SUPLEMENTAÇÃO DE UREIA EM DIETAS DE BAGACO DE CANA
(*Saccharum* sp L) AUTO-HIDROLISADO PARA RUMINANTES

LUIZ ROBERTO DE OLIVAL COSTA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce

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
outubro - 1987

Aos meus pais Roberto e Vera
e irmãos Henrique e Luiz Fernando
dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof.Dr. Raul Dantas d'Arce pela orientação e estímulo na execução deste trabalho.

Ao Prof.Dr. Wilson Roberto Soares Mattos pelas sugestões, auxílio e oferecimento dos recursos necessários.

Ao Engº Agrº Celso do Amaral Mello Jr. pelo acompanhamento, colaboração e companheirismo durante toda execução deste trabalho.

Aos estagiários Fernando Basile de Castro e Bruno Melcher pelo auxílio na condução do experimento e amizade demonstrada durante este período.

Ao Prof.Dr. Paulo Fernando Machado pelas sugestões apresentadas.

Ao Prof.Dr. Raul Machado Neto pelo apoio e incentivo constantes.

Ao Prof.Dr. Celso Boin pelas sugestões e interesse demonstrado.

À auxiliar de laboratório Ana Maria Zani de Moura pela colaboração nas análises laboratoriais.

Ao funcionário Carlos Cezar Alves pela colaboração.

À Marcia Maria Beltrame Correia pelos serviços de datilografia.

Ao Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pelo consentimento na utilização das instalações.

Ao Departamento de Zoologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pelas facilidades concedidas.

À FAPESP pela concessão de bolsa de estudos.

Aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xiii
SUMMARY	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. A Utilização do Bagaço de Cana e Outros Resí- duos na Nutrição de Ruminantes	5
2.1.1. Polissacarídeos da parede celular	5
2.1.2. Tratamento a pressão e vapor e seu e- feito no valor nutritivo	10
2.2. Concentração de Amônia no Rúmen	20
2.2.1. Hidrólise proteolítica das bactérias do rúmen	23
2.2.2. Degradação de fontes de nitrogênio não protéico	28
2.2.3. Biossíntese de célula bacteriana utili- zando $N-NH_3$	31
2.2.4. Absorção de amônia pelo hospedeiro	36
2.2.5. Concentração ótima de amônia no rúmen .	40
2.3. Produção de Ácidos Graxos Voláteis no Rúmen ..	48

3. MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1. Animais e Instalações	53
3.2. Tratamentos e Delineamento Estatístico	53
3.3. Períodos Experimentais	56
3.4. Coleta de Fluido Ruminal para Determinação de Ácidos Graxos Voláteis (AGV) e N-Amoniacal ...	56
3.5. Coleta de Fezes e Urina	57
3.6. Análises Laboratoriais	58
3.7. Análise Estatística	59
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1. Consumo de Bagaço	61
4.2. pH do Fluido Ruminal	63
4.3. Concentração de Amônia Ruminal	68
4.4. Ácidos Graxos Voláteis do Fluido Ruminal	73
4.4.1. Ácido acético	73
4.4.2. Ácido propiônico	78
4.4.3. Ácido butírico	84
4.5. Digestibilidade da Matéria Seca das Dietas ...	90
4.6. Digestibilidade da Proteína Bruta das Dietas .	93
4.7. Digestibilidade da Fibra Detergente Ácida das Dietas	95
4.8. Digestibilidade da Fibra Detergente Neutra das Dietas	97

4.9. Balanço de Nitrogênio	99
5. CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Síntese de proteína no rúmen, adaptado de SATTER & ROFFLER (1974)	21
2 Relação entre (NH_3) ruminal e produção de ácido tungístico precipitado	44
3 pH do fluido ruminal de animais recebendo dietas com diferentes teores de proteína bruta	67
4 Concentração de amônia do fluido ruminal (mg/100 ml) de animais recebendo dietas com diferentes teores de proteína bruta	70
5 Porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal de animais recebendo dietas com diferentes teores de proteína bruta	77
6 Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 7,5% de PB	81
7 Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 9,0% de PB	82
8 Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 10,5% de PB	83

Figura

Página

9	Porcentual molar dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 7,5% de PB	87
10	Porcentual molar dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 9,0% de PB	88
11	Porcentual molar dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 10,5% de PB	89

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Relação entre solubilidade de nitrogênio (N), de- gradação <i>in vivo</i> de proteína e desaparecimento de nitrogênio (N) em sacolas de <i>nylon</i> de diver- sas dietas completas	25
2 Relação entre pH e as proporções entre as formas não ionizada e ionizada de amônia do plasma a 37°C	40
3 Eficiência na síntese de proteína do rúmen	42
4 Características estimadas da fermentação ruminal	50
5 Composição e análise química das dietas	54
6 Análise de variância dos dados de consumo de ma- téria seca de bagaço por animal e por dia	62
7 Consumo médio, em kg, de matéria seca de bagaço por animal e por dia	63
8 Análise de variância dos valores de pH do fluido ruminal	64
9 Valores de pH do fluido ruminal em função dos tratamentos e hora de coleta	66
10 Análise de variância dos dados de concentração de amônia do fluido ruminal	69

Tabela	Página
11 Concentração de amônia do fluido ruminal (mg/100 ml) em função dos tratamentos e hora de coleta	72
12 Quantidade (kg) de matéria original consumida por animal, ao longo do dia durante o período ..	73
13 Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal	74
14 Porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal em função dos tratamentos e da hora de coleta	76
15 Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido propiônico do fluido ruminal	79
16 Porcentual molar de ácido propiônico do fluido ruminal em função dos tratamentos e hora de coleta	80
17 Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido butírico do fluido ruminal	85
18 Análise de variância dos valores dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca	90
19 Coeficientes de digestibilidade (CD) da matéria seca das dietas em função dos períodos, animais e tratamentos	92

Tabela	Página
20 Análise de variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta	94
21 Coeficientes de digestibilidade (CD) da proteína bruta em função dos tratamentos	95
22 Análise da variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente <u>á</u> cida ...	96
23 Coeficientes de digestibilidade (CD) da fibra de <u>ter</u> gente <u>á</u> cida em função dos tratamentos	97
24 Análise da variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente neutra ..	98
25 Coeficientes de digestibilidade (CD) da fibra de <u>ter</u> gente neutra em função dos tratamentos	99
26 Análise de variância dos dados dos balanço <u>nitro</u> genado	100
27 Balanço nitrogenado, em g, e em função dos <u>tra</u> tamentos	100

SUPLEMENTAÇÃO DE UREIA EM DIETAS DE BAGACO DE CANA
(*Saccharum* sp L) AUTO-HIDROLISADO PARA RUMINANTES

Autor: Luiz Roberto de Olival Costa

Orientador: Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de uréia em dietas de bagaço de cana hidrolisado para ruminantes, seis vacas de raça Holandesa, providas de fístula ruminal permanente, receberam três dietas distintas: Dieta A) sem suplementação e com 7,5% de proteína bruta (PB) na matéria seca (MS); Dieta B) com 0,7% de uréia e com 9,0% de PB na MS e Dieta C) com 1,5% de uréia e 10,5% de PB na MS. O bagaço representou 75% da MS destas dietas, sendo os 25% restantes fornecidos na forma de levedura.

Os animais foram amostrados em três períodos, de forma que, reunidos em grupo de dois, todos os animais receberam todas as dietas. O material amostrado constituiu-se de:

1) Fluido ruminal, amostrado em intervalos de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 e 24 horas após o fornecimento da ração, para determinação de nitrogênio amoniacal, ácidos graxos voláteis (AGV) e pH; 2) Fezes totais, para determinação

da MS, PB, fibra detergente ácida (FDA) e fibra detergente neutra (FDN); 3) Urina total, para determinação de PB.

Os valores de concentração de amônia do fluido ruminal variaram significativamente ($P < 0,01$). Em decorrência disto o tratamento C só foi superior ($P < 0,05$) aos demais nas primeiras horas do dia. Variação semelhante ocorreu em relação, ao porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal, resultando também que o tratamento C só foi superior aos demais, 6 horas após o fornecimento da ração.

A suplementação de uréia resultou em elevação dos coeficientes de digestibilidade da MS (51,4; 51,8 e 56,4 respectivamente para os tratamentos A, B e C, com $A = B < C$ e $P < 0,01$) causada principalmente pelo aumento da digestibilidade da FDA (39,5; 42,0 e 48,2 respectivamente para os tratamentos A, B e C, com $A = B < C$ e $P < 0,01$).

De acordo com estes resultados pode-se concluir que a suplementação de uréia acima das exigências mínimas de manutenção, determinou um efeito benéfico na fermentação ruminal através de uma maior disponibilidade de amônia, o que elevou a digestibilidade da dieta. Este efeito poderia ser maximizado através de um fornecimento mais frequente da dieta, ou através de uma fonte menos solúvel de nitrogênio não protéico, que determinaria uma maior uniformidade na concentração de amônia ruminal.

UREA SUPPLEMENTATION OF STEAM-TREATED SUGAR CANE BAGASSE (*Saccharum* sp L) DIETS FOR RUMINANTS

Author: Luiz Roberto de Olival Costa

Adviser: Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce

SUMMARY

Six mature cows, fistulated in the rumen were used to evaluate the effects of urea supplementation of diet based on steam-pressure treated sugar cane bagasse.

The experimental design was a 3 x 3 latin square. Treatments consisted of three different diets: 1) Diet A, with 7.0% crude protein (CP) in the dry matter (DM) and no urea supplementation; 2) Diet B, with 9.0% CP in the DM and 0.7% urea supplementation; 3) Diet C, with 10.5% CP in the DM and 1.5% urea supplementation. In each diet the treated bagasse accounted for 75% of the DM and dry yeast for the remaining 25%.

Samples taken from each animal consisted of: 1) Rumen fluid, at 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 and 24 hours after feeding, for determination of ammonia-nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$), volatile fatty acids (VFA) and pH; 2) Total feces collection, for determination of DM, CP, acid detergent fiber (ADF) and neutral detergent fiber (NDF); 3) Total urine collection, for determination of CP.

Ammonia-nitrogen concentrations of rumen were significantly different along the day. Consequently, superiority of treatment C was significant only in the first hours of the day. A similar situation was observed in relation to the molar concentration of rumen fluid acetic acid, resulting that treatment C was superior to treatments A and B only at 6 hours after feeding.

Urea supplementation increased DM digestibility coefficients (51.4; 51.8 and 56.4 for treatments A, B and C, respectively, being $A = B < C$ at 1% probability level). This was due, primarily, to the increased digestibility of the ADF fraction (39.5; 42.0 and 48.2 for treatments A, B and C, respectively, being $A = B < C$, at 1% probability level).

It could be concluded that urea supplementation above the maintenance level caused a beneficial effect on rumen fermentation, through a greater availability of $\text{NH}_3\text{-N}$, what increased diet digestibility. This effect could be enhanced by way of more frequent feeding or the use of a less soluble source of nitrogen, what would determine a more uniform concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration in the rumen.

1. INTRODUÇÃO

A implantação do PROÁLCOL (Programa do Alcool), reflexo da escassez mundial de derivados de petróleo, determinou um acelerado crescimento no setor de produção da agroindústria do álcool. Como consequência, as produções de resíduos e subprodutos desta atividade tomaram dimensões também elevadas, despertando o interesse dos profissionais ligados a esta área para um provável aproveitamento deste material.

De acordo com PINTO (1983), o bagaço de cana é atualmente o maior resíduo da agroindústria brasileira. Apesar do bagaço, resultante da moagem da cana-de-açúcar, encontrar sua utilização nas usinas, onde é queimado em caldeiras para obtenção do vapor necessário ao sistema de produção, já no ano de 1980/81 seu volume de ocorrência era bastante alto (Ministério das Minas e Energia, 1981). As sobras acumuladas nos pátios das usinas e destilarias durante a safra de 1984 foram estimadas em cerca de sete milhões de toneladas (PINTO, 1983).

O bagaço, com 50% de umidade, representa 30% do peso da cana-de-açúcar. Como a produção de álcool de uma

destilaria autônoma é de 70 litros por tonelada de cana, despreende-se que a produção de cada litro de álcool corresponde a 4,29 kg de bagaço. Estimando-se que as modernas técnicas possibilitem a sobra de 50% do bagaço, como excedente ao consumido na fabricação do álcool, obtém-se que seriam possível dispor de 2,14 kg de bagaço a cada litro de álcool produzido (Ministério das Minas e Energia, 1981). A meta lançada pelo PROÁLCOOL foi de 10,7 bilhões de litros por ano, ou seja, quando este valor fosse atingido haveria uma produção de aproximadamente 23 milhões de toneladas de bagaço excedente por ano.

Por ser um material de valor calórico bastante razoável (2000 kcal/kg), o interesse no seu aproveitamento vem gerando vários estudos, nas mais variadas áreas de pesquisa, existindo inclusive a possibilidade do seu aproveitamento, após delignificação e despolimerização anaeróbica da celulose por fungos, numa posterior fermentação alcoólica (ZEGARRA, 1978).

A dificuldade no transporte do bagaço de cana, consequência da sua baixa densidade, aliada ao fato de que existem várias destilarias instaladas em regiões de pecuária extensiva, ou regiões que outrora comportavam esta atividade, condicionam o seu alto potencial de utilização como alimento para ruminantes. Associado ao fato de que sua disponibilidade ocorre justamente no período de entressafra de produção de forragens, fator determinante na obtenção de baixos índices de produtividade do setor pecuário, a utili-

zação do bagaço como componente da dieta de ruminantes pode vir a ser um fator importante para a melhoria da produtividade dos rebanhos nacionais.

Segundo vários autores (RANDEL, 1972; PACOLA *et alii*, 1977), no entanto, a utilização do bagaço só é possível após tratamento corretivo incrementando suas características nutritivas e eliminando as várias restrições que este material *in natura* determina ao desempenho animal, como consequência do seu baixo valor nutritivo. Nas nossas condições o tratamento mais indicado é o que utiliza pressão e vapor em razão da abundância destes insumos nas destilarias.

Embora superior nutricionalmente, o bagaço tratado ainda é pobre em teor protéico, resultado do eficiente processo de moagem das usinas, seguido da inutilização da pouca proteína existente, pela ação das reações de Maillard que ocorrem durante o tratamento sob pressão e vapor, devido às altas temperaturas utilizadas.

Por ser um alimento volumoso, constituído principalmente de parede celular, cuja utilização pelo ruminante depende de uma prévia degradação pelos microrganismos do rúmen, o bagaço de cana hidrolisado exige, em função da sua deficiência protéica, uma forte complementação deste nutriente que estabeleça uma relação equilibrada entre energia e proteína e possibilite um funcionamento normal do rúmen.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o e-

feito da suplementação de nitrogênio não protéico sob a forma de uréia, em dietas de bagaço de cana tratado a pressão e vapor.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A Utilização do Bagaço de Cana e Outros Resíduos na Nutrição de Ruminantes

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* constitui-se num alimento de baixo valor nutritivo, conseqüência de sua baixa digestibilidade, o que o torna um volumoso cuja participação em dietas de ruminantes seja restrita a 10 ou 15% da matéria seca (PACOLA *et alii*, 1977).

Por se tratar de um alimento constituído principalmente por frações fibrosas (polissacarídeos da parede celular) é preciso se conhecer um pouco de seus aspectos químicos para se compreender seu relacionamento com a nutrição animal.

2.1.1. Polissacarídios da parede celular

A parede celular das plantas é constituída por três tipos de polissacarídios estruturais: celulose, hemicelulose e pectina. Suas unidades formadoras são: glucose (celulose), galactose, arabinose, xilose, ácido galacturônico-

co (principais componentes da pectina), manose e ácido glucurônico (hemicelulose), cujas ligações glucosídicas predominantes são as do tipo $\beta(1-4)$, embora outras ocorram (THEANDER & AMAN, 1974).

As pectinas são um grupo de polissacarídeos a morfos que funcionam como cimento intracelular. Consistem de uma cadeia principal formada por unidades de ácido galacturônico, unidas por ligações $\alpha(1-4)$ e cujos açúcares mais comuns que compõem as cadeias laterais são a arabinose, a xilose e a galactose. Sua disponibilidade para os ruminantes é alta (VAN SOEST, 1983).

A celulose é a molécula mais abundante na natureza. Embora seja aparentemente simples, um polímero linear composto de unidades glucopiranosídicas unidas por ligações $\beta(1-4)$, torna-se complexa devido a sua estrutura tridimensional, com peso molecular acima de 10.000. A celulose ocorre largamente na natureza na forma cristalina, organizada como fibrilas, onde suas cadeias são firmemente unidas num complexo agregado circundado pela matriz dos constituintes das outras paredes celulares. As cadeias de glucose são mantidas unidas por pontes de hidrogênio, tanto entre as unidades de açúcar como entre as cadeias adjacentes. A conformação da celulose favorece a formação destas ligações e justifica sua resistência tanto para a degradação biológica como para a hidrólise ácida (THEANDER & AMAN, 1984).

Tratamentos mecânicos, como a moagem, deter-

minam uma maior superfície específica da celulose, tornando-a menos cristalina e reduzindo sua associação a componentes como sílica e lignina.

As xilanas (hemicelulose) de palhas de cereais e gramíneas têm geralmente um esqueleto de unidades xilopiranosídicas de ligações $\beta(1-4)$. Xilanas, extraídas de palhas de cevada e aveia, são heteroglicânicas com unidades arabinofuranosídicas únicas ligadas a algum átomo de carbono do esqueleto principal da xilana e ácido glucurônico e/ou suas ligações 4-0-etilmetílica de alguma unidade de xilose. O ácido urônico é ligado principalmente a átomos de carbono 2, embora existam evidências de presença de ligações 1-3 (THEANDER & AMAN, 1984).

O fato das unidades de arabinose geralmente aparecerem ligadas na forma furanosídica as torna muito sensíveis a hidrólise ácida.

O grau de polimerização da hemicelulose é muito menor (50-200 unidades) do que o encontrado na celulose, sendo que estas duas podem estar fortemente associadas devido às suas conformações semelhantes. A presença de unidades de açúcares laterais e substituídas, é um fato que pode prevenir uma estreita associação entre xilanas de hemiceluloses. Por este motivo e devido ao seu baixo peso molecular, as hemiceluloses podem ser extraídas por álcalis (THEANDER & AMAN, 1984).

A disponibilidade e conseqüentemente o valor nutricional da hemicelulose e da celulose dependem do seu grau de lignificação, assim como da presença de sílica e principalmente, no caso da celulose, das suas propriedades intrínsecas (VAN SOEST, 1983).

A lignina é um polímero de estrutura tridimensional, formado de unidades de fenilpropanóides. É de consenso geral que os álcoois p-coumaril, coniferol e sinapil são importantes precursores na biosíntese da lignina, via um complexo processo enzimático de dehidrogenação. No polímero, estes estão presentes como correspondentes elementos estruturais chamados p-hidroxidenil, guaiacil e seringil. A lignina é freqüentemente classificada de acordo com a distribuição destes três elementos (THEANDER & AMAN, 1984).

A lignina ocorre incrustada na parede celular e estabelece ligações covalentes com a hemicelulose e a celulose (parede primária e secundária), formando o chamado complexo ligno-carboidrato. Estudos de ERICKSON (1982), sugerem que a lignina é ligada a diferentes tipos de unidades de açúcar e a resíduos de ácido urônico da hemicelulose.

O mecanismo pelo qual a lignina prejudica a digestibilidade dos componentes da parede celular das plantas ainda não foi bem esclarecido. Segundo revisão feita por MATTOS (1985), existem três teorias mais utilizadas como justificativas:

1.. A lignina ocorre como uma barreira física, impedindo a colonização por parte das bactérias do rúmen. Trabalhos onde os autores pulverizaram amostras em moinho de bola mostraram aumento de digestibilidade *in vitro* da celulose, assim como melhor desempenho animal. Parece pouco provável que a utilização deste processo aumente a digestibilidade da hemicelulose ou celulose por si só. A digestão enzimática da celulose depende de sua superfície acessível às enzimas e do tamanho relativo dos poros de substrato e da molécula em questão. A moagem aumenta a superfície acessível, mas de maneira moderada, devido a relação comprimento/largura das fibrilas. A largura da parede das fibrilas é muito pequena quando comparada com o seu comprimento.

2. Inibição enzimática por compostos polifenólicos. Estudos a este respeito são ainda recentes e o número variado de informações existentes hoje dificulta a comprovação de alguma hipótese. Os compostos fenólicos podem, além de competir com as enzimas, precipitar proteínas indiscriminadamente ou reagir diretamente com o substrato. A dificuldade em se obter lignina intacta, na forma como ocorre na natureza, é um outro obstáculo.

3. Resistência a hidrólise enzimática por parte das ligações lignina-carboidratos. O que pode ser comprovado pelo aumento de digestibilidade após tratamento com álcali, que hidroliza este tipo de ligação. Outra evidência é a de que a lignina não está relacionada a taxa de digestão

dos polissacarídeos, mas sim com o resíduo indigestível em questão. Parece que as ligações lignina-carboidrato inibem as carboidrases até um limite de oito monômeros de açúcar distais a esta ligação.

2.1.2. Tratamento a pressão e vapor e seu efeito no valor nutritivo

Sendo o bagaço de cana constituído de 70 a 80% de carboidratos e sendo estes a principal fonte de energia dos ruminantes, é imprescindível que esta fração ocorra de forma disponível no bagaço para que possa ser utilizado como alimento.

O processo físico de processamento do bagaço através da pressão e vapor foi o que melhor se adaptou às nossas condições, por questões econômicas determinadas pela existência de excesso de vapor de água oriundo do sistema de caldeiras presente nas próprias usinas e destilarias.

Segundo MACHADO (1982) a tecnologia é baseada na ação hidrolítica do vapor a altas temperaturas que culmina com dois efeitos distintos:

1. Clivagem do grupo acetil de hemicelulose, promovendo um meio ácido com conseqüente hidrólise da hemicelulose e rompimento da estrutura da parede celular. É a denominada etapa da auto-hidrólise.

2. Abertura dos fragmentos de bagaço, devido

a repentina expansão de vapor causada pela rápida descompressão que ocorre no final do tratamento. A água contida nos poros do material vaporiza-se rapidamente, rompendo a estrutura fibrosa da parede celular. Esta etapa é denominada de descompressão rápida.

São características comuns deste processo:

1. Produção de ácido acético originário dos grupos acetil localizados na fração hemicelulose.

2. Produção de furfurais e derivados fenólicos, que ocorrem ligados a parede celular da planta, tanto com a fração lignina como com a cutina ou carboidratos.

3. Vários graus de destruição da fração hemicelulose.

4. Perda de matéria seca em função da lixiviação da água adicionada pelo vapor, numa proporção de 1 a 20%, dependendo das condições.

Dados publicados por KLOPENSTEIN & BOLSEN (1971) a respeito do efeito do tratamento sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de espiga de milho, restolho de milho e feno de cevada, são dados padrões de materiais que receberam este tipo de tratamento. A pressão de vapor variou de 7 a 28 kg/cm², com a duração constante de 50s. Embora os autores não tenham sido categóricos, sugerem que a DIVMS atinge um valor máximo e posteriormente declina com a persistência do tratamento. A espiga de milho e o feno de-

monstraram um aumento na DIVMS, quando a pressão variou de 10 a 21 kg/cm², enquanto que o restolho não demonstrou nenhum aumento após um incremento inicial de 7 kg/cm². Os autores sugerem que podem existir inibidores da digestão em materiais tratados drásticamente. Isso porque a digestibilidade *in vitro* e *in vivo* são as mesmas no tratamento com a pressão de 17,5 kg/cm², porém a digestibilidade *in vivo* do material tratado a pressão de 28 kg/cm² é mais de três pontos percentuais menor do que o valor obtido *in vitro*.

RANGNEKAR *et alii* (1982) estudaram o efeito da pressão e vapor em bagaço de cana, palha de arroz e palha de sorgo a baixas pressões (5,7 a 9,0 kg/cm²) e com tempos relativamente altos (30 a 60 min.). Os resultados são semelhantes aos obtidos a altas pressões. Para os três materiais a mudança química mais drástica ocorrida foi o decréscimo da fração hemicelulose a medida que aumentava a severidade do tratamento, além do aumento no teor de ácidos graxos voláteis (principalmente ácido acético). A DIVMS aumentou para todos os materiais em questão, porém houve um decréscimo na digestibilidade dos constituintes da parede celular quando submetidos ao tratamento mais severo. Da mesma forma, para todos os materiais houve diminuição nos teores de matéria seca nas diversas condições com maior intensidade nas condições de tratamento mais severo (9 kg/cm² por 60 min.), sendo de 20,8; 39,5 e 22,4% respectivamente para o bagaço, arroz e sorgo.

OJI & MOWAT (1978), investigaram o valor nutritivo de resto de cultura de milho tratado a uma pressão de $16,6 \text{ kg/cm}^2$ por 15 minutos. A análise química do material tratado demonstrou o decréscimo usual que ocorre com o pH, fibra detergente neutra (NDF) e hemicelulose e um aumento na fibra detergente ácida (ADF), nitrogênio do ADF, lignina e ácido acético. O aumento da fração lignina aparente foi atribuído a produção de "lignina artificial" proveniente da reação não enzimática de "caramelização". O reflexo disto é o aumento no teor de nitrogênio do ADF.

HART *et alii* (1981), publicaram um extenso estudo sobre tratamentos físicos de pressão e vapor, usando como substrato, palha de arroz e bagaço de cana. A pressão utilizada variou de 7 a $42,2 \text{ kg/cm}^2$, com os tempos de tratamento variando de 10 a 600s., dependendo da pressão utilizada. Os efeitos do processo foram medidos através de ensaios enzimáticos. Valores de solúveis totais após enzima (*Total Soluble After Enzima*, TSAE) representam a quantidade de material solubilizado pelo meio de cultura, mais a ação das carboidrases (comparável com a técnica de digestibilidade *in vitro*) e o valor da digestibilidade enzimática de carboidratos (EDC) representa o material solubilizado apenas pela ação enzimática das carboidrases. Os dados demonstram a típica relação inversa entre pressão utilizada e tempo de tratamento. O tempo necessário para se atingir um determinado valor de TSAE decresce rapidamente com o aumento da pressão.

O principal efeito do tratamento foi o de aumentar a solubilidade em água de alguns componentes da palha e não o de aumentar a digestibilidade de carboidratos, uma vez que o valor do EDC permaneceu constante. A níveis de alta pressão, a adição de água tende a evitar o decréscimo do valor do TSAE, quando comparada a amostras secas. As amostras de arroz, que inicialmente possuíam teores de compostos fenólicos de 0,43%, após o tratamento atingiram 0,73% (tratadas a 7,0 kg/cm durante 10 minutos) e 2,28% (tratadas a 42,2 kg/cm durante 30 segundos).

Mais recentemente, BURGI (1985) conduziu experimento com o objetivo de padronizar as condições de pressão e tempo de tratamento que determinasse os resultados ótimos na digestibilidade do bagaço. O autor trabalhou com 24 tratamentos com diferentes combinações de pressão e tempo de duração, com a pressão variando de 8 a 19 kgf/cm² e o tempo de 2 a 14 minutos.

O tratamento estabelecido como o mais adequado foi o que utilizou 17 kgf/cm² durante 5 minutos e que determinou uma DIVMS de 64,8%, com um incremento de 30 pontos percentuais sobre a amostra do bagaço *in natura*.

Visualizada a possibilidade de utilização do bagaço de cana hidrolisado, assim como de outros subprodutos na dieta de ruminantes, trabalhos foram realizados com animais e forneceram dados de desempenho.

HARRIS *et alii* (1983) conduziram vários expe-

rimentos, onde compararam a utilização de silagem de cana, bagaço de cana tratado com soda, bagaço de cana tratado a alta pressão, silagem de milho e casca de semente de algodão, como volumosos para vacas em lactação.

Num primeiro experimento, onde foram utilizadas 34 vacas em início de lactação, foram comparadas a utilização de silagem de milho, casca de semente de algodão, silagem de cana-de-açúcar e bagaço de cana-de-açúcar tratado com 5% de NaOH e ensilado com melaço. As forragens representaram aproximadamente 30% da dieta em base da matéria seca.

Em termos de produção diária de leite e gordura e ganho de peso diário, o bagaço tratado e ensilado foi o que apresentou piores resultados. Esses resultados são consequência muito provável do mais baixo consumo diário obtido com este volumoso (16,4 kg/dia contra por exemplo 23,0 kg/dia para casca de semente de algodão). Já um segundo experimento confrontando-se dietas com silagem de milho, casca de semente de algodão e bagaço de cana tratado a alta pressão, este último foi superior para produção diária de leite e gordura, juntamente com a casca de semente de algodão, quando comparados com a silagem de milho.

Os valores para produção diária de leite e gordura foram 23,2; 27,7 e 28,1 e 0,75; 1,08 e 0,90 kg/dia, respectivamente para cada tratamento.

Num terceiro e último experimento, este, uma continuação de segundo porém com o acréscimo de mais dois tratamentos, bagaço tratado a alta pressão e peletizado e bagaço tratado a alta pressão e ligeiramente umidecido (menos 3,1 pontos percentuais no teor de matéria seca em relação ao anterior) observou-se que o bagaço peletizado não apresenta a mesma capacidade de manutenção na produção de leite, quando comparado com silagem de milho. O mesmo não é verdade para o bagaço tratado e umidecido, que determinou valores de produção diária de leite semelhante aos obtidos pela silagem de milho. Segundo os autores o bagaço peletizado apresentou vários problemas de qualidade e conteúdo de umidade quando processado. Outro problema observado foi na homogeneidade do pelete, o que causou variação no consumo.

RANDEL & RAMIRES (1972) também avaliaram a capacidade do bagaço de cana em sustentar níveis de produção de leite. Três dietas foram comparadas, uma com bagaço não tratado, outra com bagaço tratado com soda (solução de 2%), estes dois perfazendo 40% da matéria seca da ração, e uma terceira com animais pastejando aleatoriamente *Panicum maximum*, *Brachiaria mutua* e *Andropogon annulatos* e sendo suplementados com concentrado (0,225 kg por kg de leite produzido no período de disponibilidade abundante de forragens e 0,45 kg por kg de leite produzido em período de escassez). A produção média de 300 dias obtida de 14 animais por tratamento foi de 3.739, 5.158 e 4.917 kg com uma produção média

diária de 12,5; 17,2 e 16,5 kg respectivamente para bagaço não tratado, bagaço tratado e pastejo. A superioridade do tratamento com bagaço tratado em relação ao controle não foi significativa.

LESOING *et alii* (1980a) avaliaram o desempenho de carneiros em crescimento recebendo dietas de palha de trigo. A palha de trigo tratada com diversas soluções de NaOH e Ca(OH)_2 , onde a proporção entre estes variavam (sem solução, 1:3%; 3:1%; 3:2%; 4:1% e 4:0%) foi utilizada em ensaios de digestibilidade *in vitro* e *in vivo* além dos ensaios de desempenho. De acordo com os autores o desempenho tendeu a melhorar com o aumento de NaOH no tratamento. Os animais recebendo palha tratada com 4% de NaOH apresentaram ganho de peso superior, 157 e 151 g/dia para 4:0% e 4:1% respectivamente quando comparada com os outros tratamentos -19; 102, 126 e 137 respectivamente para 0:0%; 1:3% e 3:1%. Os dados de digestibilidade *in vitro* durante 48 horas e *in vivo* obtidos foram 35,7; 58,3; 73,6; 79,4; 80,6 e 77,2 e 47,73; 53,98; 55,99; 58,87; 61,05 e 62,92 respectivamente para os tratamentos 0:0; 1:3; 3:2; 4:1 e 4:0.

Valores um pouco mais elevados foram obtidos por CAMPBELL *et alii* (1973) que trabalharam com bagaço de cana tratado a uma pressão de $27,5 \text{ kgf/cm}^2$ durante 45 segundos. O bagaço foi fornecido numa relação de 40% da matéria seca de rações completas para carneiro. Os coeficientes de digestibilidade de três tratamentos com bagaço *in natura*, o ba-

gaço tratado e bagaço peletizado foram respectivamente 61,4; 78,0 e 67,5%.

LESOING *et alii* (1980b) também estudaram a utilização de sub produtos, no caso palha de trigo tratada com soda, na dieta de animais em crescimento. A palha de trigo *in natura* e tratada com 4% de NaOH participaram como 30 ou 60% da composição de quatro tratamentos cujo restante da matéria seca era fornecida na forma de silagem. Somente silagem foi usada como tratamento controle. Os autores observaram que a medida que o nível de palha aumentava na ração, diminuía a média de ganho de peso diário. O tratamento controle determinou um ganho diário de 0,92 kg, decaindo para 0,73 kg com o acréscimo de 30% de palha e para 0,52 kg com 60% de palha compondo a ração. O tratamento químico tende a incrementar o desempenho de animais recebendo dietas com palha, porém a sua utilização não determinou os mesmos níveis de ganho obtidos com a silagem (0,81 e 0,65 respectivamente para 30 e 60% de palha tratada).

PATE (1982) também trabalhou com bovinos e conduziu ensaios de digestibilidade e de desempenho com animais recebendo dietas a base de bagaço de cana hidrolisado. No primeiro, o bagaço tratado foi comparado com o bagaço *in natura* e estes corresponderam a 56% da matéria seca da dieta. Os coeficientes de digestibilidade da matéria seca das dietas completas foram 60,7 e 65,8% respectivamente. No segundo experimento de desempenho o bagaço tratado foi utili-

zado em quatro níveis 0; 14; 33 e 46% da matéria seca e determinou um ganho de peso de 1,10; 1,23; 1,40 e 0,88 kg por cabeça por dia respectivamente.

Embora trabalhando com dietas cuja participação do bagaço foi aproximadamente semelhante (tratamentos variando de 40 a 60%), BURGI (1985) obteve resultados de ganho de peso diário um pouco inferiores a estes apresentados por PATE (1982). Utilizando rações completas com 70% de volumoso e 30% de concentrado na matéria seca, cuja participação do bagaço hidrolisado variava de 40, 50 e 60%, animais confinados durante 84 dias obtiveram ganho de peso médio de 981, 937 e 1.160 gramas respectivamente em função do teor de bagaço na dieta apresentada. As rações à base de bagaço de cana hidrolisado apresentaram um ganho significativamente superior a ração controle que apresentava 60% de bagaço *in natura* na sua constituição.

Assumindo a possibilidade da utilização de dietas de subprodutos para ruminantes é preciso se considerar que estes materiais são particularmente pobres em nitrogênio (CHESSON & ORSKOV, 1985).

Segundo BURGI (1985) a indústria sucro-alcooleira objetiva, através do processo da moagem da cana de açúcar, máxima extração do conteúdo celular, o que determina a retirada da quase totalidade dos componentes solúveis, entre eles a proteína.

De acordo com análises bromatológicas realizadas por vários autores (SHIMABOKURA *et alii*, 1963; RANDEL, 1972; KLOPFENSTEIN, 1978; RANONEKAR, 1982; PATE, 1982) o teor de proteína bruta no bagaço de cana hidrolisado não ultrapassa a 3%, sendo que este nitrogênio se encontra na forma não disponível ao animal (N na fração ADF) devido ao efeito das reações de Maillard que ocorrem como consequência das altas temperaturas determinadas pelo tratamento deste animal.

2.2. Concentração de Amônia no Rúmen

A concentração de amônia ruminal (NH_3) se modifica com o regime alimentar e é regulada por diferentes vias metabólicas: a) Hidrólise proteolítica da proteína dietética; b) Hidrólise proteolítica de células microbianas; c) Degradação de fontes de nitrogênio não protéico (NNP); d) Biossíntese de célula microbiana; e) Absorção pelo sangue e f) Transferência para o trato digestivo posterior (BONDI, 1981).

SATTER & ROFFLER (1977) esquematizaram didaticamente a participação de cada uma destas vias no *pool* de amônia do conteúdo ruminal (Figura 1).

Figura 1. Síntese de proteína em rúmen, adaptado de SATTER & ROFFLER (1974).

A proteína verdadeira ingerida tanto pode ser degradada pelos microrganismo como pode escapar a esta degradação e passar diretamente para o trato digestivo posterior para ser degradada ou excretada na fezes. A quantidade degradada no rúmen e a quantidade que escapa a esta degradação variam consideravelmente. Em condições normais ou padrões de manejo e alimentação pode-se assumir que 40% da proteína dietética escapa a hidrólise do rúmen (ROFFLER & SATTER, 1977).

O nitrogênio não protéico da dieta, o nitrogênio da saliva e uma pequena quantidade de uréia reciclada através do epitélio ruminal são quase que totalmente convertidos a amônia.

A quantidade de amônia que pode ser utilizada pelos microrganismos irá depender do número ou da quantidade existente de bactérias e o quão rápido elas possam crescer. Em outras palavras a quantidade utilizada de amônia irá depender da quantidade de energia disponível ou da quantidade de alimento fermentável consumido (ROFFLER & SATTER, 1977).

Na maioria dos casos as bactérias não são capazes de utilizar toda a amônia produzida. A amônia em excesso é absorvida pela mucosa da parede ruminal ou transportada em conjunto com a digesta para o trato digestivo posterior, onde é absorvida ou convertida a uréia pelo fígado. Uma fração desta uréia pode ser reciclada ao rúmen (mecanis-

mo importante quando predominam condições de deficiência de nitrogênio), mas preferencialmente é excretada via urina.

2.2.1. Hidrólise proteolítica das bactérias do rúmen

Dos processos que determinam o aparecimento de amônia no rúmen, quantitativamente, o mais importante é a degradação de proteína (BONDI, 1981). Tanto bactérias como protozoários apresentam elevada atividade proteolítica. O pico da concentração ruminal de amônia ocorre aproximadamente duas horas após a ingestão (CLARK, 1982).

A degradação de proteína no rúmen pode ocorrer numa extensão que varia de 0 a 100%. Esta variação está relacionada com as condições de alimentação do experimento, o que pode determinar diferenças dentro de uma mesma fonte protéica, e com uma gama de fatores relacionados à população microbiana e às propriedades da proteína (OWENS & BERGEN, 1983).

Como ocorre para qualquer fração alimentar, a degradação de proteína é influenciada pelo seu tempo de permanência no rúmen, que em conjunto com a sua taxa de degradação, irá determinar seu coeficiente de digestibilidade (ALPERS, 1986).

Das propriedades da proteína, a solubilidade, medida normalmente em saliva artificial e a temperatura cor-

poral, é o índice de degradabilidade mais utilizado. A solubilidade das proteínas de um alimento é ditada por um lado pela quantidade relativa de albuminas e globulinas solúveis e por outro lado, pela quantidade relativa de proteínas menos solúveis, prolaminas e glutaminas (TAMMINGA, 1979). De uma maneira geral os compostos mais solúveis são atacados mais rapidamente e degradados mais completamente no rúmen do que compostos insolúveis. Isso se deve em parte ao acesso mais fácil por parte dos microrganismos (OWENS & BERGEN, 1983).

Recentemente, no entanto, começou-se a questionar o valor da relação entre solubilidade e degradabilidade. Algumas proteínas embora solúveis, são resistentes a proteólise *in vitro* (OWENS & BERGEN, 1983).

STERN & SATTER (1979) avaliaram a relação entre desaparecimento de nitrogênio e degradabilidade *in vivo* de 34 rações contendo diferentes fontes de N (Tabela 1). Os autores determinaram que a solubilidade é altamente correlacionada ($r = 0,79$), nas primeiras horas de exposição no rúmen, com o desaparecimento de N em sacolas de *nylon* e que a medida que o tempo de exposição aumentava a correlação progressivamente decrescia (por exemplo após 24 horas $r = 0,33$). Em contrapartida, a relação entre degradabilidade *in vivo* e o desaparecimento de N nas sacolas de *nylon* não é significativo antes de 12 horas de exposição e atinge o seu valor máximo após 24 horas, quando determinado em um período de 24 ho-

ras ($r = 0,68$). Os autores finalizam calculando a correlação entre solubilidade de N e degradabilidade de N *in vivo*, com $r = 0,26$, e concluindo que a solubilidade não é um bom indicativo do índice de degradação da proteína no rúmen.

Tabela 1. Relação entre solubilidade de nitrogênio (N), degradação *in vivo* de proteína e desaparecimento de nitrogênio (N) em sacolas de *nylon* de diversas dietas completas.

Tempo de exposição	Solubilidade de N (y) e desaparecimento de N (x)	Degradabilidade da proteína (y) e desaparecimento de N (x)
(h)	(r)	(r)
1	79**	08
4	74**	16
8	65**	29
12	47**	56**
17	41*	55**
24	33*	68**

Fonte: STERN & SATTER (1985).

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

Segundo TAMMINGA (1979) os mecanismos dos quais bactérias e protozoários se utilizam para degradar proteínas diferem significativamente. No caso das bactérias, as cadeias protéicas são quebradas em pequenas frações, através da hidrólise de algumas ou todas as ligações peptídicas. Este processo tem lugar no exterior da célula. Os peptídeos e aminoácidos resultantes são então transportados para o interior da célula e os primeiros hidrolisados até aminoácidos. Estes, por sua vez, ou são incorporados às proteínas bacterianas ou são degradados a ácidos graxos voláteis (AGV), amônia (NH_3), dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e algum calor de fermentação. Os produtos finais da degradação são devolvidos ao meio externo. Ao contrário do que ocorre com as bactérias, os mecanismos referentes aos protozoários não são muito bem documentados. Os protozoários são capazes de engolfar pequenas partículas de alimentos, assim como bactérias, e a atividade proteolítica ocorre no interior da célula. Os aminoácidos em excesso, ao invés de serem degradados como ocorre no interior das bactérias, são preferencialmente eliminados no meio externo.

As principais reações de degradação de aminoácidos são as reações de deaminação, transaminação e descarboxilação (BALDWIN, 1983). A mais freqüente e, conseqüentemente, a mais importante é a deaminação de aminoácidos

seguida da descarboxilação do cetoácido resultante (BALDWIN, 1983). A deaminação, por ser facilmente reversível, pode em conjunto com a reação de transaminação exercer papel anabólico, contrariamente ao que ocorre com a reação de descarboxilação que, a não ser pela formação de amidas, tem função estritamente catabólica (CONN & STUMPF, 1975). A reação de descarboxilação determina a produção de 1 ATP, o que não ocorre para as outras reações cuja a produção de energia é incerta ou ausente.

A necessidade de precursores (amônia e esqueleto carbônico) para a síntese de suas próprias proteínas é a principal razão pela qual as bactérias degradam os aminoácidos até amônia. Acontece que não é pouco freqüente que esta degradação ocorra em níveis superiores a quantidade demandada. Existem duas justificativas para este fato. A primeira é a de que a degradação de aminoácidos em excesso pode gerar energia que pode ser utilizada pelos microrganismos nos seus processos de síntese. A segunda é a de que não existe um mecanismo adequado para eliminar do citoplasma estes aminoácidos, tornando obrigatória sua degradação a outros compostos (TAMMINGA, 1979).

Segundo YOKOIAMA & JOHNSON (s.d.) *Bacteroides ruminicola*, *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium* e algumas *Butyrivibrios* spp eliminam no meio a amônia produzida pela deaminação de aminoácidos.

2.2.2. Degradação de fontes de nitrogênio não proteico

O estudo do metabolismo de compostos nitrogenados não protéicos no rúmen aumentou em importância a partir do momento em que os mesmos começaram a ser utilizados mais freqüentemente nas dietas de ruminantes. Independentemente disto porém, este processo deve ser ressaltado pelo fato daqueles compostos também participarem da composição de alimentos convencionais. Ácidos nucleicos, amidas, purinas e pirimidinas são os mais comuns e podem representar 30% do nitrogênio de uma forragem. A uréia é dentro desta classe de compostos o mais estudado, não só por ser a principal forma de suplementação nas dietas, mas também por ser a forma pela qual quantidades endógenas de nitrogênio podem ser recicladas no rúmen.

PEARSON & SMITH, já no ano de 1943, detectaram a atividade ureolítica do fluido ruminal. Com a adição experimental de uréia ao conteúdo ruminal, tanto *in vitro* como *in vivo*, os autores constataram que a sua concentração caía rapidamente até o momento em que não era mais detectada.

Os primeiros estudos *in vitro* foram realizados por aqueles mesmos autores dentro de uma série de experimentos exploratórios sobre o assunto. Através da incubação do conteúdo ruminal de carneiros, acrescido ou não de

uréia, observou-se que 100 ml deste era capaz de, em apenas uma hora, transformar completamente em amônia e dióxido de carbono 100 mg de uréia.

Pelo fato da dieta utilizada para a coleta da amostra apresentar apenas quantidades insignificantes de atividade ureolítica e devido a ausência de secreção de urease pela mucosa do epitélio ruminal e pela saliva do animal, PEARSON & SMITH (1943) concluíram que a urease do rúmen era elaborada pelos microrganismos. Outra informação tirada deste estudo é a de que a atividade ureolítica do rúmen não é afetada por grandes quantidades de uréia.

Taxas elevadas de atividade ureolítica também foram determinadas por BLOMFELD *et alii* (1960) utilizando alíquotas de conteúdo ruminal, amostradas de carneiros e incubadas com uréia. Os autores determinaram para 100 ml de conteúdo uma taxa de degradação de 80 mg em uma hora. Segundo estes mesmos autores a taxa de degradação chega a ser quatro vezes superior a taxa de aproveitamento da amônia pelos microrganismos.

Em revisão feita por JONES (1967) o autor selecionou trabalhos que concordam com os dados de PEARSON & SMITH (1943) e BLOOMFIELD (1960).

Pouco se sabe a respeito dos organismos responsáveis pela atividade ureolítica do rúmen (HELMER & BARTLEY, 1971).

Segundo HUNGATE (1966) vários investigadores (GIBSONS & McCARTHY, 1957; GIBSONS & DOETSH, 1959; SOSNOVSKAJA, 1959; CARROL, 1960) falharam em identificar um tipo especial de bactéria particularmente ativa neste processo e responsável pela hidrólise da uréia adicionado ao conteúdo do rúmen. Entretanto, de acordo com JONES (1969) o que levou o autor a este tipo de conclusão foi o fato de que a maioria das bactérias do rúmen descritas como ureolíticas, foram isoladas como resultado de um interesse na variabilidade de reações que ocorrem neste local e que suas habilidades em produzir urease foram utilizadas unicamente como critério taxonômico.

Ainda segundo JONES (1969) existem evidências de que bactérias anaeróbicas facultativas não podem ser responsáveis pela atividade ureolítica do rúmen. Estas evidências foram apresentadas em trabalhos realizados por HUHTANEN & GALL (1955) e GIBBONS & McCARTHY (1957), onde os autores sugerem que uma suspensão de *Proteus mirabilis*, uma bactéria anaeróbica facultativa não habitante do rúmen e com elevada atividade ureolítica, necessita de uma concentração de células superior a 2×10^9 células por ml para atingir atividade semelhante a encontrada no rúmen.

Contrariando HUNGATE (1966), JONES (1969) afirma que são poucas as bactérias extremamente anaeróbicas, capazes de produzir urease.

De acordo com YOKOYAMA & JOHNSON (1985) as

bactérias ureolíticas representam 5% das bactérias isoladas do rúmen e entre elas estão incluídas *Succinivibrio dextrinosolvers*, certas linhagens de *Selenomonas*, *Bacteroides ruminicola*, *Ruminococcus bromi*, *Butirivibrio*, *Treponema* e *Bifido bacterium*.

2.2.3. Biossíntese de célula bacteriana utilizando $N-NH_3$

O papel central da amônia como elemento intermediário no rúmen e como o principal nutriente nitrogenado para a população microbiana, já é há bastante tempo reconhecido (ALLISON, 1982).

BURROUGHS *et alii* (1951), trabalhando com culturas mistas de bactérias do rúmen, demonstraram que a digestão da celulose ocorre na presença de amônia e uréia, como únicas fontes de nitrogênio. Os pesquisadores demonstraram que a digestão da celulose é incrementada na presença de proteínas e que o incremento é ainda maior se a fonte de nitrogênio ocorrer através da amônia ou uréia.

BRYANT & ROBINSON (1962), investigando as características nutricionais de 35 bactérias predominantes do rúmen, isolados do conteúdo de vacas alimentadas com uma dieta à base de alfafa e grãos, determinaram que: a) 56% das colônias isoladas cresciam tanto na presença de amônia como

na presença de caseína hidrolisada; b) a amônia era essencial para o crescimento de 25% dos isolados e c) apenas 6% dos isolados exigiam caseína hidrolisada para o seu crescimento.

Resultados semelhantes foram obtidos mais recentemente (BRYANT, 1973; HESPELL & BRYANT, 1979), confirmando que poucas linhagens de bactérias exigem proteínas ou proteínas hidrolisadas para crescimento, mas que a maioria destas utilizam amônia como fonte de nutrientes mesmo na presença de nutriente orgânico.

Um rápido abaixamento na concentração de aminoácidos, tanto no rúmen como em culturas mistas de bactérias do rúmen, foi relatado por CHALUPA (1976). Este desaparecimento pode ser devido à preensão por microrganismos ou devido a absorção pelo rúmen. Segundo CLARK (1982) e concordando com McDONALD (1952) no entanto, a via de maior perda de aminoácido no fluido ruminal é causada pela reação de deaminação a amônia e esqueleto carbônico, o que reafirma a importância da amônia como intermediário no metabolismo de N do rúmen.

McDONALD (1952), infundiu caseína e zeína no rúmen de carneiros e determinou que no caso da caseína houve um rápido acúmulo na concentração de amônia do fluido animal, sendo que o mesmo não ocorreu para a zeína. O autor concluiu que proteínas solúveis são rapidamente degradáveis

a amônia, e a razão para tal é a de que esta deve ser usada na síntese de proteína microbiana.

A utilização de amônia como fonte de nutrientes é particularmente importante no caso de bactérias celulolíticas. Segundo PITTMAN *et alii* (1967) as bactérias celulosíticas apresentam o mecanismo de absorção total ou parcialmente ineficiente para aminoácidos. É o que foi demonstrado através de observações com *Bacteroides ruminicola*, que não apresentou capacidade de incorporação de carbono marcado (^{14}C) oriundo de prolina e ácido glutâmico, e apresentou muito baixa preensão de ^{14}C de valina.

Estes resultados concordam com os encontrados por WRIGHT (1967), que através de observações com culturas mistas, determinou que peptídeos com ^{14}C eram incorporados mais eficientemente na proteína microbiana do que ^{14}C de aminoácidos e que os aminoácidos marcados eram mais eficientemente convertidos a CO_2 e ácidos graxos voláteis.

Também PORTUGAL & SUTHERLAND (1966) investigaram a eficiência da incorporação de aminoácidos na proteína microbiana, através do metabolismo animal dos ácidos glutâmico e aspártico e determinaram que esta é bastante baixa. Os autores acharam apenas 17% de ^{14}C de glutanato incorporado e 8% no caso do aspartato.

Com excessão de algumas linhagens de *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Megasphaera aldenii* e *Lactobacillus* sp,

representando 6% das linhagens isoladas do rúmen, os aminoácidos não são essenciais ou fatores de estimulação para o crescimento.

PITTMAN *et alii* (1967), trabalhando com linhagem de *Bacteroides ruminicola* observaram que peptídeos exógenos com carbono marcado atingiram o interior da célula e que o mesmo não ocorria com aminoácidos. Observou-se também que estes peptídeos não representavam nenhum fator de crescimento, como vitaminas ou algum hormônio, mas única e exclusivamente uma fonte de aminoácidos, o que levou os autores a lançarem a hipótese de que o que impede a utilização de aminoácidos por esta bactéria, está relacionado com a natureza seletiva da membrana celular.

Embora não se conheçam com precisão os mecanismos de transporte de aminoácidos através das membranas, acredita-se que normalmente ele ocorra contra um gradiente ou de concentração ou eletroquímico, exiba saturação cinética e seja dependente de energia (BERGEN, 1978). Como pode ser observado através do trabalho de PITTMAN (1967), os peptídeos parecem ser absorvidos por sistemas distintos daqueles mediante os quais os aminoácidos são transportados. Os autores mostraram, por exemplo, que o transporte de alguns dipeptídeos pode ocorrer em grandes vias de extensão e que o mesmo não ocorre com os constituintes aminoácidos. Em adição, foi mostrado que a utilização de alguns aminoácidos pode ser reduzida devido a competição deste com um outro ami-

noácido que seja absorvido pelo mesmo sistema de transporte e que o mesmo não ocorreria com os peptídeos. Este seria um dos motivos da preferência dada pelas bactérias à utilização de peptídeos ao invés de aminoácidos.

Megasphaera elsdevii, uma das bactérias que requerem aminoácidos especificamente, pode tornar-se independente dessa exigência durante manipulações laboratoriais. Segundo ALLISON (1982) isso não ocorre no rúmen devido a ausência de uma forte pressão seletiva, causada pela liberação de aminoácidos por algumas bactérias.

SMITH (1979) elaborou um experimento para determinar a forma pela qual a amônia ruminal era incorporada à célula microbiana. Novilhas fistuladas, alimentadas a base de palha tapioca, foram suplementadas em vários níveis com farinha de amendoim e uréia. Durante o período de coleta uma fração da uréia das rações foi substituída por uréia radioativa (^{15}N) e fornecida diretamente no rúmen. Amostras do conteúdo ruminal foram feitas anteriormente a infusão e posteriormente em vários intervalos. Foram feitas determinações de amônia, aminoácidos e hexosaminas.

Através do cronograma de amostragens observou-se o seguinte:

- 1) A dose de uréia com ^{15}N foi convertida a amônia num período de uma hora; 2) A partir deste momento a concentração de amônia do rúmen permaneceu constante e o ^{15}N

foi incorporado ao N bacteriano; 3) A taxa inicial de incorporação ^{15}N ao N amida das bactérias foi muito maior (de 2 a 20 vezes) do que para outros compostos nitrogenados da bactéria que foram analisados; 4) Os compostos não amidas restantes diferiram entre si na taxa de extensão em que foram incorporados.

De acordo com o autor, através destas informações, pode-se afirmar que o padrão de incorporação de N segue o seguinte esquema: muito da amônia que atinge a célula é inicialmente capturada na forma dos grupos amidas da glutamina e asparagina. Esses grupos são utilizados para subsequente aminação de α -cetoglutamato a glutamato, tanto por liberação de amônia como por incorporação direta. Seguem-se sínteses de alanina e aspartato e estes conjuntamente com o ácido glutâmico provavelmente se acumulam na forma livre. Os amino grupos são então transferidos para outros esqueletos carbônicos, na formação de aminoácidos, que, por sua vez, junto com outros compostos préformados, são utilizados na síntese de proteínas e ácidos nucleicos.

2.2.4. Absorção de amônia pelo hospedeiro

A amônia ruminal produzida em quantidades que superam a capacidade de assimilação dos microrganismos é absorvida pela mucosa ruminal, levada ao fígado e convertida a uréia.

Parte da amônia livre presente no rúmen é absorvida diretamente através do epitélio ruminal para a corrente sangüínea o restante, e na maioria dos casos a maior parte dela, passa juntamente com a dieta para o trato digestivo posterior, onde é finalmente absorvida através do epitélio intestinal (BONDI, 1981).

BLOONFIELD (1960) determinou que a diminuição na concentração de amônia, de alíquotas de conteúdo ruminal incubado *in vitro* com uréia, ocorria numa taxa constante de $30,54 \pm 9,2\%$ dentro de uma variada gama de valores de concentração de amônia. Ainda, segundo o autor, esta taxa poderia não ser atribuída a preensão de amônia pelos microrganismos, baseando-se no fato de que os animais teriam sua concentração de nitrogênio amoniaco na circulação acrescida após um período de 60 min após a infusão arterial de uréia.

Segundo HELMER & BARTLEY (1971), o maior problema na utilização eficiente da uréia é a sua rápida liberação de amônia, determinada por BLOONFIELD (1964) como quatro vezes mais rápida que a capacidade de preensão pelos microrganismos. Nestas circunstâncias ocorreria uma eventual perda de N utilizável para a síntese microbiana. A absorção de amônia pelo epitélio ruminal, como uma das formas de eliminação do N do rúmen, contribuiria para esta perda. Segundo revisão feita pelos mesmos autores, as quantidades de N absorvido pelo rúmen podem variar desde 5 até 24 g por dia.

As quantidades e a forma na qual a amônia (NH_3) é

absorvida pelo rúmen dependem em grande parte das suas propriedades químicas. A amônia em solução ocorre nas suas duas formas, a ionizada (NH_4^+) e a não ionizada (NH_3). Estas estão em equilíbrio cujas concentrações dependem do pH e da temperatura (Tabela 2). Pequenas variações acima do pH 7 determinam grandes variações nestas concentrações. No que diz respeito ao transporte através das membranas, este ocorre na presença de um gradiente de pH e no sentido do maior para o menor. No rúmen o transporte se dá para o exterior devido a alta permeabilidade da membrana celular e o rápido equilíbrio que é estabelecido entre as formas NH_3 e NH_4^+ em função das condições de temperatura e pH.

No rúmen, provavelmente, a absorção ocorra de forma passiva, em função de uma menor concentração fisiológica de NH_3 existente na circulação.

Em função da pequena proporção da forma não ionizada no rúmen, era de se esperar que a quantidade de amônia absorvida pela parede ruminal fosse baixa, mesmo quando a concentração total no rúmen fosse elevada. Normalmente isto não chega a acontecer por dois motivos: 1) Toda amônia na forma não ionizada é repostada rapidamente através do rápido equilíbrio que é estabelecido entre NH_3 e NH_4^+ ; 2) A concentração na circulação periférica normalmente é mantida em baixos níveis devido a ação do fígado.

Tabela 2. Relação entre pH e as proporções entre as formas não ionizada e ionizada de amônia do plasma a 37°C^{1,2}.

pH	pH-pK ¹ a	% NH ₃	% NH ₄
9,02	0	50,00	50,00
8,72	-0,30	33,38	66,62
8,42	-0,60	20,07	79,93
8,12	-0,90	11,18	88,82
7,82	-1,20	5,93	94,07
7,52	-1,50	3,06	96,94
7,22	-1,80	1,56	98,44
6,92	-2,10	0,75	99,25
6,62	-2,40	0,38	99,62

¹ Fonte: VISEK (1968).

² pK¹a da amônia no plasma a 37°C = 9,02.

2.2.5. Concentração ótima de amônia no rúmen

Caso não houvesse limitação na capacidade dos microrganismos em converter amônia em proteína microbiana, não haveria muita diferença se toda a proteína dietética fosse ou não degradada no rúmen. Este fato porém não acontece e a amônia produzida acima da capacidade de utilização dos microrganismos representa uma perda para o animal hospedeiro.

A determinação dos níveis ótimos de concentração de amônia ruminal é importante, portanto, por pelo menos dois motivos:

1) Determinar a concentração necessária para suportar máximas taxas de crescimento microbiano, ou seja, determinar o valor no qual a amônia deixa de ser um nutriente limitante; 2) Determinar em que condições seria esperado um efeito benéfico de suplementação de NNP, maximizando a habilidade única dos ruminantes em utilizar esta fonte de N.

Segundo MEHREZ *et alii* (1977) a concentração ótima de amônia no ambiente ruminal é importante porque é a partir dela que resulta a maior taxa de fermentação e se permite haver uma máxima produção de proteína microbiana por unidade de substrato.

Vários autores conduziram experimentos nos quais se estudaram o efeito das concentrações da amônia ruminal, tanto na taxa de fermentação como na síntese de célula microbiana. A Tabela 3 apresenta uma seleção destes trabalhos, onde a produção em gramas de célula microbiana é determinada em função da quantidade de matéria orgânica fermentada. As metodologias de determinação dos constituintes celulares dos microrganismos são também salientadas.

Tabela 3. Eficiência na síntese de proteína microbiana do rúmen.

Referência	Método		NH ₃	PM
LINDSAY & HOGAN (1972)	DAP	Feno de lucerna	27	22
		Trevo vermelho	21	15
CHANBERLAIN <i>et alii</i> (1975)	DAP	Polpa beterraba + cevada	13	14
PRIEGGE <i>et alii</i> (1978)	RNA	Rolão de milho	15	8
		Flocos de milho	11	9
		Milho alta umid. + Ac.propion.	20	15
		Milho alta umid. picado e ens.	13	10
SATTER & SLVDER (1974)	TAPN	CHO solúvel + uréia	5	23
OKORIE <i>et alii</i> (1977)	35S	Milho + cevada + palha + uréia	5	8*
MATHISON & MILLIGAN (1971)	15N	Cevada	6	16
		Feno	14	13
PRITCHARD & MALES (1985)	Ac. nucl.	Palha de trigo + soja + uréia	1	11
			6	13
			10	13
			9	13
HUME (1970)	TAPN	Casca aveia + amido + AGV + uréia	20	17
		+ caseína	17	23
		+ gelatina	22	20
		+ zeína	12	23
HUME <i>et alii</i> (1970)	proteína livre	Dieta semipuri.		
		+ uréia (16 g)	31	13
		+ uréia (9 g)	13	13
		+ uréia (4 g)	9	11
		+ uréia (2 g)	6	9
HOGAN & WESTON (1971)	DAP	Palha + uréia		
		. baixo consumo	12	23
		. médio consumo	11	16
		. alto consumo	12	24

PM: Proteína microbiana em g/100 g de matéria orgânica digerível.

NH₃: Concentração de amônia em mg/100 ml.

DAF: Ácido diaminopimélico.

TAPN: Ácido tungístico precipitado.

Ac.nucl.: Ácido nucleico.

Pelo fato de muitas dessas informações serem decorrentes de trabalhos laboratoriais de fermentadores contínuos, nos quais o nutriente específico, no caso a amônia, é eliminado e posteriormente adicionado ao meio, certas considerações devem ser observadas, conforme sugere ALLISON (1982). Segundo este autor, os nutrientes essenciais são substâncias requeridas para a duplicação de células e uma relação linear existe entre o número de células ou massa de células e a quantidade deste nutriente. Embora este tipo de informação seja necessária ao conhecimento de um organismo, ela não pode ser o tipo de informação real para prever o limite de crescimento de um determinado organismo no rúmen. Ainda segundo o mesmo autor, experimentos com culturas contínuas, delineados para determinar os nutrientes necessários a máxima taxa de crescimento e suas características limitantes, devem ser mais persistentes.

O efeito da concentração de amônia ruminal sobre a síntese de proteína microbiana foi determinado por SATTER & ROFFLER (1974) através de fermentadores contínuos contendo fluido ruminal de novilhas recebendo três tipos de dietas: a) Dieta isenta de proteína; b) Dieta de concentrado a base de milho e c) Dieta de forragem e concentrado numa relação de 3:1. Uma mistura com composição semelhante foi fornecida aos fermentadores. Quantidades de uréia foram infundidas aos fermentadores de forma a manter várias concentrações constantes de amônia. Inicialmente, a produção de

matéria microbiana, avaliada através do nitrogênio precipitado do ácido tungístico (TAPN) aumentou a medida que se aumentou a suplementação com uréia e, posteriormente, esta produção ficou estagnada (Figura 2). Maiores adições de uréia não geraram efeito na quantidade de proteína produzida.

Fonte: SATTER & ROFFLER (1974).

Figura 2. Relação entre (NH₃) ruminal e produção de ácido tungístico precipitado.

O ponto de estagnação na quantidade de proteína produzida coincide com o ponto no qual a amônia começa a aumentar. A interação entre o TAPN e as concentrações de amônia ocorrem com valores similares de proteína bruta das rações, o que sugere aos autores uma estreita relação entre a produção máxima de TAPN e o início da acumulação da amônia. A intersecção na concentração de amônia ocorreu, para as três rações, nos valores de 1,9; 2,0 e 1,7 mg NH_3 - N/100 ml de fluido, o que determinou que próximo destes valores o fornecimento de N já está satisfeito. Os autores propuseram o valor de 5 mg/100 ml de fluido como o valor de utilização mais eficiente do nitrogênio por ser o valor em que se inicia o acúmulo da amônia, permitindo assim uma pequena margem de erro.

Apesar do valor proposto por SATTER & SLYDER (1974), de 5 mg/100 ml de conteúdo ruminal ser o mais aceito por grande parte de pesquisadores (MARSHAL & HOOVER, 1979; RONDÍ, 1981; HUBER & KUNG, 1981; BALDWIN & ALLISON, 1983; OWENS & BERGEN, 1983 e CHESSON & ORSKOV, 1985), ele não é unânime.

BULL *et alii* (1975) demonstraram, num sistema semelhante ao de SATTER & SLYDER (1974), um aumento na produção de proteína microbiana até que os níveis de amônia do rúmen atingissem cerca de 20 mg/100 ml, o que é um valor consideravelmente mais elevado.

Valores também elevados foram determinados por

MEHREZ *et alii* (1977). Os autores determinaram a taxa de desaparecimento da matéria seca de cevada em sacolas de *nylon*, utilizando carneiros alimentados com cevada enriquecida de níveis de solução de uréia. Este sistema foi utilizado com sucesso para manter concentrações constantes de amônia no rúmen. Os sacos de *nylon* foram incubadas por tempos de 1,5; 3; 6 e 9 horas. A concentração mínima para obtenção da máxima taxa de fermentação foi estimada como sendo de 23,5 mg/100 ml de fluído ruminal.

A 95, 85 e 75% da taxa máxima de desaparecimento do substrato, as concentrações de amônia foram da ordem de 24, 19 e 15 mg/100 ml respectivamente. Quando a concentração era de 7 mg/100 ml somente 50% da taxa máxima de desaparecimento era atingida.

Valores em outro extremo foram determinados por SCHAEFER *et alii* (1980). Segundo os autores, a constante de saturação de amônia para as espécies de bactérias predominantes no rúmen era menor que 50 μ m (0,09 mg). Os autores afirmaram que os organismos que crescem em um meio com 1,7 mg/100 ml de amônia, deveriam alcançar 95% da taxa de seu crescimento máximo específico. No entanto, os autores não acreditam que com este suprimento os microrganismos sejam capazes de atingir a máxima produção de células ou ótima utilização de energia do meio.

Concentrações médias foram registradas por ORTEGA *et alii* (1979), que determinaram um aumento no desa-

parecimento de matéria orgânica através do uso de sacolas de *nylon* suspensas no rúmen, a medida que a concentração de amônia aumentou até 8,7 mg/100 ml de fluido ruminal. A partir de 6,3 mg/100 ml, as diferenças não foram significativas.

Essa grande variação nos dados apresentados muito provavelmente esta relacionada com os mecanismos de transporte da amônia para o interior da célula bacteriana.

Estes mecanismos de transporte parecem estar sob controle metabólico e sua atividade aumenta marcadamente em condições de deficiência de nitrogênio. Por outro lado, ele é aparentemente inibido por diversos metabólitos, mais efetivamente por glutamina e asparagina. Se estes mecanismos forem realmente importantes para os microrganismos e, segundo SMITH (1979), estudos com *Escherichia coli* provam que eles o são, é bem provável que a permeabilidade da parede celular das bactérias em relação a amônia possa variar largamente sob diferentes condições e muito provavelmente com a composição da população (SMITH, 1979).

Nestas circunstâncias, não é provável que exista um valor exato na concentração de amônia que determine a estagnação da taxa de produção de proteína microbiana ou acúmulo deste composto, mesmo que este seja determinado em condições de estabilidade em que a amônia seja fornecida acima da quantidade demandada.

2.3. Produção de Ácidos Graxos Voláteis no Rúmen

A partir da afirmação de BLAXTER (1962) de que o desempenho ruminal apresentava alta correlação com a proporção de ácidos acético e propiônico observados no conteúdo do rúmen, medidas das concentrações de ácidos graxos voláteis e determinações da relação acético/propiônico passaram a ser mais comuns (BALDWIN & ALLISON, 1983).

De acordo com revisão de COPPOK *et alii* (1964), vários autores (STODDARD *et alii*, 1948; STEWART *et alii*, 1958 e SHAW *et alii*, 1960) demonstraram que a proporção dos ácidos graxos voláteis do rúmen varia com a natureza da dieta. Embora afetada por vários fatores, é bastante compreensível que, em última análise, a produção de ácidos graxos voláteis seja função do tipo de substrato fermentado e do microrganismo que o fermenta.

Bactérias amilolíticas produzem consideravelmente mais propionato que bactérias celulolíticas, enquanto que as sacarolíticas e pectinolíticas ocupam um nível intermediário (BALDWIN & ALLISON, 1983).

Como ilustrado por BALDWIN & ALLISON (1983), uma dieta de volumosos é rica em celulose, intermediária em açúcares solúveis e pobre em amido. Assim sendo, as bactérias celulolíticas e sacarolíticas ocorrerão em maior número, e uma maior proporção de acetato será formada. Segundo os

autores, esta maior proporção não é somente devida a fermentação de celulose, mas também devido a competição favorável que as bactérias sacarolíticas exercem por carboidratos solúveis e produtos da hidrólise do amido.

Da mesma forma, dietas ricas em amido resultam em maior número de bactérias amilolíticas, que competem favoravelmente por carboidratos solúveis, hidrolisados de amido e hemicelulose. Conseqüentemente, a produção de propionato é incrementada, não só devido a presença de amido, mas também porque a fermentação de outros carboidratos é favorecida para produção de ácido propiônico.

MURPHY *et alii* (1982) estimaram teoricamente as características da fermentação ruminal, no que diz respeito a produção de AGV, em função do substrato fermentado (Tabela 4). Os dados foram obtidos de um modelo proposto pelos autores e formulado em função de um grande número de resultados revisados.

UTLEY & McCORMICK (1972) obtiveram dados de produção de AGV ruminal de novilhos recebendo dietas com níveis crescentes de casca de amendoim (0, 10, 20 e 30%), num experimento conduzido para avaliar este material como fonte de volumoso para terminação de bovinos. Com o aumento do material fibroso na dieta, que preliminarmente era constituída de 100% de concentrado, houve um aumento na proporção de acetato, de 44,8 para 52,7% e um decréscimo na produção de propionato de 40,7 para 30,3%.

Tabela 4. Características estimadas da fermentação ruminal.

Substrato	Dieta	% de CHO convertido a:			
		C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
CHO solúveis	F	69	20	10	0
	C	45	21	30	4
Amido	F	59	14	20	6
	C	40	30	20	10
Hemicelulose	F	57	18	21	5
	C	56	26	11	7
Celulose	F	66	9	23	3
	C	79	6	6	9

F: forragens;

C: concentração.

Efeito semelhante foi observado por WHITE *et alii* (1975). Os autores também trabalharam com novilhas confinadas para terminação cuja dieta fornecida era acrescida ou não de palha de trigo, num nível de 20% da matéria seca. A concentração de ácido acético se elevou, na dieta com palha, de 52,8 para 64,8 moles/ml de fluido ruminal havendo uma diminuição na concentração de propionato de 31,2 para 20,7 moles/100 ml de fluido ruminal. Informações a respeito de dietas a base de bagaço de cana-de-açúcar tratado são raras.

DASS *et alii* (1983) estudaram o efeito do fornecimento do bagaço amoniado, tratado com gás de amônia numa proporção de 2% do peso da matéria seca, e diferentes níveis de melaços na dieta sobre a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen de bovinos. Foram utilizados 12 animais e os níveis de fornecimento de melaço na dieta de bagaço amoniado, 5, 10 e 20%, foram comparados com uma dieta de bagaço *in natura* e concentrado.

A concentração total de ácidos graxos voláteis do rúmen decresceu com a adição de melaço na dieta (de 61,26 para 56,58 e 56,39 moles por litro de fluido ruminal respectivamente) e foi superior para a dieta com bagaço *in natura* (concentração de 63,91 moles/l de fluido ruminal). Em termos de participação percentual dos ácidos acético, propiônico, butírico e valérico na produção total dos ácidos produzidos, observou-se que a adição de melaço determinou um decréscimo na concentração molar de ácido acético (de 74,22 para 68,85 e 65,35% respectivamente) e um aumento na proporção de ácido propiônico (de 17,98 para 21,21 e 21,22% respectivamente). A dieta com bagaço *in natura* não apresentou diferenças para a dieta com bagaço amoniado com a adição mínima (5% de melaço).

No que diz respeito ao efeito da adição de uréia sobre a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen, este foi observado por HUME *et alii* (1970) em experimento conduzido para avaliar a influência do nível de nitrogênio sobre a síntese de proteína microbiana no rúmen. Dietas puri-

ficadas que forneceram quantidades de N variando de 2, 4, 9 até 16 g por dia foram oferecidas para carneiro e determinaram as seguintes produções de AGV em moles por litro de fluido ruminal: 82,1; 87,5; 86,5 e 91,2 respectivamente. A suplementação com uréia, embora destacada pelos autores como sendo efetiva na digestão da celulose, não determinou diferenças na contribuição do ácido acético sobre a produção total de ácidos.

Em última análise, o resultado da adição de uréia no ambiente ruminal é determinado pelo efeito benéfico da presença de nitrogênio, principalmente para o desenvolvimento das bactérias celulolíticas, (BRYANT & ROBINSON, 1962 e CAMPLING *et alii*, 1962).

Segundo MOIR & HARRIS (1962) existe uma alta relação entre o número de bactérias no rúmen e a quantidade de nitrogênio ingerido e, segundo eles, esta população refletirá na capacidade funcional do rúmen e em última análise na quantidade de ácidos graxos produzidos.

De acordo com OWENS & BERGEN (1983) a suplementação com uréia não apenas altera a quantidade de amônia disponível no rúmen, mas também determina uma ação tamponante que mantém o pH ruminal em uma faixa adequada para digestão de celulose, o que contribuiria na quantidade de acetato produzido.

52.52

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e Instalações

O presente trabalho foi conduzido nas dependências do Estábulo Experimental do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

Foram utilizadas seis vacas providas de fístula ruminal, adultas e em estado de manutenção, sendo duas da raça Jersey, duas da raça Flamenga e duas mestiças de Holandes com Zebu. Os animais foram alocados em baias individuais de contenção e apresentaram um peso médio no início do experimento de 400 kg.

3.2. Tratamentos e Delineamento Estatístico

Os animais foram divididos em três grupos de 2, preenchendo o delineamento de dois quadrados latinos 3×3 , conforme GOMES (1981), de maneira que um quadrado não apresentasse animais consumindo a mesma dieta durante um mesmo período. Foram desenvolvidos três períodos de 25 dias cada,

perfazendo um total de 75 dias, de maneira que todos os animais receberam todos os tratamentos.

Tabela 5. Composição e análise química das dietas.

Composição %	Ingredientes			
	Bagaço	Levedura	Feno	Uréia
Dieta A	62,7	24,3	16,0	-
Dieta B	62,1	24,3	16,0	0,6
Dieta C	61,3	24,3	16,0	1,36
Análise química				
Matéria seca	49,6	92,0	93,7	
Proteína bruta	1,7	28,9	2,9	
Fibra detergente ácida	56,4	-	43,8	
Fibra detergente neutra	55,5	-	80,73	

As dietas tiveram como base o bagaço de cana tratado a uma pressão de 17 kgf/cm^2 durante 5 minutos e conservado em silo vertical durante todo o transcorrer do experimento. Estas são as condições de tratamento normalmente utilizados pela Usina Barra Grande, localizada no município de Lençóis Paulista - SP e fornecedora do material. Segundo BURGI (1985) estas condições são as que apresentam melhores respostas de tratamento.

As dietas foram formuladas de maneira a se obter níveis de proteína bruta, a partir do nível mínimo de manutenção recomendado pelo National Research Council (NRC, 1978).

- Dieta A, contendo 7,5% de proteína bruta (PB) na matéria seca (MS), que corresponde a 1,28% de N. Estes teores foram obtidos através do fornecimento de levedura seca de destilaria de álcool (100%).

- Dieta B, contendo 9,0% de proteína bruta na matéria seca, que corresponde a 1,92% de N. Estes teores foram obtidos através de fornecimento de levedura seca de destilaria de álcool (80%) e suplementação com uréia (20%).

- Dieta C, contendo 10,5% de proteína bruta na matéria seca, que corresponde a 2,60% de N. Estes teores foram obtidos através do fornecimento de levedura seca de destilaria de álcool (65%) e suplementação com uréia (35%).

Acrescido a dieta, foram fornecidos diariamente 100 g de uma mistura de sal mineral e 1,0 kg de feno de capim de Rhodes de baixa qualidade ($\pm 3,0\%$ de proteína bruta), com função de fornecer fibra longa, considerada deficiente na dieta. As dietas foram fornecidas apenas uma vez ao dia, em quantidades que preenchessem as exigências de manutenção dos animais. As sobras do dia anterior eram eliminadas antes do fornecimento.

A Tabela 5 apresenta a composição dos tratamentos com base na matéria seca e matéria original e a composição bromatológica dos constituintes da mesma.

3.3. Períodos Experimentais

O experimento foi constituído de três períodos experimentais de 25 dias cada divididos da seguinte forma: 15 dias para adaptação dos animais a nova dieta; três dias para coleta do fluido ruminal; sete dias referentes a amostragens de fezes e urina e um dia reservado a liberação dos animais em piquetes, numa tentativa de minimizar um provável estresse resultante de contenção prolongada.

No início do experimento e a cada mudança de tratamento foram realizadas pesagens, com o animal em jejum de pelo menos 10 horas.

Anteriormente a fase experimental, houve um período de aproximadamente 40 dias, necessários para introduzir os animais a dieta com bagaço e avaliar o consumo voluntário das mesmas.

3.4. Coleta de Fluido Ruminal para Determinação de Ácidos Graxos Voláteis (AGV) e N-Amoniacal

O fluido ruminal foi coletado durante um período de 24 horas em intervalos de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 horas após o fornecimento do alimento, cujo horário foi estipulado para as 8 horas.

O material coletado foi filtrado em pano de

queijo e duas alíquotas de 6 ml cada transferidas para tubo de ensaio.

O material reservado para análise de N-amônia cal foi misturado numa razão de 2:1 com ácido fórmico e da mesma forma que a outra alíquota, conservado em congelador. Para todas as amostras foram feitas determinações de pH, imediatamente após a coleta.

3.5. Coleta de Fezes e Urina

Os sete dias do período experimental imediatamente após o dia de coleta de fluido ruminal foram reservados para coleta de fezes, urina e alimento. Estes foram amostrados e registrados diariamente. Após esta etapa, estas amostras compuseram uma única amostra composta.

A coleta de urina se fez através de sondas vesicais (FOLLEY) e a amostra diária representou 2% do total excretado. Quanto às fezes, estas foram coletadas através de caixas devidamente alocadas às baias de contenção e a amostra representou 5% do total excretado.

Os componentes da dieta foram amostrados individualmente antes da mistura no cocho.

Com exceção da urina, conservada em geladeira, todo restante do material foi conservado em congelador até o momento das análises.

3.6. Análises Laboratoriais

Foram feitas análises bromatológicas segundo a *Association of Official Analytical Chemists* (A.O.A.C.) que constaram de determinações de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) tanto para o bagaço como para a levedura e o feno. Na urina foram determinados o teor de proteína bruta e densidade.

Além disso, o bagaço e o feno foram analisados em termos de fibra detergente ácida (FDA) e fibra detergente neutra (FDN) segundo VAN SOEST (1963).

A concentração de amônia no fluido ruminal foi determinada de acordo com o método descrito por KULASECK (1972) e adaptado por FOLDAGER (1977).

Os ácidos graxos voláteis, acético, propiônico e butírico, foram determinados pelo método de cromatografia gasosa descrita por FOLDAGER (1977). O aparelho equipado com detector de ionização de chama, trabalhou nas seguintes condições: temperatura da coluna 120°C; temperatura do detector e do vaporizador 200°C; fluxo de gás do nitrogênio 30 ml/min; fluxo de gás do oxigênio 350 ml/min e fluxo de gás do hidrogênio 40 ml/min. A coluna utilizada era de vidro de 4 pés x 1/8" de diâmetro, empacotada com 0,3% carbônica 20 m/ 0,1% de H_3PO_4 + 60/80 carbopack.

3.7. Análise Estatística

As análises de variâncias foram conduzidas segundo metodologia descrita por GILL (1978). O esquema das análises de variância para os valores de concentração de amônia e ácidos graxos voláteis no rúmen foi:

CV	GL
Quadrado	1
Animal dentro de quadrado 1	2
Animal dentro de quadrado 2	2
Animal dentro de quadrado	4
Período	2
Tratamento	2
Resíduo (A)	8
Parcelas	17
Tempo	8
Tratamento x tempo	16
Resíduo (B)	120
TOTAL	161

E o esquema para digestibilidade e balanço de nitrogênio foi o seguinte:

59
80.

CV	GL
Quadrado	1
Animal dentro de quadrado 1	2
Animal dentro de quadrado 2	2
Animal dentro de quadrado	4
Período	2
Tratamento	2
Resíduo	8
TOTAL	17

Na interpretação estatística, as diferenças entre médias foram detectadas pelo teste de Tukey, tanto a nível de 1% como 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Consumo de Bagaço

A Tabela 6. apresenta a análise de variância dos dados de consumo de bagaço, expresso em quilos de matéria seca por animal por dia. As médias de consumo em relação aos tratamentos, períodos e animais, podem ser observados na Tabela 7.

Não houve diferença no consumo ($P < 0,05$) que pudesse ser atribuídas aos tratamentos, períodos, quadrados ou animais.

O aumento no consumo voluntário em função da adição de uréia, foi observado por alguns autores (FARIA, 1982; SAUER *et alii*, 1979; HUBER & THOMAS, 1971) em dietas com volumosos como silagem de milho. A causa provável deste aumento foi uma maior taxa de fermentação ruminal ou uma melhor condição na nutrição protéica do animal. No presente experimento não seria esperada nenhuma alteração no consumo voluntário, devido a quantidade restrita da ração fornecida, que ocorreu a nível de manutenção do animal (por volta de 1,5% do peso vivo).

Tabela 6. Análise de variância dos dados de consumo de matéria seca de bagaço por animal por dia.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,3280
Animal dentro de quadrado 1	2	0,4690
Animal dentro de quadrado 2	2	0,2433
Animal dentro de quadrado	4	0,3566
Período	2	0,0933
Tratamento	2	0,8493
Resíduo	8	0,2073
TOTAL	17	

Coef.var. = 11,55%

62/
~~63.~~

Tabela 7. Consumo médio em kg de matéria seca de bagaço por animal e por dia (MS/A/D).

Variável	MS/A/D
Tratamento A	4,09
Tratamento B	4,21
Tratamento C	4,51
Período I	3,68
Período II	4,08
Período III	3,78
Animais 1 e 4	3,60
Animais 2 e 5	4,31
Animais 3 e 6	4,40
MÉDIA	3,94

Em contrapartida, pode-se afirmar que o teor protéico da dieta sem suplementação e com o mais baixo nível entre os tratamentos (7,5% na MS) não determinou nenhuma restrição neste aspecto.

4.2. pH do Fluido Ruminal

Na Tabela 8, que apresenta a análise de va-

riância dos valores do pH do fluido ruminal, observa-se que estes só sofreram modificações significativas ($P \leq 0,01$) em função da hora de coleta e que não houve efeito dos tratamentos, animais ou da interação tratamento x hora de coleta.

Tabela 8. Análise de variância dos valores de pH do fluido ruminal.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,0015
Vaca dentro de quadrado 1	2	0,1279
Vaca dentro de quadrado 2	2	0,6141
Vaca dentro de quadrado	4	0,3710
Período	2	0,6755
Tratamento	2	0,0600
Resíduo (A)	8	0,1035
Parcelas	17	
Hora da coleta	8	4,0944*
Tratamento x hora	16	0,0259
Resíduo (B)	120	0,1045
TOTAL	161	

* ($P \leq 0,01$)

Coef.var. (Res. A) 0,96%

Coef.var. (Res. B) 5,03%

Na Tabela 9 e na Figura 3, observa-se que o pH do fluido ruminal sofreu uma queda acentuada a partir do fornecimento da ração até 4 horas mais tarde, quando foi registrado o seu valor mais baixo (5,75). A partir de 4 horas, o pH sofreu uma pequena estabilização até tornar a se elevar, atingindo no final do período valores próximos dos iniciais.

Essa variação já era esperada e está associada a concentração de ácidos graxos voláteis produzidos após a ingestão. Este fenômeno já foi demonstrado para vários alimentos e é conhecido desde 1957 (BALCH & ROWLAND, 1957 e BRIGGS *et alii*, 1957). Entretanto deve-se salientar que os valores mínimos obtidos foram bastante baixos (menores do que 6,0) e que condições de acidez excessiva são prejudiciais aos microrganismos do rúmen, restringindo a atividade das bactérias celulolíticas. Segundo CLARK & DAVIS (1974) o crescimento das bactérias celulolíticas é retardado quando o pH decresce de 6,0 e permanece assim por um determinado período.

Na Tabela 9 observa-se que neste experimento o pH foi inferior a 6,0 por mais de 4 horas ao longo do dia.

O fato das dietas que foram suplementadas com uréia não terem os valores de pH ruminal alterado está em desacordo com observações feitas por COOMBE & TRIBE (1962) que constataram elevação nos valores destes em carneiros alimentados com dietas onde a proteína foi substituída por uréia.

Tabela 9. Valores de pH do fluido ruminal em função dos tratamentos e hora de coleta.

Tratamentos	Hora de coleta									
	0	1	2	4	6	8	12	16	24	M
A	7,13a	6,61b	6,16cd	5,93d	5,96d	5,96d	6,38bc	7,01a	7,05a	7,13
B	6,94a	6,63b	6,21cd	5,94d	5,93d	5,91d	6,38dc	6,96a	6,98a	7,00
C	7,00a	6,50b	6,18cd	5,75d	5,90d	5,90d	6,38bc	6,85a	6,91a	6,94
M	7,02a	6,58b	6,18cd	5,87d	5,93d	5,92d	6,35bc	6,94a	6,98a	

Médias seguidas de mesma letra dentro da mesma linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Tratamento A = 7,5% de PB; Tratamento B = 1,0% de PB; Tratamento = 10,5%.

Figura 3. pH do fluido ruminal de animais recebendo dietas com diferentes teores de proteína bruta.

4.3. Concentração de Amônia Ruminal

A análise da variância dos dados da concentração de amônia ruminal, expressa em mg/100 ml, está apresentada na Tabela 10 e, como se observa, foi afetada significativamente ($P \leq 0,01$) pelo tratamento, hora de coleta e pela interação tratamento x hora de coleta.

O efeito do tratamento sobre a concentração de amônia do rúmen seria esperado e está de acordo com os dados publicados por PRITCHARD & MALES (1985), WIEDMEIER *et alii* (1983), MALES *et alii* (1982), que trabalharam com dietas a base de palha de arroz e determinaram aumentos consideráveis na concentração de amônia do rúmen em função da adição de uréia na dieta.

Diferenças grandes e significativas também foram observadas ao longo de todo o dia, como fica confirmado pelo efeito significativo do fator hora de coleta. Esta variação concorreu para que a diferença estatística entre os tratamentos não fosse uniforme durante todo o período do dia, como se observa na Figura 4. O tratamento C só foi superior aos demais até as primeiras 12 horas após o fornecimento da dieta.

Tabela 10. Análise de variância dos dados de concentração de amônia do fluido ruminal.

CV	GL	QM
Quadrado	1	130.860
Animal dentro de quadrado 1	2	211.158
Animal dentro de quadrado 2	2	60.181
Animal dentro de quadrado	4	135.670
Período	2	117.411
Tratamento	2	3.162.825*
Resíduo (A)	8	98.750
Parcelas	17	
Hora de coleta	8	487.046*
Tratamento x hora	16	244.447
Resíduo (B)	120	40.615
TOTAL	161	

* ($P \leq 0,01$)

Coef.var. (Res. A) = 21,8%

Coef.var. (Res. B) = 72,8%

Figura 4. Concentração de amônia do fluido ruminal (mg/100 ml) de animais recebendo dietas com diferentes teores de proteína bruta.

Médias seguidas de mesma letra em um mesmo ponto do eixo x não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A variação na concentração de amônia ao longo do dia também pode ser observada na Tabela 11. A mesma variação foi detectada por outros autores (FARIA, 1982; SATTER & ROFFLER, 1977; PEARSON & SMITH, 1943) e está associada à rápida hidrólise da uréia a amônia, como já sugerido em 1960 por BLOOMFIELD.

A participação das características da hidrólise da uréia na variação da concentração de amônia ao longo do dia provavelmente foi acentuada pelo regime alimentar estabelecido. Como os animais foram alimentados apenas uma vez ao dia, a maior parte da ingestão ocorreu nas primeiras horas do período, determinando uma rápida elevação da amônia ruminal, que posteriormente foi sendo eliminada pelas vias de saída existentes (utilização pelos microrganismos, absorção pela parede ruminal e transporte com a digesta). Não havendo mais alimento a ser ingerido os valores observados nas primeiras horas não puderam ser mantidos. A mesma explicação é válida para justificar o elevado valor (72,8%) do coeficiente de variação observado na análise das subparcelas (desmembradas em relação a hora de coleta), se a ela for adicionada a informação de que os animais apresentaram uma taxa de ingestão também variável. Um exemplo destes dados pode ser observado na Tabela 12.

Tabela 11. Concentração de amônia do fluido ruminal (mg/100 ml) em função dos tratamentos e hora da coleta.

Tratamentos	Hora de coleta (h)									
	0	1	2	4	6	8	12	16	24	M
A	2,76a	3,53a	2,77a	2,75a	2,15a	1,66a	1,60a	2,96a	1,86a	2,23
B	2,32a	8,28a	9,86a	20,12a	12,56a	6,16a	2,61a	5,10a	4,36a	6,82
C	6,24c	23,00ab	33,17a	32,10a	26,66ab	19,19a	6,27c	2,23c	4,99c	17,17
M	3,77b	11,54a	16,27a	14,66a	13,79a	9,00ab	3,49b	3,43b	3,74b	

Médias seguidas da mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tuckey.

Tratamento A com 7,5% de PB; Tratamento B com 9,0% de PB; Tratamento C com 10,5% de PB.

41

Tabela 12. Quantidade (kg) de matéria original consumida por animal, ao longo do dia durante o período I.

Tempo* (h)	Animal					
	1	2	3	4	5	6
1	0,0	1,6	5,1	0,0	0,6	2,6
2	1,0	2,6	7,1	4,0	1,6	4,6
4	2,3	6,9	11,8	6,1	1,6	8,3
6	3,7	8,8	-	9,5	5,2	10,1
8	6,1	11,8	-	11,8	7,1	11,8
12	7,3	-	-	-	11,8	-
16	9,7	-	-	-	-	-
24	11,8	-	-	-	-	-

* Horas após o fornecimento da dieta.

Como as taxas de ingestão entre animais foram diferentes é bastante provável que as respostas individuais a adição de uréia não tenham ocorrido de forma uniforme.

4.4. Ácidos Graxos Voláteis do Fluido Ruminal

4.4.1. Ácido acético

A porcentagem molar do ácido acético produzido no rúmen não foi afetada pelos tratamentos, porém houve

um efeito significativo ($P \leq 0,05$) da hora de coleta (Tabela 13).

Tabela 13. Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal.

CV	GL	QM
Quadrado	1	185.453
Animal dentro de quadrado 1	2	35.385
Animal dentro de quadrado 2	2	779.312
Animal dentro de quadrado	4	407.349
Período	8	60.721
Tratamento	2	833.840
Resíduo (A)	8	381.361
Parcelas	17	
Hora de coleta	8	32.148*
Tratamento x hora	16	22.671
Resíduo (B)	180	15.594
TOTAL	161	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. (Res. A) = 5,93%

Coef.var. (Res. B) = 6,23%

A variação no percentual molar de ácido acético produzido no rúmen ao longo do dia reflete a variação no padrão de fermentação ocorrida, já que este ácido é o principal produto da digestão microbiana dos constituintes da parede celular (CHURCH, 1969). Na Tabela 14 observa-se que a percentagem molar decresceu após o fornecimento da ração e que após um certo período os valores iniciais foram retomados. Este comportamento está de acordo com a forma de atuação das bactérias que degradam a parede celular do alimento, as quais demandam um certo tempo para entrar em atividade devido a necessidade de colonizar as partículas em questão (CHESSON & ORSKOV, 1985).

Como ocorreu para a concentração de amônia ruminal, o efeito da hora de coleta também concorreu para que as diferenças estatísticas entre os tratamentos não fossem uniformes ao longo do dia. Analisando-se a Figura 5 observa-se que o tratamento C foi superior aos demais a partir de 4 horas após o tratamento da ração. Estes resultados tem sua razão de ser, considerando-se que uma maior produção percentual de ácido acético é resultado de uma maior participação das bactérias celulolíticas na fermentação, exigentes em nitrogênio amoniacal (BRYANT & ROBINSON, 1961), e que a partir de 8 horas do fornecimento de alimento os tratamentos não mais apresentaram diferenças estatísticas na disponibilidade deste nutriente.

Tabela 14. Porcentual molar de ácido acético do fluido ruminal em função dos tratamentos e da hora de coleta.

Tratamentos	Hora de coleta (h)									
	0	1	2	4	6	8	12	16	24	M
A	63,2a	64,6a	64,0a	60,3a	60,3a	61,1a	59,9a	60,6a	60,8a	61,70
B	58,1a	63,6a	61,9a	62,4ab	61,2ab	56,2a	58,5a	57,7a	64,2ab	60,48
C	69,6b	68,0a	66,7a	66,4b	66,4b	67,4b	67,2b	68,7b	69,5b	67,81
M	63,70a	65,45a	64,25a	63,11a	62,70a	61,60a	61,91a	62,36a	64,89a	

Médias seguidas da mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem significativamente a nível de 5% de significância, pelo teste de Tuckey.

Tratamento A com 7,5%; Tratamento B com 8,0%; Tratamento C com 10,5% de PB.

Figura 5. Porcentual molar de ácido acético do fluido rumi-
nal (mg/100 ml) de animais recebendo dietas com di-
ferentes teores de proteína bruta.

Médias seguidas da mesma letra em um mesmo ponto do eixo x
não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade
de pelo teste de Tukey.

Não havendo na literatura (ORTEGA *et alii*, 1979; MEHREZ *et alii*, 1977; BULL *et alii*, 1975; (SATTER & SLYDER, 1974) unanimidade em torno de um valor de concentração de amônia que seja o mínimo limitante ao desenvolvimento ótimo dos microrganismos do rúmen, não se pode afirmar com precisão que os tratamentos A e B determinaram uma condição de deficiência deste nutriente no rúmen e que esta condição foi sanada pelo tratamento C, que apresentava o nível mais alto de suplementação.

4.4.2. Ácido propiônico

A análise de variância dos valores do percentual molar de ácido propiônico é apresentada na Tabela 15. Os fatores que determinaram efeito significativo ($P \leq 0,05$) para este parâmetro foram os mesmos observados para o ácido acético, ou seja, apenas hora de coleta.

A variação do percentual molar do ácido propiônico em função da hora de coleta, pode ser analisada na Tabela 16. Esta variação foi inversamente proporcional a ocorrida com o ácido acético. Este fato está melhor ilustrado nas Figuras 6, 7 e 8 que, relacionam as curvas do percentual molar dos dois ácidos em função da hora de coleta. Como pode ser observado o comportamento das curvas é praticamente inversa, sugerindo estreita relação entre elas.

Tabela 15. Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido propiônico do fluido ruminal.

CV	GL	QM
Quadrado	1	143,31
Animal dentro de quadrado 1	2	8,19
Animal dentro de quadrado 2	2	439,62
Animal dentro de quadrado	4	223,90
Período	2	17,67
Tratamento	2	320,04
Resíduo (A)	8	255,41
Parcelas	17	
Hora de coleta	8	18,95*
Tratamento x hora	16	12,38
Resíduo (B)	120	9,69
TOTAL	161	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. (Res. A) = 10,7%

Coef.var. (Res. B) = 10,8%

Tabela 16. Porcentual molar de ácido propiônico do fluido ruminal em função dos tratamentos e hora de coleta.

Tratamento	Hora de coleta (h)									
	0	1	2	4	6	8	12	16	24	M
A	30,20ab	28,50a	27,70a	29,30a	29,00a	29,10ab	30,90a	31,70a	33,20	30,01
B	33,40b	28,20a	29,20a	27,80a	28,20a	31,70a	31,20a	32,30a	29,60	30,22
C	25,60a	25,90a	25,30a	25,90a	25,90a	25,20b	26,00b	25,70b	26,30	25,90
M	29,80a	27,55a	27,77a	27,73a	27,73a	28,73a	29,39a	29,95a	29,75a	

Médias seguidas de mesma letra, dentro da mesma linha, não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tratamento A com 7,5% de PB; Tratamento B com 9,0% de PB; Tratamento C com 10,5% de PB.

Figura 6. Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 7,5% de PB.

Figura 7. Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 9,0% de proteína bruta.

82
83.

Figura 8. Porcentual molar dos ácidos acético e propiônico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 10,5% de PB.

Estes resultados estão de acordo com os relatados por WHITE *et alii* (1975) que estimularam a produção de ácido acético através da adição de palha de arroz na dieta e assim determinaram um decréscimo na produção de propionato.

Este fenômeno está relacionado com o fato que de acordo com a dieta em questão haverá predominância de determinadas populações de microrganismos e que em função destas populações a fermentação dos produtos da hidrólise será direcionada ou para produção de acetato ou para produção de propionato (BALWIN & ALLISON, 1983).

4.4.3. Ácido butírico

Embora as produções de ácido acético e propiônico não tenham sido afetadas pelos tratamentos, o mesmo não ocorreu com o ácido butírico que foi alterado significativamente por estes ($P \leq 0,01$) além de períodos e hora de coleta (Tabela 17).

84
85.

Tabela 17. Análise de variância dos dados do porcentual molar de ácido butírico do fluido ruminal.

CV	GL	QM
Quadrado	1	2,71
Animal dentro de quadrado 1	2	54,14
Animal dentro de quadrado 2	2	53,77*
Animal dentro de quadrado	4	53,95*
Período	2	99,57*
Tratamento	2	127,35**
Resíduo (A)	8	15,00**
Parcelas	17	
Hora de coleta	8	30,10**
Tratamento x hora	16	2,57
Resíduo (B)	120	2,36
TOTAL	161	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. (Res. A) = 9,3%

** ($P \leq 0,01$)

Coef.var. (Res. B) = 19,3%

O efeito dos tratamentos sobre o percentual molar de ácido butírico ocorreu muito mais devido a sensibilidade destes valores a pequenas variações, em função da pequena participação deste ácido no total de ácidos graxos voláteis produzidos, do que devido a um efeito real do tratamento. Segundo observações feitas por DEHORITY¹, os animais que participaram deste experimento não apresentavam no conteúdo ruminal alguns protozoários do gênero *Holotricha*, que são os principais responsáveis pela produção de ácido butírico no rúmen (HUNGATE, 1966). A produção percentual de ácido butírico tendeu a diminuir em função de um aumento na produção de ácido acético (Figuras 9, 10 e 11), o que está em desacordo relatado por FARIA (1982), que os trabalhos experimentais têm demonstrado que 40 a 80% do ácido butírico produzidos no rúmen são consequência da atuação dos microrganismos, os quais segundo CHURCH (1969) condensam dois mols de acetato para formação de um mol de butirato.

¹ DEHORITY, B.A. (Ohio State University) Comunicação Pessoal, 1986.

Figura 9. Porcentual molar dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 7,5% de proteína bruta.

Figura 10. Porcentual molar dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 9,0% de PB.

Figura 11. Porcentual dos ácidos acético e butírico do fluido ruminal de animais recebendo dieta com 10,5% de proteína bruta.

4.5. Digestibilidade da Matéria Seca das Dietas

A digestibilidade da matéria seca das dietas foi afetada significativamente ($P \leq 0,01$) pelos tratamentos e não foi uniforme entre os animais e ao longo dos períodos ($P \leq 0,01$) (Tabela 18).

Tabela 18. Análise de variância dos valores dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,0004
Animal dentro de quadrado 1	2	0,0018*
Animal dentro de quadrado 2	2	0,0041**
Animal dentro de quadrado	4	0,0029**
Período	2	0,0092**
Tratamento	2	0,0044**
Resíduo	8	0,0002**
TOTAL	17	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. = 3,17%

** ($P \leq 0,01$)

A interferência dos animais dentro dos quadrados e dos períodos sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca só pode ser explicado pela variação in-

dividual na taxa de consumo, exposta na Tabela 12, já que o nível de consumo dos animais se apresentou uniforme dentro dos quadrados e ao longo dos períodos (Tabela 6). O efeito da taxa de consumo sobre a digestibilidade dos alimentos é conhecido por determinar o tempo em que este permanecerá sob ação dos fatores de digestão (VAN SOEST, 1983). Na Tabela 19 estão relacionadas as médias dos coeficientes de digestibilidade em função dos períodos, animais e tratamentos.

Os resultados obtidos, mostrando que a elevação no teor protéico da dieta, com conseqüente aumento na disponibilidade de amônia a nível de rúmen, alterou os coeficientes de digestibilidade da matéria seca estão de acordo com dados publicados por autores que verificaram aumento no desaparecimento de nutrientes a nível de rúmen devido ao aumento do teor protéico das dietas (ORTEGA *et alii*, 1979; MEHREZ *et alii*, 1977; ORSKOV *et alii*, 1972).

Embora outros trabalhos publicados (FARIA, 1982; VIEIRA *et alii*, 1980; OWENS *et alii*, 1973) não tenham revelado os mesmos resultados, isto é compreensível porque a concentração de amônia no líquido ruminal necessária para levar a digestão ao nível de rúmen deve variar com a dieta (MEHREZ *et alii*, 1977). Segundo McMENIMAN & ARMSTRONG (1977) 2 g de nitrogênio disponível por 100 g de matéria orgânica digestível é a quantidade mínima requerida para uma eficiente atividade microbiana no rúmen.

Tabela 19. Coeficientes de digestibilidade (CD) da matéria seca das dietas em função dos períodos, animais e tratamentos.

	CD
Período I	50,2 b
Período II	57,7a
Período III	51,8 b
Animal 1	55,3 a
Animal 2	55,0 a
Animal 3	50,8 b
Animal 4	56,9 a
Animal 5	51,3 b
Animal 6	50,0 b
Tratamento A	51,4 b
Tratamento B	51,8 b
Tratamento C	56,4 a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si para um mesmo fator a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Em termos absolutos, os resultados obtidos neste experimento para a digestibilidade de matéria seca das dietas, que foram em torno de 50%, estão de acordo com os relatados por autores que determinaram a digestibilidade *in vitro* verdadeira da matéria seca (DIVVMS). Os dados obtidos por PATE (1982), MORAL (s.d.) e BURGI (1985) trabalhando respectivamente com bagaços tratados a 19 kgf por 4,3 minutos, 9 kgf por 10 minutos e 17 kgf por 5 minutos foram 65,8; 61,1 e 64,8% respectivamente. Para se obter os valores de digestibilidade aparente, necessária para a comparação destes dados com os obtidos por este experimento, os resultados devem ser subtraídos de 12,9 pontos percentuais (VAN SOEST, 1983) o que também os levaria a oscilar em torno de 50%.

4.6. Digestibilidade da Proteína Bruta das Dietas

O coeficiente de digestibilidade da proteína bruta só foi alterado pelos tratamentos ($P < 0,01$) (Tabela 20). No entanto, deve-se salientar que parte desse aumento provavelmente foi resultado de uma perda de amônia a nível de rúmen pelo fato de que o incremento protéico da dieta foi obtido através da adição de uréia. Este fato poderá ser comprovado quando for discutido o ítem sobre balanço nitrogenado.

Tabela 20. Análise de variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,0009
Animal dentro de quadrado 1	2	0,0007
Animal dentro de quadrado 2	2	0,0018
Animal dentro de quadrado	4	0,0013
Período	2	0,0034
Tratamento	2	0,0246*
Resíduo	8	0,0013
TOTAL	17	

* ($P \leq 0,01$)

Coef.var. = 6,91%

Os dados de coeficientes de digestibilidade da proteína bruta em função dos tratamentos estão relacionados na Tabela 21. Os aumentos observados não podem ser comparados com dados de outros autores devido a escassez de estudos sobre digestibilidade de dietas a base de bagaço de cana hidrolisado suplementadas com uréia. Entretanto WHITE *et alii* (1975) trabalhando com palha de arroz determinaram um aumento na digestibilidade da fração protéica em função da suplementação com uréia. O mesmo efeito foi observado por FARIA (1982) e HUBER & THOMAS (1971), trabalhando com silagem de milho.

Tabela 21. Coeficientes de digestibilidade (CD) da proteína bruta em função dos tratamentos.

	CD
Tratamento A	46,8 a
Tratamento B	54,6 b
Tratamento C	59,6 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

4.7. Digestibilidade da Fibra Detergente Ácida das Dietas

Os tratamentos tiveram efeito significativo ($P \leq 0,01$) sobre o coeficiente de digestibilidade da fibra detergente ácida, assim como também foi significativo ($P \leq 0,05$) o efeito de animais e períodos (Tabela 22).

A similaridade entre os fatores que afetaram os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e da fibra detergente ácida sugere que o aumento na digestibilidade desta foi o principal responsável pelas alterações na digestibilidade da matéria seca. Este fenômeno é bastante provável por coincidir com o fato de que os efeitos dos tratamentos incidem principalmente sobre parâmetros que interferem no aproveitamento das constituintes da parede celular pelas bactérias.

Tabela 22. Análise da variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente ácida.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,0008
Animal dentro de quadrado 1	2	0,0051*
Animal dentro de quadrado 2	2	0,0006*
Animal dentro de quadrado	4	0,0005*
Período	2	0,0165**
Tratamento	2	0,0120**
Resíduo	8	0,0012
TOTAL	17	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. = 8,11%

** ($P \leq 0,01$)

Os dados dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente ácida em função dos tratamentos estão relacionados na Tabela 23. Poucas informações existem na literatura sobre valores de digestibilidade das frações fibrosas do bagaço de cana hidrolisado. As informações disponíveis dizem respeito a trabalhos conduzidos para avaliar o efeito de diferentes tratamentos sobre este resíduo. OJI & MOWAT (1979) trabalharam com bagaço de cana *in natura*, bagaço de cana amoniado sob duas temperaturas (21 e 90°C) e bagaço de cana tratado a pressão e vapor. Os coeficientes de digestibilidade da fibra detergente ácida obtidos foram

52,9; 56,9 e 54,5% respectivamente. Se levado em consideração que estes dados foram obtidos *in vitro*, eles estão de acordo com os apresentados na Tabela 23. Resultados também semelhantes foram obtidos por PATE (1982) que determinou que o coeficientes de digestibilidade para a fibra detergente ácida de um bagaço tratado a uma pressão de 19 kgf/cm^2 durante 4,3 minutos era de 59,7%, determinação está também feita *in vitro*.

Tabela 23. Coeficientes de digestibilidade (CD) da fibra detergente ácida em função dos tratamentos.

	CD
Tratamento A	39,5 a
Tratamento B	42,0 a
Tratamento C	48,2 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

4.8. Digestibilidade da Fibra Detergente Neutra das Dietas

Assim como ocorreu para matéria seca e fibra detergente ácida o coeficiente de digestibilidade da fibra detergente neutra também foi afetado pelos tratamentos e períodos ($P < 0,01$) e pelos animais ($P < 0,05$) (Tabela 24).

Tabela 24. Análise de variância dos dados dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente neutra.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,0004
Animal dentro de quadrado 1	2	0,0044*
Animal dentro de quadrado 2	2	0,0080*
Animal dentro de quadrado	4	0,0062*
Período	2	0,0209**
Tratamento	2	0,0141**
Resíduo	8	0,0012
TOTAL	17	

* ($P \leq 0,05$)

Coef. var. = 7,97%

** ($P \leq 0,01$)

O fato do tratamento a pressão e vapor modificar completamente a fração hemicelulose do bagaço *in natura*, transformando-a em componentes mais solúveis, e por outro lado não afetar as frações lignina e celulose (KLOPFENSTEIN, 1978), resulta que a fibra detergente neutra deste material seja bastante parecida com a fibra detergente ácida, como pode ser constatado pela análise bromatológica do bagaço utilizado neste experimento (Tabela 5). Desta forma o comportamento destas duas frações na dieta em questão, é justificadamente semelhante, salvo pequenas alterações determinadas pela participação do feno na dieta.

A Tabela 25 apresenta as médias dos coeficientes de digestibilidade da fibra detergente neutra em função dos tratamentos.

Tabela 25. Coeficientes de digestibilidade (CD) da fibra detergente neutra em função dos tratamentos.

	CD
Tratamento A	41,2 a
Tratamento B	43,5 a
Tratamento C	50,5 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

4.9. Balanço de Nitrogênio

O balanço de nitrogênio não sofreu qualquer alteração em função dos tratamentos, períodos ou animais (Tabela 26). Este fato fortalece a sugestão feita anteriormente de que, pelo fato da uréia se hidrolisar rapidamente, as quantidades fornecidas podem exceder em alguns momentos a capacidade de utilização de amônia pelos microrganismos, principalmente nas primeiras horas, determinando uma perda do nitrogênio fornecido. A provável perda de amônia a nível de rúmen equiparou os tratamentos em termos de quantidade de nitrogênio fornecido e retido pelo animal (Tabela 27).

Tabela 26. Análise de variância dos dados do balanço nitrogenado.

CV	GL	QM
Quadrado	1	0,35
Animal dentro de quadrado 1	2	28,02
Animal dentro de quadrado 2	2	146,42*
Animal dentro de quadrado	4	87,22
Período	2	61,46
Tratamento	2	36,61
Resíduo	8	33,70
TOTAL	17	

* ($P \leq 0,05$)

Coef.var. = -62,09%

Tabela 27. Balanço nitrogenado, em g e em função dos tratamentos.

	g
Tratamento A	-6,64 a
Tratamento B	-9,92 a
Tratamento C	-11,48 a

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, a nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

5. CONCLUSÕES

1. A suplementação de uréia acima das exigências mínimas de manutenção determinou um efeito benéfico na fermentação ruminal através de uma maior disponibilidade de amônia, o que elevou a digestibilidade da dieta.

2. Este efeito poderia ser maximizado através de um fornecimento mais freqüente da dieta, ou através de uma fonte menos solúvel de nitrogênio não protéico, que determinaria uma maior uniformidade na concentração de amônia ruminal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLISON, M.J., 1982. Nitrogen requirement of ruminal bacteria. In: **Protein Requirements for Cattle: Symposium.** Oklahoma State University.
- ALPERS, D.H., 1986. Uptake and fate of absorbed amino acids and peptides in the mammalian intestine. **Federation Proceedings.** 45(8):2261.
- A.O.A.C., 1960. **Official methods of analysis.** 9rd Ed. Washington DC.
- BALCH, D.A. & S.J. ROWLAND, 1957. Volatile fatty acids and lactic acid in the rumen of dairy cows receiving a variety of diets. **Brit. J. Nutr.,** 11:288.
- BALDWIN, R.L. & M. ALLISON, 1983. Rumen metabolism. **J. Anim. Sci.** 57(Suppl 2):461.
- BERGEN, W.G., 1986. Postruminal digestion and absorption of nitrogenous components. **Federation Proceedings,** 37(5): 1223.
- BLAXTER, K.L., 1962. **The energy metabolism of ruminants.** Hutchinson Co. Ltd., London.

- BLOOMFIELD, R.A.; G.B.GARNER & M.E.MUHER, 1960. **J.Anim.Sci.** **19**(4)(Abstr.):1248.
- BOIN, C., 1985. Efeitos desfavoráveis da utilização da uréia. **Anais do 2º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos.** Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz". Piracicaba, SP.
- BRIGGS, P.K.; J.P.HOGAN & R.L.REID, 1957. The effect of volatile fatty acids, lactic acid, and ammonia on rumen pH in sheep. **Austr.J.Agric.Res.**, 8:674.
- BRYANT, M.P. & I.M.ROBINSON, 1962. Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria **J.Bacteriol**, **84**:605.
- BRYANT, M.P., 1973. Nutritional requirements of predominant cellulolytic bacteria. **Fed.Proc.** **32**:1809.
- BULL, L.S.; W.G.HELFERICH; T.S.HOLLENSHADE & T.F. SWEENEY, 1975. Protein solubility, source and ruminant protein synthesis. **Proc. XIII Conf. on Rumen Function**, Chicago, IL.
- BURGI, R., 1985. Produção de bagaço de cana de açúcar (*Saccharum* sp L.) auto-hidrolisado e avaliação do seu valor nutritivo para ruminantes. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz").
- BURROUGHS, W.; C.ARIAS; P.dePAUL, P.GERLANCHI & R.M. BETHKE, 1951. In vitro observation upon the nature of protein

- influences upon urea utilization by rumen microorganisms.
J. Anim. Sci. 10:672.
- CAMPBELL, C.M.; O.WAYMAN; R.W.STANLEY; L.S.KAMSTRA; S.E. OL-
 BRICH; E.B., HO-A & T.NAKAYAMA, 1973. Effects of pressure
 treatment of sugar cane bagasse upon nutrient utilization
 Proc.Wistern Sec Asas EVA, **24**:178.
- CAMPLING, R.C.; M.FREER & C.C.BALCH, 1962. Factor affecting
 the voluntary intake of foods by cows B. the effect of
 urea on voluntary intake of oat straw. **Brit.J.Nutr.** 16:
 115.
- CHALUPA, W., 1976. Degradation of amino acids by the mixed
 rumen microbial population. **J. Anim. Sci.**, **43**:828 .
- CHAMBERLAIN, D.G.; P.C.THOMAS & A.G.WILSON, 1976. Efficiency
 of bacterial protein synthesis in the rumen of sheep
 receiving a diet of sugar beet pulp and barley. **J. Sci.**
Food Agr., **27**:231.
- CHESSON, A. & E.R.ORSKOV, 1985. Microbial degradation in
 digestive tract. In: SUNDSTOL, F. & E.OWENS, 1985. Straw
 and other fibrous by products as feed.
- CHURCH, D.C., 1969. **Digestive physiology and nutrition of**
ruminants. vol. 1 (Second ed.) O and B Books Inc.,
 Corvallis.
- CLARK, J.H., 1982. Microbial nitrogen flow to the small
 intestine of ruminantes. In: **Protein Requeriment for**
Cattle: Symposium. p. 166. Oklahoma State University.

CLARK, J.H. & C.L.DAVIS, 1984. Forages and "butters".

Animal nutrition and health. sep-out.

CONN, E.E. & P.K.STUMPF, 1975. **Introdução a bioquímica.** Ed.

Edgar Blucher. São Paulo, SP.

COOMBE, J.B. & D.E.TRIEBE, 1962. The feeding of urea supplements to sheep and cattle: The results of penned feeding and grazing experiments. **J.Agric.Sci.** 59:125.

COPPOCK, C.E.; W.P.FLATT & L.A.MOORE, 1964. Relationship between and products of rumen fermentation and utilization of metabolizable energy for milk production. **J.Dairy Sci.** 47:1359.

DASS, R.S.; D.N.VERNA; V.R.MEHRA; N.KUMAR & V.B.SINGH, 1983. Effect of feeding ammoniated bagasse with varying levels of molasses on volatile fatty acid and bacteria production in the rumen of cross-bred cattle. **J.Nuclear Agric.Biol.** 12:25.

FARIA, V.P., 1982. Efeito de níveis de energia e de proteína sobre a fermentação no rumen, a digestibilidade de princípios nutritivos e o desaparecimento da matéria seca de forragens na fermentação *in vitro* e em sacos suspensos no rumen. (Livre Docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz").

GILL, J.L., 1978. Design and analysis of experiments. In: **The animal and medical Science.** The Yowa State University Press. Yowa-USA.

- GOMES, F.P., 1981. **Curso de estatística experimental**. 9 ed. São Paulo, Nobel.
- FONDAGER, J., 1977. Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation. (PhD. Thesis - Michigan State University).
- HAALAND, G.L.; H.F.TYRRELL; P.W.MOE & W.E.WHEELER. Effect of crude protein level and limestone buffer in diet fed at two levels of intake on rumen pH, ammonia-N, buffering capacity and volatile fatty acid concentration of cattle **J.Anim.Sci**, 55(4):943.
- HACKETTE, S.L.; G.E.SKYE; C.BURTON & I.H.SEGEL, 1970. Characterization of ammonium transport system in filamentous fungi with methyl ammoniated ^{14}C as the substrate. **J.Biol.Chem.** 245:4241.
- HARRIS Jr., B., H.H.VAN HORN; K.E.MANOOKIAN, S.P. MARSHALL; M.J.TAYLOR & C.J.WILCOX, 1983. Sugarcane silage, sodium hydroxide and steam pressure treated sugarcane bagasse, corn silage, cotton seed hulls, sodium bicarbonate and *Aspergillus oryzae* product in complete rations for lactating cows. **J.Dairy Science**, 66(7):1474.
- HESPELL, R.B. & M.P.BRYANT, 1979. Efficiency of rumen microbial growth influence of some theoretical and experimental factor in Y ATP. **J.Anim.Sci.** 49:1640.

- HOGAN, J.P. & R.H.WESTON, 1969. The digestion of pasture plants by sheep. III. The digestion of forage oats varying in maturity and in the content of protein and soluble carbohydrate. **Austr.J.Agric.Res.**, 20:347.
- HOGAN, J.P., 1975. Simposium: Protein and amino acid nutrition in the high production cow. **J.Dairy Sci.** 58: 1164.
- HUBER, J.T. & J.W.THOMAS, 1971. Urea treated corn silage in low protein rations for lacting cows. **J.Dairy Sci**, 54: 224.
- HUBER, J.T. & L.KUNG JR., 1981. Protein and non protein nitrogen utilization in dairy cattle. **J.Dairy Sci**, 64: 1170.
- HUME, I.D., 1970. Synthesis of microbial protein in the rumen. III. The effect of dietary protein. **Austr. J. Agr.Res.**, 21:305.
- HUME, I.D.; R.J.MOIR & M.SOMERS, 1970. Synthesis of microbial protein in the rumen. I. Influence of level of nitrogen intake. **Austr.J.Agr.Res.**, 21:283.
- HUNGATE, R.E., 1966. **The rumen and its microbes.** Academic Press. New York.
- JONES, G.A., 1969. Ureolytic rumen bacteria. In: BRIGGS, M. H. **Urea as a protein supplement.** Pergamon Press. Oxford.
- KULASECK, G.A., 1972. Micro method for determination of urea

- in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. **Polish Arch West**, 15:801.
- LESOING, G.; I.RUSH; T.KLOPFENSTEIN & J.WARD, 1980a. Wheat straw in growing cattle diets. **J.Animal Sci.** 51(2):257.
- LESOING, G.; T.KLOPFENSTEIN, I.RUSH & J.WARD, 1980b. Chemical treatment of wheat straw. **J.Anim.Sci.** 51(2):263.
- LINDSAY, J.R. & J.P.HOGAN, 1972. Digestion of two legumes and rumen bacterial growth defaunated sheep. **Austr.J. Agr. Res.** 23:321.
- MACHADO, O.L.T., 1982. Descompressão rápida como pré-tratamento de madeira para hidrólise enzimática (Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro).
- MARSHALL, D.S. & W.H.HOOVER, 1979. Methods for determining and factor affecting rumen microbial protein synthesis: a review. **Journal of Anim.Sci.** 49(6):1590.
- MATHISON, G.W. & L.P.MILLIGAN, 1971. Nitrogen metabolism in the sheep. **Brit.J.Nutr.** 25:351.
- MCDONALD, I.W., 1952. The role of protein in animal digestion of protein. **Biochemical J.** 51:86.
- McMANIMAN, N.P. & D.G.ARMSTRONG, 1977. Nitrogen levels in low-roughage diets for efficient rumen microbial protein production. **Anim.Feed Sci. Tech.** 2:225.

MEHREZ, A.Z., E.R.ORSKOV & I.McDONALD, 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **Brit. J.Nutr.** 38:437.

MURPHY, M.R.; R.L.BALDWIN & L.J.KOONG, 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentration diets. **J.Anim.Sci.** 55(2):411.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1978. Washington DC. nutrient requirement of dairy cattle, Washington DC, National Academy of Sciences.

OKORIE, A.U.; P.J.BUTERRY & D.LEWIS, 1977. Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen. **Proc. Nutr.Sci.** 36:38A (Abstr.).

ORSKOV, E.R.; C.FRASER & I.McDONALD, 1972. Digestion of concentrates in sheep. IV. The effect of urea on digestion, nitrogen retention and growth of young lambs. **Brit.J.Nutr.** 27:491.

ORTEGA, M.E.; M.D.STERN & L.D.SATTER, 1979. The effect of rumen ammonia concentration on dry matter disappearance in situ. **J.Dairy Sci.** 62(Suppl. 1):76 (Abstr.).

OWENS, F.N. & W.G.BERGEN, 1983. Nitrogen metabolism of ruminants animals: historical perspective, current understanding and future implications. **J.Anim.Sci.** 57 (Suppl.2):498.

PATE, F.M., 1982. Value of treating bagasse with steam under pressure for cattle feed. **Trop.Agric.** Trinidad. 59(14):203.

- PEARSON, R.M. & J.A.B.SMITH, 1943. The utilization of urea in the bovine rumen. 2. The conservation of urea to ammonia. *The Biochemical Journal.*, 37:148.
- PITTMAN, K.A.; S.LAKSHMANAN & M.P.BRYANT, 1967. Oligopeptide uptake by bacteroides ruminicola. *J.of Bacteriol.* 93 (2):1494.
- PORTUGAL, A.V. & T.M.SUTHERLAND, 1966. Metabolism of glutamic and aspartic acid in whole rumen contents. *Nature*, 209:510.
- PRIGGE, E.C.; M.L.GALYEAN; F.N.OWENS; D.G.WAGNER & R.R. JOHNSON, 1978. Microbial protein synthesis in the steers fed processed corn rations. *J.Anim.Sci.* 46:249.
- PRITCHARD, R.H. & J.R.MALES, 1985. Effect of crude protein and ruminal ammonia-N on digestibility and ruminal out-flow in beef cattle fed wheat straw. *J.Anim.Sci.* 60:822.
- RANDEL, P.F. & A.RAMIREZ, 1972. Alkali-treated and raw sugarcane bagasse as roughages in complete rations for lactations cows. *J.Dairy Sci.* 55(10):1492.
- SATTER, L.D. & L.L.SLYDER, 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *Brit.J.Nutr.* 32:199.
- SAVER, F.D.; J.D.ERFLE; S.MAHADEVAN & J.R.LESSARD, 1979. Urea in corn silage as a supplemental nitrogen source for lacting cows. *Canadian. J.Anim.Sci.* 59:403.
- SMITH, R.H., 1979. Synthesis of microbial nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion. *J.Anim.Sci.* 49(6):1604.

- STERN, M.D. & L.D.SATTER, 1980.. *In vivo* estimation of protein degradability in the rumen. **In: Protein requirement for cattle: Symposium.** p.57-71. Oklahoma State University.
- SUTTON, J.D. & V.W.JOHNSON, 1969. Fermentation in the rumen of cows given rations containing hay and flake mayze or rolled barley in widely different proportions. **J. Agric. Sci. (Camb), 73:459.**
- TAMMINGA, S., 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal Animal Science, 4(6):1615.**
- THEANDER, O. & AMAN, P., 1984. Anatomical and chemical characteristics. **In: Straw and other fibrous by-products as feed.** Elsevier Sci.Publ.Comp.Inc. New York.
- UTLEY, P.R. & W.C.McCORMICK, 1972. Level of peanut hulls as a roughage source in beef cattle finishing diets. **J.Anim. Sci. 34(1):146.**
- VAN SOEST, P.J., 1963. Use of detergent in the analisis of fibrous feed. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **J.A.O.A.C. 46:829.**
- VAN SOEST, P.J., 1983. **Nutricional ecology of the ruminant.** O & B Books Inc., Corvallis, Oregon.
- VIEIRA, A.M.; G.K.McLEOD; J.H.BURTON & J.G.STONE, 1980. Nutrition of weaned holstein calf. II Effect of dietary protein level on rumen metabolism. **J.Anim.Sci. 50:937.**

- WISEK, W.J., 1968. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. *J.Dairy Sci.* 51(2):286.
- WEIDMEIER, R.D.; J.R.MALES & C.T.GASKINS, 1983. Effects of dietary crude protein on the dry matter digestibility of wheat straw diets in cattle. *J.Anim.Sci.* 57:1568.
- WELLER, R.A.; F.V.GRAY & A.F.PILGRIM, 1958. The conversion of plant nitrogen to microbial nitrogen in the rumen of sheep. *Brit.J.Nutr.* 12:421.
- WELLER, R.A.; A.F.PILGRIM & F.V.GRAY, 1962. Digestion of feedstuffs in the rumen of sheep and the passage of digesta through its compartments. 3. The progress of nitrogen digestion. *Brit.J.Nutr.* 16:83.
- WHITE, T.W.; F.G.HEMBRY & W.L.REYNOLDS, 1975. Influence of feeding rice straw and urea supplementation with whole and ground corn on feed lot performance, rate of passage and digestibility by steers. *J.Anim.Sci.* 41(4):1180.
- WRIGHT, D.E., 1967. Metabolism of peptides by rumen microorganisms. *Appl.Bacteriol.* 15:547.
- YOKOYAMA, M.T. & K.A.JOHNSON, 1985. Microbiology of the rumen and lower intestine. Curso de Microbiologia do rúmen. Michigan State University.