intervalo de 1 dia para descanso dos animais.

Utilizou-se a metodologia de Cr-mordente, a fim de marcar o BAH e o BIN. O método utilizado foi o de introdução única do marcador no rúmen e posterior monitoramento da concentração deste marcador neste segmento e nas fezes. Com esta metodologia foi possível determinar o tempo de retenção destes volumosos no rúmen e no trato gastrintestinal.

A introdução no rúmen, do volumoso marcado, pela técnica do Cr-mordente, foi feita às 8:00 horas. A partir deste horário iniciou-se as coletas de conteúdo ruminal e fezes, obedecendo-se os seguintes tempos para coletas de conteúdo ruminal: 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96 e 120 horas e para coletas de fezes: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 96, 120 e 144 horas.

As amostras de conteúdo ruminal foram coletadas de maneira semelhante à descrição feita da coleta para avaliação da fermentação ruminal. Após efetuada a coleta, retirou-se uma amostra de aproximadamente 150 gramas de conteúdo ruminal, que foi transferida para saco plástico e armazenada em congelador à -14 graus Celcius.

As amostras de fezes foram retiradas diretamente do reto dos animais, transferindo-se aproximadamente 80 gramas de fezes para saco plástico e armazenando-se em congelador à -14 graus Celcius.

Após término deste etapa, os tratamentos foram invertidos entre animais pertencentes ao mesmo quadrado latino, iniciando-se o segundo período experimental, repetindo-se o mesmo procedimento já descrito.

3.1.3.5. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi de quadrados latinos de 2 X 2, num total de 3 quadrados e seis repetições.

A análise estatística dos resultados foi efetuada através do SAS (1986). A análise de variância foi efetuada considerando os efeitos de tratamento, animal, período e quadrado. No caso das variáveis: AGV, N-NH₃, pH ruminal e protozoários foi considerado também o efeito de tempo de coleta.

As diferenças entre as médias para todas as variáveis foram analisadas através do teste de Tukey para efeito de tratamento. Para as variáveis AGV, N-NH₃, pH ruminal e protozoários fez-se o teste de Tukey para efeito de tempo de coleta e de tratamento dentro da interação tratamento*tempo. Todas as análises foram efetuadas ao nível de 5% de probabilidade.

3.2. Descrição das análises utilizadas

3.2.1. Análise químico-bromatológica

As determinações de MS em estufa e tolueno, PB, EE, FB, ENN, CZ e furfural foram efetuadas segundo A.O.A.C. (1965).

As determinações de FDA, FDN, celulose, lignina e hemicelulose foram efetuadas segundo GOERING & VAN SOEST (1970).

3.2.2. Análise de digestibilidade verdadeira *in vitro*

As análises de DVIV, nas amostras de BIN e BAH, da fase I do experimento, foram efetuadas segundo o método de TILLEY & TERRY (1963), com segundo estágio de digestão segundo GOERING & VAN SOEST (1970).

3.2.3. Análise de degradabilidade *in situ*

As análises de DIS foram efetuadas segundo o método de MEHREZ & ORSKOV (1977) com algumas adaptações.

As sacolas utilizadas para incubação dos alimentos no rúmen, foram confeccionadas com tecido de poliéster monofilamento, com dimensões internas de poros de 50 X 50 micra e as dimensões externas das sacolas de 9 X 15 cm.

Nos ensaios da fase I utilizou-se 3,000 g de alimento para incubação e na fase II utilizou-se 4,000 g. Além dos alimentos foi colocado no interior da sacola uma esfera de vidro, a fim de impedir a flutuação destas no rúmen. As sacolas foram presas a um fio de náilon de 50 cm de comprimento fixado à cânula ruminal, o que as manteve durante o período de incubação, no saco ventral do rúmen.

Antes do início da incubação, as sacolas contendo os alimentos foram previamente hidratadas, mantendo-as imersas em água sob agitação, durante 5 minutos.

Após a retirada das sacolas do rúmen, estas foram imersas em água com gelo, a fim de diminuir o processo de fermentação. Em seguida lavou-se individualmente as sacolas, durante 4 minutos. Posteriormente estas foram mantidas em estufa à 105 graus Celcius com ventilação forçada de ar, durante 24 horas e pesadas posteriormente.

3.2.3.1. Tratamento matemático dos resultados

Durante o processo de lavagem das sacolas com os alimentos há perdas de frações solúveis e de frações não solúveis que têm dimensões inferiores aos poros da sacola. Para eliminar este erro do método, fez-se a lavagem das sacolas contendo os alimentos não incubados, a fim de se calcular as perdas por lavagem de cada tipo de alimento e se determinar a DISI. Nos ensaios realizados preliminarmente ao experimento observou-se que os resultados de degradação da fração insolúvel tem alta correlação ($r^2=0,998$) com a degradação da fração FDN, que representa a fração fibrosa. Deste modo os resultados deste experimento, embora referindo-se à fração insolúvel serão analisados e discutidos como sendo degradação da fração fibrosa.

Calculou-se as variáveis segundo as fórmulas que se seguem:

$$\text{DISI (\%)} = [1 - (\text{resíduo/alimento} * \text{resíduo da lavagem})] * 100$$

Com os resultados de DISI, obteve-se a extensão final de degradação em 48 horas na fase I e as curvas de degradação acumulada de 0 a 48 horas na fase II.

A obtenção das variáveis TD e TC foi efetuada, utilizando-se a curva de desaparecimento da fração insolúvel potencialmente degradável, segundo o modelo matemático proposto por WALDO & SMITH (1972).

O cálculo de TR foi efetuado com o objetivo de representar, simultaneamente as variáveis TD e DISI:

$$TR (\%/h) = TD * DISI$$

3.2.4. Metodologia de marcação de fase líquida, Cr-EDTA

O preparo da solução de Cr-EDTA foi realizado segundo o método de BINNERTS & KLOOSTER (1968).

Metodologia de determinação de cromo: digeriu-se com 10 ml de ácido nítrico concentrado, uma alíquota de 10 ml da amostra de fluido ruminal, à temperatura de 160 graus Celcius. O resíduo da digestão foi diluído com solução de ácido clorídrico 2 N, completando-se o volume à 50 ml.

Determinou-se a concentração de cromo neste extrato por espectrofotometria de absorção atômica utilizando-se o gás acetileno como combustível.

Fez-se soluções padronizadas de 0,00; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 e 5,00 ppm de cromo, a fim de calcular as concentrações de cromo nas amostras.

Para fins de cálculos dos dados obtidos, considerou-se que a diluição do cromo na fase líquida do rúmen, tem um comportamento que pode ser representado por uma função logarítmica.

Fazendo-se uma regressão linear simples entre os tempos de coleta e os logaritmos das concentrações de cromo, obtem-se uma equação de primeiro grau. A partir desta equação obtiveram-se: taxa de diluição da fase líquida do rúmen, TDL (%/h) = coeficiente da equação * 100; tempo de renovação da fase líquida do rúmen, TRL (h) = 100/TDL; volume ruminal estimado, VL (l) = CrA/CrE onde, CrA = quantidade de cromo adicionada ao rúmen via Cr-EDTA, em g e CrE = estimativa da concentração de cromo no tempo zero, em g/l.

3.2.5. Metodologia de determinação de AGV

A determinação de AGV foi feita por cromatografia em fase gasosa. Utilizou-se coluna de vidro de 4 pés de comprimento por 1/8 de polegada de diâmetro, empacotada com carbopack e a leitura foi feita em detector de ionização de chama.

Utilizou-se nitrogênio como gás de arraste, na vazão 30 ml/minuto; oxigênio como comburente na vazão de 400 ml/minuto; e hidrogênio como combustível na vazão de 40 ml/minuto. Trabalhou-se com o vaporizador a temperatura de 195 graus Celcius, a coluna de separação a 120 graus Celcius e o detector a 205 graus Celcius.

As determinações foram efetuadas em triplicata, utilizando-se 1 microlitro de amostra para cada determinação. Utilizou-se uma solução padrão contendo concentrações de AGV semelhantes às encontradas nas amostras, que foi analisada a cada 18 determinações.

A partir dos resultados de concentração molar individual dos AGV, em mM/100 ml, obtiveram-se as seguintes variáveis: concentração total de AGV, em mM/100ml; concentração de isoácidos, em mM/100 ml; porcentagem molar de cada AGV e de isoácidos; relação molar entre ácido acético e propiônico, entre ácido acético e butírico e entre ácido acético e isoácidos; estimativa da quantidade de hexose fermentada a nível de rúmen; e produção de CO₂ e CH₄, segundo o método de WOLIN (1960), utilizando as concentrações molares dos ácidos acético, propiônico e butírico.

3.2.6. Metodologia de determinação de N-NH₃

As determinações de N-NH₃ foram efetuadas segundo o método de CHANEY & MARBACH (1962), que utiliza o princípio colorimétrico.

3.2.7. Metodologia de determinação de protozoários

Determinou-se a população de protozoários no rúmen, segundo o método de PURSER & MOIR (1959), utilizando-se microscópio óptico para qualificação e quantificação de protozoários até nível das subclasses: *Spirotricha* e *Holotricha*.

3.2.8. Metodologia de marcação de fase sólida

O procedimento de marcação dos volumosos, BIN e BAH, foi efetuado segundo UDEN et alii (1980), com algumas modificações no preparo da fibra antes da marcação.

O volumoso a ser marcado foi transferido para uma sacola de poliéster e lavado intensamente a fim de retirar os compostos solúveis, até que a água se apresentasse incolor. O procedimento de marcação efetuado posteriormente obedeceu o método já citado. Os volumosos marcados foram armazenados sob refrigeração até sua introdução no rúmen.

Para a determinação de cromo utilizou-se 1,000 g de amostra de conteúdo ruminal ou de fezes, digerindo-se com 15 ml de ácido nítrico concentrado à temperatura de 160 graus Celcius. Após o término da primeira fase da digestão utilizou-se 1 ml de ácido perclórico para completar a digestão.

Obteve-se o extrato diluindo-se o resíduo de digestão com água destilada até completar 50 ml. A determinação de cromo foi efetuada conforme método descrito para Cr-EDTA.

O cálculo de taxa de passagem e tempo de retenção do volumoso no rúmen foi efetuado conforme modelo descrito para a fase líquida.

Com os resultados de taxa de passagem e taxa de degradação potencial e efetiva do BIN e BAH, utilizando-se do modelo proposto por BRODERICK (1978), calculou-se a fração que escapa à degradação ruminal em relação à potencialmente degradável.

O cálculo do tempo médio de retenção do volumoso no trato digestivo, obtido a partir das concentrações de cromo nas amostras de fezes, foi efetuado segundo o modelo proposto por CASTLE (1956) e ADAMS & HILLS (1977).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição químico-bromatológica, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* do bagaço *in natura*

Conforme se pode observar na tabela 2, a variação da composição e degradabilidade do BIN entre as quatro diferentes batelatas foi pequena, exceto para a variável DVIV onde se observou diferença significativa a 5% de probabilidade. Nos trabalhos de DONEFER (1977) e HARRIS et alii (1983) observou-se variações de DVIV no BIN muito superiores às obtidas neste trabalho. A explicação para isto pode ser dada à diferença de procedência do BIN nos trabalhos acima citados.

Como neste caso a variação de qualidade do BIN foi pequena, pode-se dizer que esta não será uma fonte de variação responsável por possíveis diferenças estatísticas entre os tratamentos do BAH.

Tabela 2: Efeito de batelada na composição químico-bromatológica, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* do bagaço *in natura*.

Variável									
Batelada	DISI	DVIV	pH	EE	FDN	FDA	LIG	CEL	HEM
1	35,26	36,33b*	4,62	2,40	89,12	58,85	11,75	45,09	30,44
2	34,49	39,98a	5,10	2,44	88,31	57,78	11,97	43,91	30,53
3	38,27	38,73ab	5,10	2,29	87,22	56,49	11,56	42,99	30,75
4	36,45	39,59a	5,10	2,57	87,59	56,89	11,96	42,62	30,70

* As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

- DISI: degradabilidade *in situ* da fração insolúvel; DVIV: digestibilidade verdadeira *in vitro*; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; CEL: celulose; e HEM: hemicelulose.

Os resultados da análise de variância referentes ao BIN estão na tabela 3. Observa-se que não há efeito significativo de batelada na composição do BIN, principalmente no que se refere à sua fração fibrosa.

Tabela 3: Resultados das probabilidades da análise de variância para efeito de batelada do BIN.

Variável	%DISI	DVIV	pH	EE	FDN	FDA	LIG	CEL	HEM
Batelada	0,058	0,013	0,034	0,833	0,117	0,098	0,926	0,119	0,986

* Idem à tabela 2.

4.2. Efeitos da pressão e vapor nas características do bagaço auto-hidrolisado

Os resultados do teste de Tukey das análises químico-bromatológicas, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* do BAH tratado sob diferentes pressões e tempos são mostrados na tabela 4.

Observa-se que as determinações de DISI, EE, FDN, FDA, lignina e celulose foram as que identificaram diferenças entre os tempos de tratamento. A significância da análise de variância destas determinações pode ser observada na tabela 5.

Tabela 4: Efeito do tempo de auto-hidrólise na composição químico-bromatológica, degradabilidade *in situ*, e digestibilidade *in vitro* do BAH.

	Variável									
	DISI	DVIV	pH	FUR	EE	FDN	FDA	LIG	CEL	HEM
Tratamento										
13/6	55,36b*	60,82	3,63	1,38	5,51	56,61	52,20	8,65b	42,09	4,41
13/8	58,08ab	60,22	3,38	1,29	5,31	57,94	53,38	10,29a	40,80	4,56
13/10	62,46a	62,71	3,35	1,14	5,06	57,68	53,69	9,51ab	41,75	4,00
15/4	62,13	61,32	3,38	1,18	6,11	57,26b	53,96	10,76ab	41,24	3,31
15/6	62,05	61,05	3,39	1,23	6,07	57,39b	56,29	11,11a	41,35	1,09
15/8	63,50	61,67	3,40	0,73	5,74	58,50a	55,06	9,84b	42,32	3,44
17/3	56,47	61,20	3,40	0,99	4,75	58,88	53,19	9,55	41,54	5,70a
17/5	60,06	59,91	3,40	0,90	5,93	57,84	53,58	10,29	41,72	4,26ab
17/7	67,44	62,52	3,35	1,02	4,08	56,93	54,94	9,80	42,54	2,19b
19/2	64,08	62,88	3,30	0,51	5,78ab	59,12a	54,42b	10,26a	42,27b	4,96a
19/4	68,87	64,01	3,25	0,73	4,36b	56,15b	54,38b	10,97a	41,78b	1,77b
19/6	68,58	63,69	3,30	0,71	6,88a	60,88a	57,15a	7,60b	45,59a	3,74ab

* As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade e devem ser comparadas dentro da mesma coluna e em cada pressão, efeito de tempo de tratamento.

- DISI: degradabilidade *in situ* da fração insolúvel; DVIV: digestibilidade verdadeira *in vitro*; FUR: furfural; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina; CEL: celulose; e HEM: hemicelulose.

Tabela 5: Resultados das probabilidades da análise de variância para efeito do tempo de tratamento.

Pressão	Variável									
	*DISI	DVIV	pH	FUR	EE	FDN	FDA	LIG	CEL	HEM
13	0,029	0,293	0,064	0,655	0,946	0,639	0,355	0,034	0,075	0,879
15	0,572	0,560	0,650	0,414	0,847	0,015	0,504	0,044	0,517	0,467
17	0,074	0,402	0,465	0,565	0,109	0,368	0,598	0,474	0,685	0,024
19	0,164	0,217	0,465	0,211	0,029	0,008	0,001	0,009	0,004	0,026

* Idem à tabela 4.

Entre as determinações do sistema de detergentes, a de lignina foi que melhor detectou efeito de tempo de tratamento. Observa-se uma tendência de diminuição do teor de lignina a medida que se aumenta o tempo de tratamento. Isto pode ser devido à hidrólise desta fração, produzindo outros compostos solúveis, tais como monômeros fenólicos. Porém a

análise de EE, efetuada com éter etílico, que inclui monômeros fenólicos, não indicou efeito de tratamento, o que pode ser um indicativo da falta de sensibilidade deste método.

A análise de DISI detectou diferença entre os tempos para a pressão de 13 Kgf/cm². Embora tenha sido observada tendência de aumento para as pressões 17 e 19 Kgf/cm², não se detectou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade. Para a pressão de 17 Kgf/cm² foi detectada diferença significativa ao nível de 7,4% de probabilidade.

Embora estas determinações tenham identificado alterações com o aumento do tempo de tratamento, nota-se que apenas nos casos de DISI e lignina observaram-se tendências que se repetiram em outras pressões e que podem ser explicadas através dos conhecimentos existentes a respeito das alterações promovidas pela auto-hidrólise.

Estas tendências foram avaliadas através de análise de regressão linear. Na tabela 6 são mostrados os resultados de significância da análise de regressão linear, entre tempo de tratamento e as variáveis.

Tabela 6: Resultados das probabilidades da análise de regressão linear entre o tempo de tratamento e as variáveis.

Pressão	Variável									
	DISI	DVIV	pH	FUR	EE	FDN	FDA	LIG	CEL	HEM
13	0,005	0,266	0,041	0,322	0,718	0,451	0,146	0,316	0,662	0,698
15	0,348	0,540	0,391	0,260	0,570	0,021	0,582	0,155	0,268	0,952
17	0,018	0,518	0,261	0,773	0,548	0,124	0,298	0,695	0,380	0,003
19	0,121	0,253	1,000	0,146	0,415	0,483	0,030	0,097	0,062	0,480

* Idem à tabela 4.

Observa-se que a regressão linear para DISI foi significativa ao nível de 5% de probabilidade para as pressões de 13 e 17 Kgf/cm². Isto mostra que com o aumento do tempo de tratamento, nestas pressões, houve elevação da DISI. Foram detectadas outras regressões significativas: pH, FDN e hemicelulose, porém estas ocorrem em apenas uma pressão. Assim, para a análise de regressão linear, pode-se considerar que houve maior efeito na determinação de DISI.

4.3. Ensaios de degradabilidade *in situ*

Nesta fase serão discutidos os resultados dos ensaios da metodologia *in situ*. Inicialmente serão discutidos os efeitos dos tipos de alimentos incubados e das dietas nas diferentes variáveis e posteriormente serão desdobradas as interações entre alimento e dieta.

Para uma interpretação mais abrangente dos resultados será mostrado primeiramente os resultados da análise de variância, analisando-se os diferentes efeitos sobre as variáveis. Posteriormente estes resultados serão discutidos individualmente, analisando-se o efeito de dieta dentro de amostra e vice-versa.

Na tabela 7, pode-se observar os resultados da análise de variância para efeito de dieta, alimento, tempo, animal e rodada.

Pode-se observar que existe efeito de dieta e alimento na quase totalidade das variáveis analisadas. Apenas o efeito de dieta na variável TC não foi observado. O efeito de tempo foi analisado apenas para a variável DISI e foi significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7: Resultados das probabilidades da análise de variância considerando os efeitos de dieta, alimento, tempo, animal e rodada.

Fonte	Variável				
	DISI	TD	TR	TC	r2
Dieta	0,0001	0,0010	0,0001	0,1370	0,0508
Alimento	0,0001	0,0001	0,0001	0,0084	0,0009
Tempo	0,0001	-	-	-	-
Animal	0,7682	0,1193	0,1416	0,7439	0,3473
Rodada	0,3065	0,0342	0,0792	0,8427	0,4047

- DISI: degradabilidade *in situ* da fração insolúvel; TD: taxa de degradação *in situ* da fração potencialmente degradável; TR: taxa de degradação *in situ* real; TC: tempo de colonização *in situ*; e r2: coeficiente de correlação linear da equação de degradação.

No que se refere ao efeito de animal e rodada, observa-se que não houve significância sobre as variáveis analisadas. Neste caso apenas foi observado efeito de rodada sobre a variável TD. Estes dados mostram que o número de repetições efetuadas, animal e rodada, foi suficiente para detectar os efeitos dos tratamentos: dieta, alimento e tempo.

Nas tabelas 8 e 9 são apresentados os resultados do teste de Tukey, de comparação entre médias, considerando efeito de dieta e alimento, respectivamente. Os resultados das médias, desvios padrões e diferenças significativas entre alimentos para a mesma dieta e entre dietas para o mesmo alimento, que serão discutidos posteriormente, podem ser observados nas tabelas 10, 11, 12 e 13.

Observa-se na tabela 8, que entre as dietas de feno e BIN e de BIN e BAH, há diferença para as variáveis extensão e taxa de degradação. Tais resultados mostram que o ambiente ruminal condicionado pela dieta com BAH é desfavorável à degradação de fibra.

A menor intensidade de degradação de fibra na dieta com BAH quando comparada a do feno, poderia ser explicada pela presença de milho na dieta, 16% na MS, cujo efeito inibidor na atividade de bactérias celulolíticas é conhecido (LINDBERG, 1981). Contudo tal efeito não foi observado entre as dietas de feno e BIN, sendo que a dieta de BIN possuía 40% de milho na MS. Portanto, o efeito negativo na degradação ruminal de fibra, na dieta de BAH, seria consequência da presença de BAH e não de concentrado.

Tabela 8: Resultados do teste de Tukey para efeito de dieta ao nível de 5% de probabilidade, nas variáveis do método *in situ*.

Dieta	Variável				
	*DISI	TD	TR	TC	r2
Feno-BIN	ns	ns	ns	ns	ns
Feno-BAH	**	**	**	ns	**
BIN-BAH	**	**	**	ns	ns

* Idem à tabela 7.

** - comparações com diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

ns - comparações sem diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Pela tabela 8 observa-se que embora a presença de BAH no rúmen determine uma diminuição da DISI, da TD e da TR, o TC não apresentou diferença significativa. Portanto o fator depressor de degradação de fibras associado à presença de BAH no rúmen, afeta apenas o mecanismo de degradação após este ter início, já que os tempos de colonização não apresentaram diferenças significativas.

Outro efeito observado está na comparação entre as dietas de feno e BAH, para a variável r^2 . Sendo o r^2 o coeficiente de correlação linear da curva de degradação, ajustado para o modelo logarítmico (WALDO & SMITH, 1972), nota-se que, na dieta BAH, as curvas de degradação têm um padrão diferente do normalmente observado, conforme se vê nas figuras 1 e 2. O que mostra que a dinâmica de degradação das amostras incubadas é afetada pelo tipo de dieta. A explicação para isto poderia estar relacionada ao ambiente ruminal desfavorável ao crescimento e atividade de bactérias celulolíticas.

Além do padrão da curva de degradação ser atípico, outro aspecto importante que influenciou o r^2 e também a TD e TR na dieta de BAH, é que nestas condições não se alcançou a assíntota das curvas de degradação em 48 horas de incubação.

Observa-se na tabela 9, que para as variáveis DISI, TD e TR existe diferença significativa entre os alimentos padrão e BIN e entre padrão e BAH, sendo o padrão superior aos demais. A comparação entre os alimentos BIN e BAH mostra que a DISI e a TR são superiores para o BAH. Porém a TD, que leva em consideração a fração potencialmente degradável, não detecta diferença entre BIN e BAH. Ou seja, a auto-hidrólise elevou a quantidade de fração degradável e não a velocidade de degradação desta fração.

Tabela 9: Resultados do teste de Tukey para efeito de alimento ao nível de 5% de probabilidade, nas variáveis do método *in situ*.

Alimentos	Variável				
	*DISI	TD	TR	TC	r2
Padrão-BIN	**	**	**	ns	ns
Padrão-BAH	**	**	**	ns	**
BIN-BAH	**	ns	**	**	**

* Idem à tabela 7.

** - comparações com diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

ns - comparações sem diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

A análise da variável TC mostra um resultado importante, pois foi detectada diferença significativa entre os alimentos BIN e BAH, sendo superior para BAH. Este resultados confirmam as informações de literatura de que a desestruturação da fibra interfere negativamente na velocidade de colonização desta pelas bactérias celulolíticas (CZERKAWSKY, 1984).

Para a variável r_2 , foi detectada diferença entre padrão e BAH e entre BIN e BAH, sendo nos dois casos os valores menores para BAH. Observa-se que o comportamento da curva de degradação é afetado através não só da dieta de BAH como também quando este é incubado, como pode ser observado nas figuras 1 e 2.

4.3.1. Degradabilidade *in situ* da fração insolúvel da matéria seca, DISI

Os resultados de DISI podem ser observados na tabela 10 e figura 3. A DISI foi inferior na dieta de BAH, independentemente do tipo de alimento. Contudo observa-se que a depressão na DISI é maior quanto menos degradável for o alimento. Ou seja, na incubação do BIN, a DISI foi diminuída em 52,36% da dieta de feno para a de BAH, e na incubação do BAH e do padrão, a diminuição foi de 31,27% e 20,39%, respectivamente entre as mesmas dietas.

A dieta de BIN proporcionou condições ruminais semelhantes às da dieta de feno. Estes dados contradizem as informações de literatura de que a presença de amido diminui a degradação de fibra, pois as bactérias celulolíticas dariam preferência para utilização do amido em detrimento da celulose

(MONSON & UTLEY, 1974 e LINDBERG, 1981). Neste caso, mesmo com a presença de 40% de milho na MS da dieta, os resultados obtidos em comparação à dieta de feno foram semelhantes.

Tabela 10: Efeito de diferentes dietas na degradabilidade *in situ* da fração insolúvel da matéria seca de três tipos de alimentos incubados.

Dieta	Padrão	Alimento	
		BIN	BAH
Feno	*74,19±1,72 aA	36,27±2,91 aB	69,55±1,80 aA
BIN	75,30±2,83 aA	35,70±4,30 aB	68,44±4,76 aA
BAH	59,06±3,95 bA	17,29±1,17 bC	47,80±6,89 bB

* média±desvio padrão, (%).

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

- Letras minúsculas devem ser comparadas dentro da mesma coluna, efeito de dieta.

- Letras maiúsculas devem ser comparadas dentro da mesma linha, efeito de amostra.

Outro resultado importante a ser comentado refere-se à DISI efetiva e potencial do BIN e BAH. Enquanto a diferença entre BAH e BIN na DISI potencial é de 91,76%, em condições efetivas esta diferença diminui para 33,89%. O que

mostra que nestas condições a utilização da fração fibrosa do BIN e do BAH não é muito diferente. Isto levar em consideração o tempo de retenção destes alimentos no rúmen, o que será discutido posteriormente.

O efeito de tempo na DISI também foi analisado. As figuras 1 e 2 mostram as curvas de degradação em condições potenciais e efetivas para os diferentes alimentos. Nestas figuras pode-se observar nitidamente o efeito depressor da dieta de BAH, bem como a diferença entre BIN e BAH em condições potenciais e efetivas.

Figura 1: Curva de degradabilidade *in situ* potencial da fração insolúvel de três tipos de alimentos.

Figura 2: Curva de degradabilidade *in situ* efetiva da fração insolúvel de três tipos de alimentos.

4.3.2. Taxa de degradação *in situ* da fração insolúvel potencialmente degradável, TD

Na tabela 11 e figura 4, estão os resultados de TD para os diferentes tratamentos. A TD foi significativamente inferior para o padrão quando incubado na dieta com BAH, em relação à dieta de feno ou BIN. Contudo, fazendo-se a mesma comparação para os alimentos BIN e BAH, não houve diferença estatística. Mas se os resultados forem analisados sem considerar o efeito dos alimentos, conforme tabela 7, então observa-se diferença significativa entre a dieta de BAH e as demais.

A TD efetiva do BIN e BAH obtida neste trabalho está próxima dos valores 4,90 e 4,40 %/h encontrados por ORSKOV et alii (1980), utilizando BIN e bagaço tratado com 8% de soda, respectivamente.

Figura 3: Efeito de diferentes condições ruminiais na degradabilidade *in situ* de três tipos de alimentos.

Figura 4: Efeito de diferentes condições ruminiais na taxa de degradação *in situ* de três tipos de alimentos.

Tabela 11: Efeito de diferentes dietas na taxa de degradação *in situ* de fração insolúvel potencialmente degradável de três tipos de alimentos incubados.

Dieta	Alimento		
	Padrão	BIN	BAH
Feno	*8,430±0,321 a A	5,889±1,331 a B	6,005±0,529 aB
BIN	8,547±0,601 abA	5,498±1,001 aAB	4,833±1,889 aB
BAH	6,061±1,748 b A	3,714±1,519 a A	4,418±1,590 aA

* média±desvio padrão, (%/h).

- Letras diferem ao nível de 5% de probabilidade.

- Letras minúsculas devem ser comparadas dentro da mesma coluna, efeito de dieta.

- Letras maiúsculas devem ser comparadas dentro da mesma linha, efeito de alimento.

4.3.3. Taxa de degradação *in situ* real da fração insolúvel, TR

A análise dos resultados da TR é de grande importância pois o valor desta variável é consequência do efeito da DISI e TD simultaneamente. Os resultados de TR são encontrados na tabela 12 e na figura 5.

Para a variável TR, foi encontrado o mesmo efeito de dieta que para TD. A TR potencial para o padrão foi maior que a do BAH e BIN e a TR potencial do BAH foi 95,14% maior que a do BIN. Contudo em condições efetivas a diferença entre BAH e BIN é de apenas 9,14% e não significativa. Isto mostra que a utilização da fração fibrosa do BAH está muito aquém do seu potencial.

Tabela 12: Efeito diferentes dietas na taxa de degradação *in situ* real da fração insolúvel de três tipos de alimentos incubados.

Dieta	Alimento		
	Padrão	BIN	BAH
Feno	6,252±0,162 aA	2,139±0,541 aC	4,174±0,346 aB
BIN	6,432±0,435 aA	1,959±0,400 aB	3,281±1,158 aB
BAH	3,629±1,244 bA	0,652±0,305 bB	2,138±1,015 aAB

* média±desvio padrão (%/h).

- Letras diferem ao nível de 5% de probabilidade.

- Letras minúsculas devem ser comparadas dentro da mesma coluna, efeito de dieta.

- Letras maiúsculas devem ser comparadas dentro da mesma linha, efeito de alimento.

4.3.4. Tempo de colonização *in situ*, TC

Na tabela 13 e figura 6, são mostrados os resultados da variável TC. Observa-se que o desvio padrão foi muito elevado para esta variável, o que não permitiu que se detectasse diferença significativa entre alguns tratamentos.

Tabela 13: Efeito de diferentes dietas no tempo de colonização *in situ* de três tipos de alimentos incubados.

Dieta	Alimento		
	Padrão	BIN	BAH
Feno	*1,041±2,249 aA	1,787±1,065 abA	4,957±1,979 aA
BIN	3,667±1,628 aB	3,384±1,396 a B	7,387±1,922 aA
BAH	4,907±2,588 aA	0,420±1,508 b A	3,892±3,465 aA

* média±desvio padrão, (h).

- Letras diferem ao nível de 5% de probabilidade.

- Letras minúsculas devem ser comparadas dentro da mesma coluna, efeito de dieta.

- Letras maiúsculas devem ser comparadas dentro da mesma linha, efeito de alimento.

Figura 5: Efeito de diferentes condições ruminiais na taxa de degradação real *in situ* de três tipos de alimentos.

Figura 6: Efeito de diferentes condições ruminiais no tempo de colonização *in situ* de três tipos de alimentos.

Embora não tenha sido observado efeito de tipo de alimento incubado no TC, conforme tabela 8, no desdobramento da análise observou-se diferença significativa no TC para o alimento BIN, comparando-se entre as dietas BIN e BAH.

Para efeito de alimento detectou-se diferença significativa dentro da dieta BIN, entre os alimentos BIN e BAH. A mesma tendência foi observada entre estes alimentos nas demais dietas, embora não tenha sido detectada diferença significativa. Como já mencionado, este efeito foi detectado provavelmente devido à desestruturação da fibra do BAH.

4.3.5. Coeficiente de correlação linear das curvas de degradação *in situ*, r^2

Os resultados da variável r^2 , conforme tabela 14, mostram que, independentemente do tipo de dieta, houve diferença significativa entre os alimentos padrão e BAH, bem como entre BIN e BAH, sendo observado em ambos os casos, menor r^2 para BAH.

Porém para efeito de dieta só foi observada diferença no alimento padrão, sendo obtido na dieta de BAH o menor r^2 .

Tabela 14: Efeito de diferentes dietas no coeficiente de correlação linear das curvas de degradação *in situ* em três tipos de alimentos incubados.

Dieta	Alimentos		
	Padrão	BIN	BAH
Feno	*0,987±0,008 aA	0,974±0,014 aA	0,950±0,023 aB
BIN	0,982±0,010 aA	0,941±0,024 aAB	0,916±0,056 aB
BAH	0,956±0,018 bA	0,957±0,008 aA	0,921±0,031 aB

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

- Letras minúsculas devem ser comparadas dentro da mesma coluna, efeito de dieta.

- Letras maiúsculas devem ser comparadas dentro da mesma linha, efeito de alimento.

4.4. Fermentação ruminal, cinética de passagem de sólidos e líquidos e digestibilidade

4.4.1. Digestibilidade *in vivo* e balanço de nitrogênio

Os resultados referentes ao ensaio de digestibilidade *in vivo* são mostrados na tabela 15. Observa-se que o consumo de MS da dieta com BAH foi bem superior à de BIN, o que foi consequência do maior consumo de BAH. Como consequência, o consumo das demais frações foi superior para a dieta de BAH.

Estes resultados mostram que a substituição de BAH por BIN deprime o consumo da dieta e para que se mantenha elevados níveis de consumo de concentrado é necessário que seja diminuída a proporção de BIN. Neste experimento, para manutenção dos mesmos níveis de concentrado entre as duas dietas, foi necessário reduzir a proporção de BIN (48,19% vs. 65,65%).

Tabela 15: Consumo médio das frações brutas e digestíveis nas dietas de BIN e BAH.

Consumo (Kg)	Dieta		
	BIN	BAH	dms
Matéria seca, MS	7,36±0,74 b	10,81±1,42 a	0,91
MS digestível, MSD	4,42±0,38 b	5,92±0,92 a	1,21
Matéria orgânica, MO	7,00±0,70 b	10,12±1,71 a	0,86
MO digestível, MOD	4,40±0,40 b	5,77±0,85 a	1,07
Extrato etéreo, E	0,15±0,02 b	0,51±0,06 a	0,06
EE digestível, EED	0,11±0,03 b	0,46±0,06 a	0,07
Extrato não nitr, ENN	5,16±0,49 b	6,44±0,70 a	0,43
ENN digestível, ENND	3,56±0,29 a	3,58±0,76 a	0,88
Fibra em det. ác., FDA	2,00±0,32 b	4,00±0,61 a	0,86
FDA digestível, FDAD	0,97±0,12 b	1,91±0,39 a	0,68
Fibra em det. neut, FDN	3,75±0,41 b	4,79±0,68 a	0,46
FDN digestível, FDND	1,57±0,20 a	2,18±0,54 a	0,82

* média±desvio padrão (kg).

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

Os consumos das frações digestíveis foram maiores para a dieta contendo BAH com excessão das frações ENN e FDN.

A digestibilidade da fração ENN foi muito reduzida na dieta de BAH, e para a fração FDN foi detectado efeito de tratamento para consumo de FDN digestível ao nível de 7,68% de probabilidade, tabela 16.

Observa-se que a digestibilidade da MS e MO e o NDT foram semelhantes entre as dietas, com tendência de ser superior para a dieta de BIN. Foi detectado efeito de tratamento para a digestibilidade da MO ao nível de 10,22% de probabilidade. Porém este efeito provavelmente não foi devido ao volumoso e sim a outros fatores, tais como: maior proporção de concentrado e menor consumo de MS na dieta de BIN.

O cálculo da digestibilidade do EE mostra um resultado interessante, pois foi detectado efeito de tratamento ao nível de 6,42% de probabilidade, sendo superior para a dieta de BAH. Na dieta de BIN, 6,6% do EE foi fornecido via volumoso e na dieta de BAH 78,6%, o que mostra que a fração EE do BAH está sendo altamente digerida.

Tabela 16: Digestibilidade *in vivo* média das diferentes frações das dietas e dos nutrientes digestíveis totais, NDT.

Dig. aparente (%)	Dieta		
	BIN	BAH	dms
MS	60,17±2,68 a	54,67±2,95 a	8,99
MO	62,98±2,61 a	56,93±2,68 a	8,09
EE	73,70±16,0 a	90,36±3,96 a	18,16
ENN	69,04±3,69 a	55,24±8,16 b	12,69
FDA	39,53±4,13 a	43,86±4,63 a	13,91
FDN	41,92±2,79 a	45,09±6,66 a	13,18
NDT	61,96±2,64 a	58,76±2,93 a	7,84

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

- MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; EE: extrato etéreo; ENN: extrativo não nitrogenado; FDA: fibra em detergente ácido; FDN: fibra em detergente neutro; e NDT: nutrientes digestíveis totais.

A fração ENN da dieta de BIN teve digestibilidade superior à da dieta de BAH. Vários fatores podem ter influenciado este resultado, tais como: maior proporção de milho na dieta de BIN e efeito da fração EE da dieta de BAH ter sido transferida para o ENN nas fezes.

Do mesmo modo que a MS e MO, as digestibilidades da FDN e FDA não foram diferentes entre as dietas. Estes resultados mostram que a fração fibrosa das dietas, constituídas acima de 90% pela participação dos volumosos, foi digerida de forma semelhante e em níveis baixos nos dois tratamentos. Assim a auto-hidrólise não promoveu elevação da digestibilidade da fração fibrosa em relação ao BIN. O que concorda com os resultados obtidos na fase II do trabalho, que mostraram que a fração fibrosa do BAH é degradada na mesma intensidade que a do BIN.

Os resultados do balanço de nitrogênio são mostrados na tabela 17. O consumo de PB e de PB digestível foram superiores na dieta de BAH e a digestibilidade aparente foi inferior nesta dieta. Como o consumo de proteína na dieta de BAH foi 59% maior que na dieta de BIN, se a digestibilidade verdadeira das frações protéicas fossem semelhantes, seria de se esperar que a digestibilidade aparente fosse superior para a dieta de BAH, pois o efeito das perdas endógenas, aumentando o teor de PB nas fezes seria menor. Porém o que ocorreu foi o

inverso, concordando com os dados obtidos por PATE (1982), que sugerem a existência de algum composto no BAH que inibe ou diminui a utilização da proteína no trato digestivo.

Os resultados do balanço total de nitrogênio e a relação entre N excretado na urina e N digerido ou N ingerido têm grande interferência do nível de consumo de N, que foi diferente entre as dietas. Assim não se pode concluir sobre eficiência de utilização do N com os resultados obtidos.

Tabela 17: Dados médios do balanço de nitrogênio.

Variável	Dieta			
	BIN	BAH	dms	
Cons. de PB (Kg)	*0,68±0,07 b	1,08±0,15 a	0,18	
Cons. de PB dig. (Kg)	0,45±0,04 b	0,64±0,09 a	0,06	
Dig.ap. da PB (%)	65,66±2,95 a	59,13±1,02 b	4,94	
Balanço total de N (Kg)	-0,04±0,07 b	0,12±0,03 a	0,16	
N urina/N digerido (%)	107,64±15,26 a	79,91±6,58 a	29,90	
N urina/N ingerido (%)	70,63±10,41 a	47,23±3,69 b	20,58	

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

4.4.2. Cinética de passagem de líquidos e da fermentação ruminal

Taxa de diluição: os resultados da metodologia de Cr-EDTA, na determinação da cinética da fase líquida através do rúmen, podem ser observados na tabela 18.

Observa-se que a taxa de diluição é superior para a dieta de BAH, o que era de se esperar, já que segundo TOPPS et alii (1968), o aumento de consumo eleva a taxa de diluição do rúmen e o aumento da proporção de volumoso na dieta também determina um efeito semelhante (HARRISON et alii, 1975). Para o nível de consumo e proporção de volumoso na dieta de BAH, a taxa de diluição do rúmen está acima da encontrada em outros trabalhos. Isto indica que outros fatores estão determinando um aumento na taxa de diluição.

A eficiência de fermentação, medida através do Y(ATP), se eleva com o aumento da taxa de diluição do meio, o que foi mostrado em trabalhos *in vitro* (ISAACSON et alii, 1975 e HARRISON & McALLAN, 1980) e *in vivo* (HARRISON et alii, 1975). Isto é particularmente verdadeiro para bactérias não celulolíticas que permanecem na fase líquida do rúmen e possuem um tempo de geração curto em relação às bactérias celulolíticas.

Tabela 18: Dados médios dos ensaios de Cr-EDTA, para avaliação da cinética de passagem de fase líquida do rúmen.

Variável	Dieta			
	BIN	BAH	dms	
Taxa de diluição (%/h)	5,97±0,39 b	8,35±1,27 a	1,79	
Tempo de renovação (h)	16,83±1,09 a	12,27±1,98 b	3,50	
Tempo de renovação (dia)	0,70±0,08 a	0,51±0,05 b	0,16	
Volume ruminal (l)	74,00±14,11 a	74,66±21,00 a	26,48	
r ² da regressão linear para cálculo da taxa	0,97±0,02 b	0,99±0,01 a	0,02	

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

No caso de bactérias celulolíticas, a elevação da taxa de diluição pode ser em alguns casos prejudicial, uma vez que estas bactérias estão associadas à fase sólida, assim se esta permanecer pouco tempo no rúmen ou as condições químicas deste forem inadequadas para a colonização da fase sólida, pode ocorrer a lavagem desta população do meio.

Coeficiente de correlação linear: os r² das regressões efetuadas para o cálculo da taxa de diluição foram menores na dieta de BIN. Provavelmente isto tenha ocorrido por

efeito de amostragem, já que na dieta de BIN, as condições físicas do rúmen prejudicam uma boa homogeneização, o que não acontece na dieta de BAH. Os problemas de amostragens foram mais notados nos primeiros horários de coleta, onde ocorriam pontos distantes da equação de regressão.

pH ruminal: os resultados médios diários do pH ruminal são mostrados na tabela 19 e sua variação em 24 h pode ser observada na figura 7. Os resultados mostram grande efeito da substituição de BIN por BAH, provocando acentuado abaixamento no pH ruminal. Observa-se, que além da redução do pH médio, sua variação ao longo do dia também é afetada.

Segundo PRINS & CLARKE (1980), o pH ruminal é um dos importantes fatores físico-químicos com ação seletiva nos microorganismos do rúmen, principalmente quando ocorre grandes variações ao longo do dia.

O efeito inibidor de pH baixo na atividade de bactérias está associado não só ao aumento na concentração de ions H^+ , mas principalmente devido à elevação na concentração de AGV que ocorre como consequência do abaixamento do pH (PRINS & CLARKE, 1980).

Tabela 19: Dados médios de pH ruminal, pH fecal, nitrogênio amoniacal e protozoários.

Variável	Dieta		
	BIN	BAH	dms
pH ruminal	$6,90 \pm 0,08$ a	$5,89 \pm 0,12$ b	0,26
pH fecal	$6,95 \pm 0,14$ a	$6,58 \pm 0,02$ b	0,23
N-NH ₃ (mg/100ml)	$3,47 \pm 2,59$ a	$4,19 \pm 1,58$ a	3,68
Protozoários (*10.000/ml)	$4,25 \pm 1,41$ b	$15,47 \pm 5,10$ a	1,81

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito de elevação da concentração total de AGV, como consequência do pH ruminal baixo, observado no trabalho desenvolvido por COSTA (1987), que utilizando uma dieta contendo 10% de feno e 55% de BAH, observou variação significativa do pH ruminal ao longo do dia, média diária de pH baixa e elevada concentração de AGV.

No presente trabalho, a variação do pH ruminal não foi observada, provavelmente devido à falta de estímulo físico à ruminação. Porém o pH ruminal se manteve em níveis abaixo dos recomendados (KAUFMANN et alii, 1980) ao longo de todos os tempos de coletas.

pH fecal: o efeito prejudicial de pH ruminal baixo pode ocorrer não só a nível de rúmen, como também no intestino delgado, principalmente no jejuno e íleo, onde ocorre a digestão do amido. Diversos trabalhos têm mostrado que o pH fecal tem correlação com a digestibilidade do amido e pode ser utilizado como indicador desta.

Os resultados deste trabalho, contidos na tabela 19, mostram que o pH fecal da dieta de BAH foi inferior ao de BIN. Isto pode ser um indicativo de que o pH da digesta que escapa ao rúmen não pôde ser elevado a nível de intestino, e permaneceu baixo durante todo o trato digestivo, ou a digestão do amido foi prejudicada, e este alcançou o intestino grosso, sendo fermentado a ácido láctico e outros ácidos, o que contribui para o abaixamento do pH fecal.

Nitrogênio amoniacal, $N-NH_3$: a concentração média de $N-NH_3$ ruminal, conforme tabela 19, foi baixa e não diferente estatisticamente entre as dietas. Segundo dados de trabalhos *in vivo* (SATTER & SLYTER, 1974) e *in situ* (MEHREZ et alii, 1977), a concentração de $N-NH_3$ ruminal, para máxima degradação de fibra,

deveria ser superior a 5 e 23,5 mg/100ml, respectivamente. Na figura 8 são mostradas as concentrações de N-NH₃ ao longo do dia. Observou-se diferença entre tratamentos apenas no tempo de coleta T-15, onde a concentração foi maior para a dieta de BAH. Considerando que o consumo de PB foi superior na dieta contendo BAH, poderia ser esperado que o nível de N-NH₃ fosse maior nesta dieta. Porém se existe algum efeito anti-proteolítico do BAH, este pode diminuir a degradação de proteína a nível de rúmen, diminuindo os níveis de N-NH₃.

População de Protozoários: os resultados da contagem total de protozoários, conforme tabela 19, mostram que a sua população na dieta de BAH é quase 4 vezes superior à encontrada na dieta de BIN. Outra observação importante é que não foram encontrados protozoários do gênero *Holotricha* nos diferentes tratamentos, assim os resultados referem-se à população de protozoários do gênero *Spirotricha*. Na dieta de BAH isto pode ser explicado pelo baixo pH ruminal, já que estes protozoários são sensíveis a pH baixo.

Figura 7: Efeito de diferentes dietas na variação ao longo do dia do pH ruminal.

Figura 8: Efeito de diferentes dietas na variação ao longo do dia da concentração de N-NH3 ruminal.

Embora os protozoários do gênero *Spirotricha* tenham maior resistência a pH baixo, era de esperar que na dieta de BAH a população fosse menor. Porém, como as condições ruminais nesta dieta estavam inadequadas ao crescimento de bactérias celulolíticas, sendo assim a menor competição no meio pode ter possibilitado que a população de protozoários aumentasse.

Segundo SILVA & LEAO (1979), protozoários produzem através da fermentação de carboidratos, principalmente ácidos acético, butírico e em alguns casos ácido lático sendo a produção de ácido propiônico insignificante. Estes protozoários engolfam, também, grande quantidade de bactérias do meio, diminuindo a quantidade de proteína microbiana sobrepassante. Observa-se portanto, que a presença de protozoários envolve alguns aspectos negativos na fermentação ruminal. Este efeito poderia ser ainda maior para a dieta de BAH onde o meio é desfavorável às bactérias celulolíticas.

Ácidos graxos voláteis, AGV: na tabela 20 encontram-se os resultados de ácidos graxos voláteis, AGV. Nas figuras 9 e 10 pode-se observar a variação ao longo do dia na concentração de AGV e porcentagem molar de isoácidos, respectivamente.

Observa-se que a concentração total de AGV e a concentração de C2, C3 e C4 é superior na dieta de BAH, o que concorda com os dados obtidos no ensaio de digestibilidade, onde o consumo de MO digestível na dieta de BAH foi superior.

Embora a concentração de AGV no rúmen seja alterada pela velocidade de absorção pelo epitélio ruminal e pela taxa de diluição do meio (PRINS & CLARKE, 1980), sabe-se que a concentração de AGV reflete a produção destes (SUTTON, 1980). Assim poder-se-ia inferir que a produção de AGV na dieta de BAH foi maior, mesmo tendo esta dieta um pH inferior, o que tenderia a elevar a concentração de AGV.

Mesmo sendo a concentração dos AGV maior para a dieta de BAH, a concentração de isoácidos, que reflete a degradação de aminoácidos de cadeia ramificada é inferior para esta dieta. A menor concentração de isoácidos na dieta de BAH pode estar limitando a atividade de bactérias celulolíticas, que utilizam estes como substrato para síntese de suas proteínas. VALDEZ et alii (1988) encontraram valores de isoácidos de 5,5 a 6,2% do total de AGV, para dietas ricas em proteína degradável no rúmen.

Tabela 20: Dados médios das concentrações, porcentagens e relações molares dos ácidos graxos voláteis.

Variável	Dieta		
	BIN	BAH	dms
Conc. molar (mMoles/100 ml)			
Acido acético, C2	5,92±0,63 b	7,90±0,59 a	1,02
Acido propiônico, C3	1,54±0,23 b	2,63±0,12 a	0,30
Acido butírico, C4	0,62±0,11 b	1,16±0,17 a	0,16
Isoácidos	0,37±0,05 a	0,26±0,02 b	0,10
Total de AGV	8,46±0,81 b	11,95±0,83 a	1,52
Porcentagem molar			
Acido acético, C2	70,01±2,94 a	66,05±0,90 b	2,20
Acido propiônico, C3	18,25±2,46 b	22,08±1,01 a	1,47
Acido butírico, C4	7,27±0,83 b	9,68±0,85 a	0,88
Isoácidos	4,29±0,59 a	2,18±0,22 b	0,26
Relação molar			
C2/C3	3,98±0,66 a	3,03±0,15 b	0,47
C2/C4	10,06±1,46 a	6,92±0,66 b	2,14
C2/isoácidos	16,32±2,68 b	31,34±3,02 a	4,51

* média+desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 9: Efeito de diferentes dietas na variação ao longo do dia da concentração de AGV ruminal.

Figura 10: Efeito de diferentes dietas na variação ao longo do dia da porcentagem molar de isoácidos no rúmen.

Pelo maior consumo de proteína e menor pH ruminal, a concentração de isoácidos deveria ser maior na dieta de BAH. A menor concentração pode ser devido a três fatores: 1. Menor degradabilidade da proteína, pois embora as fontes protéicas sejam semelhantes para as duas dietas, a sua degradabilidade pode ter sido afetada pelas condições ruminais existentes. Este resultado seria mais um indicativo de que o BAH interfere na degradabilidade da proteína a nível de rúmen; 2. Menor tempo de retenção do concentrado protéico no rúmen, pois o maior consumo da dieta e a menor granulometria do BAH podem elevar a taxa de passagem das frações protéicas e diminuir sua degradação; e 3. Maior utilização de isoácidos, pois devido à maior intensidade de fermentação, a utilização de isoácidos poderia ser maior na dieta de BAH. Porém, como o fornecimento de proteína também foi aumentado, esta hipótese parece pouco provável.

Os resultados de porcentagem molar de AGV mostram que a fermentação da dieta de BAH determina menor porcentagem de C2, maior de C3 e C4 e menor de isoácidos. Mesmo tendo uma relação volumoso/concentrado maior que a da dieta de BIN, a dieta de BAH apresentou maior concentração de C3. Este dado indica que a hemicelulose transformada em carboidratos solúveis deve estar sendo degradada a nível de rúmen produzindo principalmente C3.

Dióxido de Carbono, CO_2 ; Metano, CH_4 e Hexose: a partir da proporção molar entre C_2 , C_3 e C_4 , estimou-se conforme tabela 21, a produção de gases CH_4 e CO_2 e a quantidade de hexose fermentada a nível de rúmen.

Segundo dados de COPPOCK et alii (1964), uma dieta contendo 50% de volumoso produz 36,2 moles de CH_4 para cada 100 moles de AGV. Neste trabalho observou-se valores bem acima destes, sendo observado na dieta de BAH valor superior, mostrando ineficiência na fermentação ruminal, principalmente devido à baixa proporção de C_3 .

Conforme se observa na tabela 21, embora a dieta de BIN forneça menos energia disponível à degradação a nível de rúmen, mMoles de hexose fermentada/100 ml de fluido ruminal, a transformação desta energia é mais eficiente, moles de hexose fermentada para produzir 100 moles de AGV.

Para o cálculo da quantidade diária de hexose fermentada, é necessário utilizar a quantidade de hexose fermentada/ml e o volume ruminal. Como a variável volume ruminal teve elevado coeficiente de variação, 18,29%, não foi detectada diferença significativa entre tratamentos, para a produção quantidade diária de hexose, mesmo com elevada diferença entre médias.

Tabela 21: Dados médios das estimativas de produção de gases e de hexose fermentada no rúmen a partir da proporção de C2, C3 e C4 e volume ruminal.

Variável	Dieta		
	BIN	BAH	dms
Moles/100 Moles de ABV produzidos			
CO ₂ produzido	*35,66±1,96 a	33,09±0,77 b	1,35
CH ₄ produzido	52,84±1,01 b	54,26±1,07 a	0,64
Hexose fermentada	53,81±0,44 b	54,95±0,44 a	0,46
Hexose fermentada			
(mMoles/100 ml)	4,55±0,45 b	6,57±0,49 a	0,83
(g/dia)	586,4±157,2 a	856,7±216,5 a	405,0

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

4.4.3. Avaliação da cinética de passagem de sólidos pelo rúmen e trato gastrointestinal

Os resultados de cinética de passagem de fase sólida através do rúmen e trato digestivo, encontram-se na tabela 22. Considerando que o BAH é um alimento volumoso, a sua velocidade de passagem pelo rúmen é extremamente elevada e

deve limitar sua degradabilidade. Os resultados obtidos com BIN confirmam os dados de literatura, que mostram que seu tempo de retenção no rúmen é de aproximadamente 48 h.

Devido à desestruturação física das fibras e da granulometria do BAH que são consequência do processo de auto-hidrólise, era de se esperar que a sua velocidade de passagem através do rúmen e trato gastrintestinal fosse elevada.

No rúmen o BAH permaneceu menos tempo retido que o BIN, contudo no trato gastrintestinal não foi detectada diferença significativa entre o tempo de retenção do BIN e BAH, tabela 22.

Segundo ARGENSIO (1985), a velocidade de passagem de um alimento através do intestino delgado e grosso é função do estímulo físico da digesta nas paredes destes segmentos. A digesta contendo BAH provavelmente estimula menos o peristaltismo que a contendo BIN. Utilizando-se os resultados de tempo de retenção no rúmen e trato digestivo, obtêm-se os valores de 12,92 e 21,87h de tempo de retenção no segmento pós-rúmen para as dietas de BIN e BAH, respectivamente.

Tabela 22: Dados médios dos ensaios de Cr-Mordente, para avaliação da cinética de passagem de fase sólida do rúmen, pós-rúmen e no trato digestivo.

Variável	Dieta		
	BIN	BAH	dms
Rúmen			
Taxa de passagem (%/h)	$2,17 \pm 0,34$ b	$3,06 \pm 0,49$ a	0,37
Tempo de retenção (h)	$47,32 \pm 8,36$ a	$33,46 \pm 5,13$ b	7,53
Tempo de retenção (dia)	$1,97 \pm 0,34$ b	$1,39 \pm 0,21$ a	0,31
r ² da regressão linear para cálculo da taxa	$0,89 \pm 0,06$ b	$0,96 \pm 0,03$ a	0,06
Pós-rúmen			
Tempo de retenção (h)	$12,92 \pm 1,03$ b	$21,87 \pm 1,86$ a	4,35
Tempo de retenção (dia)	$0,54 \pm 0,04$ b	$0,91 \pm 0,08$ a	0,02
Trato digestivo			
Tempo de retenção (h)	$60,23 \pm 6,81$ a	$55,33 \pm 3,35$ a	15,43
Tempo de retenção (dia)	$2,51 \pm 0,28$ a	$2,30 \pm 0,14$ a	0,64

* média±desvio padrão.

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

Este resultado pode ser de muita importância, pois no caso da dieta de BAH os concentrados permanecem maior tempo no intestino delgado, sofrendo o processo de hidrólise e

absorção. Quanto ao tempo de retenção no intestino grosso o processo é inverso, pois quanto menor o estímulo físico menor o tempo de retenção (ARGENSIO, 1985), o que seria prejudicial à utilização do BAH neste segmento.

Do mesmo modo que ocorreu com o ensaio de Cr-EDTA, o r^2 para a equação de regressão linear na dieta de BIN foi inferior à obtida na dieta de BAH. Neste caso o efeito de erro de amostragem foi maior que para Cr-EDTA, já que o r^2 obtido na dieta de BAH foi baixo ($r^2=0,89$).

A extensão de degradação de um alimento no rúmen é função de sua taxa de degradação e taxa de passagem. Fazendo-se a interpolação dos resultados de taxa de passagem do volumoso, nas curvas de degradação da fração insolúvel potencial e efetiva da fase II, obtém-se a degradabilidade real da fração fibrosa potencial e efetiva dos alimentos BIN e BAH, conforme tabela 23 e figura 11.

Pela tabela 23, observa-se que em condições potenciais, a degradabilidade do BAH é muito superior à do BIN (81,6%), o que mostra que mesmo com um baixo tempo de retenção no rúmen, o BAH possui elevada utilização, bastando que a taxa de degradação se mantenha elevada. Porém quando as condições ruminais são inadequadas, que foi o que ocorreu quando se forneceu a dieta de BAH, a taxa de degradação do BAH é deprimida e fica semelhante à do BIN.

Estes resultados são diferentes dos dados de DISI obtidos na fase II, pois naquelas condições comparou-se a DISI em 48h de degradação e neste caso os dados foram comparados no tempo de retenção do volumoso no rúmen.

Tabela 23: Dados médios de degradabilidade *in situ* real em condições potenciais e efetivas.

Variável	Dieta		
	BIN	BAH	dms
DISI potencial	*33,58±1,06 b	60,97±3,03 a	3,47
DISI efetiva	32,39±1,25 a	34,80±2,97 a	3,18

* média±desvio padrão (%).

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

Com base nos resultados obtidos neste experimento, observa-se que elevando-se o tempo de retenção do BAH de 33 h para 48 h, há um aumento de 37,4% da degradabilidade da fração fibrosa e que alterando-se a condição ruminal e consequentemente aumentando-se a taxa de degradação de 4,41 para 6,06 %/h, há um aumento de 75,2% da degradabilidade da fração fibrosa. A alteração de ambas variáveis elevaria em 99,9% a degradabilidade da fração fibrosa do BAH. Estes dados mostram que a taxa de

degradação apresenta um maior potencial para manipulação que o tempo de retenção e que a utilização do BAH observada neste experimento está muito aquém do seu potencial.

O cálculo da perda de material potencialmente degradável que escapa ao rúmen, conforme tabela 24 e figura 12, mostra que em condições potenciais há semelhança entre BIN e BAH. Porém em condições efetivas grande parte da fração potencialmente degradável do BAH passa pelo rúmen sem ser atacada. O aumento da taxa de degradação objetiva justamente a diminuição deste valor para próximo do obtido em condições potenciais.

Tabela 24: Dados médios da estimativa da fração que passa pelo rúmen sem ser degradada, em relação à potencialmente degradável.

Condição Ruminal	Dieta		
	BIN	BAH	dms
Potencial	*26,82±3,19 a	28,88±3,22 a	2,22
Efetiva	28,19±3,29 b	40,70±3,77 a	2,55

* média±desvio padrão (%).

- As letras mostram diferenças entre as médias ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 11: Efeito de diferentes condições ruminiais na degradabilidade *in situ* do bagaço *in natura* e auto-hidrolisado.

Figura 12: Efeito de diferentes condições ruminiais na indegradabilidade *in situ* do bagaço *in natura* e auto-hidrolisado.

5. CONCLUSÕES

Entre os diferentes tratamentos efetuados no bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado, as determinações de lignina e degradabilidade *in situ* foram as que melhor indicaram os efeitos da auto-hidrólise sobre este alimento e através destas determinações considerou-se que as melhores condições de tratamento foram: pressão, (kgf/cm²) / tempo, (minutos) 17/7, 19/4 e 19/6.

Novos tipos de determinações devem ser estudados para a avaliação e controle de qualidade do processo de auto-hidrólise do bagaço, principalmente aquelas que avaliem os produtos formados pela hidrólise da lignina.

Além de se estudar novos métodos de análise, é necessário que se correlacione tais resultados com respostas de desempenho animal, obtendo-se assim padrões de composição deste alimento para melhor eficiência do processo.

Dietas contendo bagaço *in natura* e feno, como volumosos, proporcionaram boas condições ruminais à degradação de fibra, indicando que o bagaço *in natura* está sendo utilizado no

seu potencial máximo. Já quando se utiliza bagaço auto-hidrolisado como volumoso em dietas para bovinos, há depressão na degradabilidade da fração fibrosa dos alimentos nela incubados, indicando que as condições ruminais não foram adequadas ao crescimento e atividade de bactérias celulolíticas.

Assim, embora a auto-hidrólise aumente o potencial de degradação da fração fibrosa do bagaço, nas condições reais de degradação sua utilização é semelhante a do bagaço *in natura*.

A não utilização do elevado potencial de degradação da fração fibrosa do bagaço, pode ser explicada principalmente pelo pH ruminal que é mantido em níveis desfavoráveis e abaixo dos recomendados à atividade de bactérias celulolíticas, bem como à elevada taxa de passagem deste alimento através do rúmen-retículo.

Embora seja observada grande ineficiência na utilização do potencial nutritivo da fração fibrosa do bagaço auto-hidrolisado, sua introdução em dietas para bovinos em substituição ao bagaço *in natura*, promove aumento no consumo de energia digestível via volumoso. Isto pode ser explicado pois no bagaço auto-hidrolisado há elevada porcentagem de carboidratos solúveis que são degradados no rúmen, além de ocorrer um maior consumo da dieta.

Dentre as variáveis estudadas neste trabalho, a manipulação daquelas que melhoram as condições ruminais e consequentemente aumentam a taxa de degradação do bagaço auto-hidrolisado, têm maior eficiência para elevar sua utilização, do que o aumento do tempo de retenção deste alimento no rúmen-retículo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C.J. & HILLS, F.J. A power parabola for an asymmetrical response. *Agronomy J.*, 69: 124-125, 1977.

A.O.A.C. Official methods of analysis. *Association of Official Agricultural Chemists*. Tenth edition. Washington, D.C. 1965.

ARGENSIO, R.A. Gastrointestinal motility. In: *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. SWENSON, M.J., ed. Ithaca, USA, p. 278-289, 1985.

BENDER, F.; HEANEY, D.P.; BOWDEN, A. Potencial of steamed wood as a feed for ruminants. *Forest Prod. J.*, 20: 36-44, 1970.

BERGER, L.L.; KLOPFENSTEIN, T.J.; BRITTON, R.A. Effect of sodium hydroxide treatment on rate of passage and rate of ruminal fiber digestion. *J. Anim. Sci.*, 50: 745-749, 1980.

BINNERTS, W.T.; KLOOSTER, A.Th.van't. Soluble chromium indicator measured by atomic absorption in digestion experiments. *The Veterinary Rec.*, 470, april, 1968.

BRODERICK, G.A. *In vitro* procedures for estimating rates of ruminal protein degradation and proportions of protein escaping the rumen undegradated. *J. Nutrition*, 108: 181-190. 1978.

CZERKAWSKI, J.W. Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. In: MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L.; DOBSON, A., ed. *Control of Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Banf, Canada, 1984. p. 158-172.

DONEFER, E. *Physical treatment of poor-quality roughages at commercial and farm levels*. Dep. Animal Science, McGill University. Quebec, Canada. 1977.

DONEFER, E. Standartization of analytical methods for evaluating the nutritive value of by-products. In: BY-PRODUCT UTILIZATION FOR ANIMAL PRODUCTION, Nairobi, 1982. *Proceedings*. Ottawa, Int. Devel. Res. Centre., 1982. p. 128-137.

GARRETT, W.N.; WALKER, H.G.; OHLER, G.O.; HART, M.R.; GRAHAM, R.P. Steam treatment of crop residues for increased ruminant digestibility. II. Lamb feeding studies. *J. Anim. Sci.*, 51: 409-413, 1981.

GOERING, H.K. & VAN SOEST, P.J. *Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Washington, D.C. Agricultural Research Service, USDA. 19p. Agriculture Handbook, # 379. 1970.

GOSSELING, G.B.J. *Ruptura da lignina da palha através de tratamento com uma solução de uréia*. Relatório # 17. Bureau de Agronomia da Indústria Holandesa de Adubos. 1982.

- BURGI, R. Produção do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. L.) auto-hidrolisado e avaliação do seu valor nutritivo para ruminantes. Piracicaba, 1985. 60p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- CASTLE, E.J. The rate of passage of feedstuffs through the alimentary tract of the goat. I. Studies on adult animals fed on hay and concentrates. *Brit. J. Nutrition*, 10: 15-23, 1956.
- CHANEY, A.L. & MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *J. Clinical Chemistry*, 8: 130-132, 1962.
- CHESSON, A. Effects of sodium hydroxide on cereal straws in relation to the enhanced degradation of structural polysaccharides by rumen microorganisms. *J. Sci. Food Agric.*, 32: 745-758, 1981.
- CLARK, J.H. & DAVIS, C.L. Forage and buffers. *Animal Health and Nutrition*, Sep-Oct, 1984.
- COPPOCK, C.E.; FLATT, W.P.; MOORE, L.A. Relationship between end products of rumen fermentation and utilization of metabolizable energy for milk production. *J. Dairy Sci.*, 47: 1359-1364, 1964.
- COSTA, L.R.D. Suplementação de uréia em dietas de bagaço de cana (*Saccharum* sp. L.) auto-hidrolisado para ruminantes. Piracicaba, 1987. 112p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- GUGGOLS, J.; KOHLER, G.O.; KLOPFENSTEIN, T.J. Composition and improvement of grass straw for ruminant nutrition. *J. Anim. Sci.*, 33: 151-156, 1971.
- HARRISON, D.G.; BEEVER, D.E.; THOMSON, D.J.; OSBOURN, D.F. Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow of water from the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.*, 85: 93-101, 1975.
- HARRISON, D.G. & McALLAN, A.B. Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen. In: RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P., ed. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980. p. 205-225.
- HARRIS, B.; VAN HORN, H.H.; MANOOKIAN, K.E.; MARSHALL, S.P.; TAYLOR, M.J.; WILCOX, C.J. Sugarcane silage, sodium hydroxide and steam pressure-treated sugarcane bagasse, corn silage, cottonseed hulls, sodium bicarbonate and *Aspergillus oryzae* product in complete rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 66: 1474-1485, 1983.
- HART, M.R.; WALKER Jr., H.G.; GRAHAM, R.P.; HANNI, P.J.; BROWN, A.H.; KOHLER, G.O. Steam treatment of crop residues for increased ruminant digestibility. I. Effects of process parameters. *J. Anim. Sci.*, 51: 402-408, 1981.
- HUNT, C.W.; PATERSON, .A.; ZINN, G.M.; WILLIAMS, J.E. Effect of particle lenght and sodium hydroxide treatment of wheat straw on site and extent of digestion by lambs. *J. Anim. Sci.*, 58: 1454-1460, 1984.

- ISAACSON, H.R.; HINDS, F.C.; BRYANT, M.P.; OWENS, F.N. Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 58: 1645-1659, 1975.
- JACKSON, M.G. Review article: The alkali treatment of straws. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2: 105-130, 1977.
- JUNG, H.J.G. & FAHEY Jr., G.C. Effect of phenolic compound removal on *in vitro* forage digestibility. *J. Agric. Food Chem.*, 29: 817-820, 1981.
- JUNG, H.J.G. & FAHEY Jr., G.C. Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: a review. *J. Anim. Sci.*, 57: 206-219, 1983.
- KAUFMANN, W.; HAGEMEISTER, H.; DIRKSEN, G. Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. In: RUCKEBUSH, Y. THIVEND, P., *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980. p. 587-602.
- KLOPFENSTEIN, T.J. & BOLSEN, K.K. High temperature pressure treated crop residues. *J. Anim. Sci.*, 33: 290, 1971.
- KLOPFENSTEIN, T.J. & OWEN, F.T. Value and potential use of crop residues and by-products in dairy cattle rations. *J. Dairy Sci.*, 64: 1250-1268, 1981.

LAU, M.M. & VAN SOEST, P.J. Titratable groups and soluble phenolic compounds as indicators of the digestibility of chemically treated roughages. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 6: 123-131, 1981.

LEMENAGER, R.P.; DWENS, F.N.; SHOCKEY, B.J.; LUSBY, K.S.; TOTUSEK, R. Monensin effects on rumen turnover rate, twenty-four hour VFA pattern, nitrogen components and cellulose disappearance. *J. Anim. Sci.*, 47: 255-261, 1978.

LINDBERG, J.E. The effect of basal diet on the ruminal degradation of dry matter, nitrogen compounds and cell walls in nylon bags. Roughage and cereals in various proportions. *Swedish J. Agric. Res.*, 11: 159-169, 1981.

MARCOS, A.C.M.; LEME, P.R.; BOIN, C. Efeito do tempo de tratamento a pressão e vapor na composição química e na digestibilidade *in vitro* da matéria seca do bagaço de cana-de-açúcar. *Zootecnia*, 22: 383-395, 1984.

MARSHALL, S.P. & VAN HORN, H.H. Complete rations for dairy cattle. II. Sugar cane bagasse pellets as roughage in blended rations for lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 58: 896-900, 1975.

MEHREZ, A.Z. & ORSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.*, 88: 645-650, 1977.

- MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.*, 38: 437-443, 1977.
- MELLO Jr., C.A. Efeitos do tratamento com pressão e vapor sobre a composição e a cinética da fermentação *in vitro* do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. L.). Piracicaba, 1987. 100p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- MONSON, W.G. & UTLEY, P.R. Effects of diet of fistulated steer on *in vitro* and *in vivo* nylon bag digestibility of forage-corn mixtures. *Agron. J.*, 66: 358-360, 1974.
- N.R.C. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. Sixth Revised Edition, Washington, D.C., 1984.
- OHLDE, G. & BECKER, K. Suitability of cell-wall constituents as predictors of organic matter digestibility in some tropical and subtropical by-products. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 7: 191-199, 1982.
- OJI, U.I. & MOWAT, D.N. Nutritive value of steam-treated corn stover. *Can. J. Anim. Sci.*, 58: 177-181, 1978.
- OJI, U.I. & MOWAT, D.N. Nutritive value of thermoammoniated and steam-treated maize stover. I. Intake, digestibility and nitrogen retention. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 4: 177-186, 1979a.

- OJI, U.I. & MOWAT, D.N. Nutritive value of thermoammoniated and steam-treated maize stover. II. Rumen metabolites and rate of passage. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 4: 187-197, 1979b.
- OLOLADE, B.G. & MOWAT, D.N. Influence of whole-plant barley reconstituted with sodium hydroxide on digestibility, rumen fluid and plasma metabolism of sheep. *J. Anim. Sci.*, 40: 351-357, 1975.
- ORSKOV, E.R.; DEB HOVELL, F.D.; MOULD, F. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. *Prod. Anim. Trop.*, 5: 213-233, 1980.
- PACOLLA, L. J.; RAZDOK, A.G.; LIMA, F.P. Aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar na engorda de bovinos confinados. *B. Industr. Anim.*, 34: 25-28, 1977.
- PATE, F.M. Value of treating bagasse with steam under pressure for cattle feed. *Trop. Agric.*, 59: 293-297, 1982.
- PATERSON, J.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; BRITTON, R.A. The digestibility of sodium hydroxide treated crop residues when fed with alfafa. *J. Anim. Sci.*, 47: 340-341, 1978.
- PRESTON, T.R. Sugar cane as the basis for intensive animal production in the tropics. In: CONFERENCE ON ANIMAL FEEDS OF TROPICAL AND SUBTROPICAL ORIGIN, London, 1974. *Proceedings*, London, Trop. Prod. Inst., 1975. p. 69-95.

- PRINS, R.A. & CLARKE, T.J. Microbial ecology of the rumen. In: RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P., ed. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980. p. 179-204.
- PURSER, D.B. & MOIR, R.J. Ruminal flora studies in the sheep. IX. The effects of pH on the ciliate population of the rumen *in vivo*. *Aust. J. Agr. Res.*, 10: 555-564, 1959.
- RANDEL, P.F. Dairy beef production from mixtures of sugarcane bagasse and concentrates. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 50: 237-246, 1966.
- RANGNEKAR, D.V.; BADVE, V.C.; KHARAT, S.T.; SOBALE, B.N.; JOSHI, A.L. Effect of high-pressure steam treatment on chemical composition and digestibility *in vitro* of roughages. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 7: 61-70, 1982.
- ROMAN-PONCE, H.; VAN HORN, H.H.; MARSHALL, S.P.; WILCOX, C.J.; RANDEL, P.F. Complete rations for dairy cattle. V. Interaction of sugarcane bagasse quantity and form with soybean meal, urea and starea. *J. Dairy Sci.*, 58: 1320-1327, 1975.
- SAS, Institute, Inc. 1986. *SAS User's guide: statistics*. ed. Cary, NC, 1986.
- SATTER, L.D. & SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *Br. J. Nutr.*, 32: 199-208, 1974.

- SHIROMA, S. The effects of treatment of bagasse with sodium hidroxide under steam pressure on chemical changes and digestibility. *Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus*, 21: 281-303, 1974.
- SILVA, J.F.C. & LEAO, M.I. *Fundamentos de nutrição de ruminantes*. Piracicaba, ed. Livrocere. 1979.
- SUTTON, J.D. Digestion and end-products formation in the rumen from production rations. In: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P., ed. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980. p.271-290.
- TAYLOR, J.D. & ESDALE, W.J. *Increased utilization of crop residues as animal feed through autohydrolysis*. Stake Technology Ltd., Ottawa, Canada. 1980.
- THEANDER, D. & AMAN, P. Anatomical and chemical characteristics. In: *SUNDSTOL, F. & OWEN, E., ed. Straw and other fibrous by-products as feed*. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1984. p. 45-78.
- TILLEY, J.M.A. & TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.*, 18: 104-111, 1963.
- TOPPS, J.H.; KAY, N.R.; GOODAL, E.D.; WHITELAW, F.G.; REID, R.S. Digestion of concentrate and of hay diets in the stomach and intestines of ruminants. 2. Young steers. *Br. J. Nutr.*, 22: 101-114, 1968.

- UDEN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 625-632, 1980.
- UMMUNA, N.N.; KLOPFENSTEIN, T.; BOLSEN, K.K. Response of lambs fed pressure treated corn cobs. *J. Anim. Sci.*, **35**: 277-278, 1972.
- VALDEZ, F.R.; HARRISON, J.H.; DEETS, D.A.; FRANSEN, S.C. *In vivo* digestibility of corn and sunflower intercropped as a silage crop. *J. Dairy Sci.*, **71**: 1860-1867, 1988.
- VAREL, V.H. & JUNG, H.G. Influence of forage phenolics on cellulolytic bacteria and *in vitro* cellulose degradation. *Can. J. Anim. Sci.*, **64**: 39-40, 1984.
- YARNS, D.A.; PUTNAM, P.A.; LEFFEL, E.C. Daily salivary secretion by beef steers. *J. Anim. Sci.*, **24**: 173-175, 1965.
- WALDO, D.R. & SMITH, L.W. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Dairy Sci.*, **55**: 125-129, 1972.
- WALKER, H.G. Physical treatment. In: SUNDSTOL, F. & OWEN, E., ed. *Straw and other fibrous by-products as feed*. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1984. p. 79-105.
- WELCH, J.G. & SMITH, A.M. Physical stimulation of rumination activity. *J. Anim. Sci.*, **33**: 1118-1123, 1971.
- WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.*, **43**: 1452-1459, 1960.