RESÍDUO DE CERVEJARIA UMIDO : FORMAS DE CONSERVAÇÃO
E EFEITOS SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS

MILTON LUIZ MOREIRA LIMA

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

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: Ciência Animal e Pastagens.

Piracicaba

Estado de São Paulo - Brasil

Setembro - 1993

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

Lima, Milton Luiz Moreira
L732r Resíduo de cervejaria úmido: formas de conservação
e efeitos sobre parâmetros ruminais. Piracicaba,
1993.
98p. ilustr.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Ácido fórmico 2. Resíduo úmido de cervejaria - A
ditivo - Efeito 3. Rúmen - Fermentação 4. Subproduto
para ruminante I. Escola Superior de Agricultura Luiz
de Queiroz, Piracicaba

CDD 628.54
636.2084

RESÍDUO DE CERVEJARIA ÚMIDO: FORMAS DE CONSERVAÇÃO E
EFEITOS SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS

MILTON LUIZ MOREIRA LIMA

Aprovada em : 16 . 11 . 1993

Comissão Julgadora :

Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

ESALQ/USP

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado

ESALQ/USP

Prof. Dr. Carlos de Souza Lucci

FMVZ/USP

Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

Orientador

DEDICATÓRIA

A minha mãe Helenice, pelo amor e batalha
incansável pela minha educação.

DEDICO

A Deborah, pelo amor, carinho e apoio nos momentos mais difíceis,

OFEREÇO

Ao meu Pai Milton, meu irmão Nelson Henrique e meu filho Thiago.

SALDADES

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos pela orientação, paciência, ensinamentos e amizade.
- Ao Prof. Dr. Paulo Fernando Machado pelo incentivo, ensinamentos e especialmente a amizade.
- Ao Prof. Dr. Celso Boin pelos incentivos e ensinamentos.
- Aos demais professores do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP pelo apoio fundamental no desenvolvimento de minhas atividades durante o curso de Mestrado.
- Aos estagiários Alfredo Pereira Ribeiro e Denise Ventura pelo auxílio e responsabilidade na condução do experimento.
- A todos os colegas do curso de pós-graduação, em especial a Francisco Larizatti Machado, José Carlos de Francisco Junior e Agostinho Ludovico, pela amizade e companherismo.
- Ao Auxiliar de Laboratório Carlos César Alves pela amizade e auxílio nas análises bromatológicas.
- A Sônia Maria Delfini, secretária do Departamento de Zootecnia, pela amizade e companherismo.
- Ao Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP pela concessão dos animais e parte do alimentos necessários para condução do experimento.
- A Cervejarias Reunidas Skol Caracu Ltda. - Rio Claro - SP, pela doação do resíduo de cervejaria.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.
- A FAPESP pelo financiamento parcial do experimento.

INDICE

	Página
DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	<u>viii</u>
RESUMO	ix
SUMMARY	xi
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 - Obtenção e características do R.U.C.	4
2.2 - Utilização do R.U.C. para produção de leite	9
2.3 - Fatores limitantes a utilização do R.U.C.	11
2.3.1 - Transporte do R.U.C.	11
2.3.3 - Consumo de matéria seca em dietas com R.U.C.	12
2.3.3 - Conservação aeróbica do R.U.C.	13
2.4 - Utilização do aldeído fórmico	15
3 - MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Local	18
3.2 Conservação aeróbica do R.U.C.	18
3.2.1 Tratamentos	18
3.2.2 Análises efetuadas	19
3.2.3 Delineamento estatístico	20
3.3 Experimento com animais fistulados	22
3.3.1 Animais	22
3.3.2 Tratamentos	22
3.3.3 Período experimental	24
3.3.4 Análises efetuadas	25
3.3.4.1 Componentes da ração e sobras	25
3.3.4.2 Parâmetros ruminais	25
3.3.4.3 pH ruminal	26
3.3.4.4 Nitrogênio amoniacal	26

3.3.4.5	Ácidos graxos voláteis	26
3.3.4.6	Protozoários	27
3.3.4.7	Taxa de passagem de fluidos e volume ruminal	28
3.3.4.8	Desaparecimento da casca de soja	30
3.5	Delineamento estatístico	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	Experimento I - Conservação do R.U.C.	34
4.1.1	Níveis de aplicação de aditivos	34
4.1.2	Crescimento de fungos	34
4.1.3	Temperatura da superfície	38
4.1.4	pH da superfície e nitrogênio amoniacal	43
4.1.5	pH da sub-superfície	47
4.1.6	Nitrogênio total	48
4.1.7	Carboidratos solúveis	50
4.2	Experimento II - Parâmetros ruminais	51
4.2.1	Variação no peso vivo dos animais	51
4.2.2	Composição das rações e sobras	51
4.2.3	Consumo médio de matéria seca e água	54
4.2.4	pH ruminal e nitrogênio amoniacal	61
4.2.5	Ácidos graxos voláteis	67
4.2.6	Contagem total de protozoários e desaparecimento <i>in situ</i> da casca de soja	69
4.2.7	Taxa de passagem e volume ruminal	73
5	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
	APÊNDICE	89

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Temperatura média da superfície, para os quatro tratamentos, nos diferentes dias	40
Figura 2 - pH médio da superfície, para os quatro tratamentos, nos diferentes dias	45
Figura 3 - Concentração média de nitrogênio amoniacal (% N total), para os quatro tratamentos, nos diferentes dias	46
Figura 4 - Nitrogênio total (% da matéria original), para os quatro tratamentos, nos diferentes dias	49
Figura 5 - Valores médios de pH ruminal, para os três tratamentos, nos diferentes horários	62
Figura 6 - Valores médios de nitrogênio amoniacal, para os três tratamentos, nos diferentes horários	66
Figura 7 - Contagem média de protozoários totais por mililitro para os três tratamentos, nas diferentes horas.	72

	vi
nos diferentes tratamientos.	74

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Comparação entre composição bromatológica média da matéria prima da fabricação de cerveja e R.U.C. de diferentes procedências	5
Tabela 2 - Composição porcentual das rações experimentais (base da MS)	23
Tabela 3 - Composição porcentual das duas diferentes formulações de concentrado (base matéria original).	23
Tabela 4 - Composição porcentual da mistura mineral	24
Tabela 5 - Níveis de aplicação de aldeído fórmico e ácido fórmico utilizados no experimento de conservação do R.U.C..	34
Tabela 6 - Resultados médios para o crescimento de fungos	35
Tabela 7 - Resultados para temperatura, matéria seca, pH superfície, pH sub-superfície nos diferentes tratamentos.	41
Tabela 8 - Resultados para nitrogênio total, nitrogênio amoniacal e carboidratos solúveis nos diferentes tratamentos.	44
Tabela 9 - Variação de peso vivo dos animais nos três períodos experimentais (quilogramas).	52
Tabela 10 - Composição bromatológica média dos diferentes componentes das rações experimentais.	53
Tabela 11 - Participação porcentual programada e encontrada dos diferentes componentes das rações experimentais durante o período experimental.	55
Tabela 12 - Composição bromatológica média das rações fornecidas	56
Tabela 13 - Composição bromatológica média das sobras das três rações fornecidas	57
Tabela 14 - Consumo médio diário de matéria seca e água para as três rações estudadas.	58
Tabela 15 - Resultados médios para o pH ruminal e nitrogênio amoniacal para as três rações estudadas.	61
Tabela 16 - Resultados médios para os ácidos graxos voláteis obtidos nos três tratamentos	68
Tabela 17 - Resultados médios de contagem de protozoários, balanço de fermentação ruminal e degradação <i>in situ</i> de casca de soja.	70
Tabela 18 - Taxa de passagem média da fase líquida e volume ruminal médio	

LISTA DE ABREVIATURAS

R.U.C. - Resíduo úmido de cervejaria
R.D.C. - Resíduo desidratado de cervejaria
R.C. - Resíduo de cervejaria
R.D.D.S. - Resíduo desidratado de destilaria com solúveis
L.I.C. - Levedura industrial de cervejaria
E.N.N. - Extrativos não nitrogenados
F.D.A. - Fibra em detergente ácido
F.D.N. - Fibra em detergente neutro
N-F.D.A. - Nitrogênio ligado a F.D.A
N-F.D.N. - Nitrogênio ligado a F.D.N.
N.D.T. - Nutrientes digestíveis totais
ELl - Energia líquida de lactação
ELm - Energia líquida de manutenção
ELg - Energia líquida de ganho

RESÍDUO DE CERVEJARIA ÚMIDO : FORMAS DE CONSERVAÇÃO
E EFEITOS SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS

Autor: Milton Luiz Moreira Lima

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

RESUMO

Um primeiro trabalho, teve como objetivo avaliar os efeitos do aldeído fórmico (FOR), ácido fórmico (AF) e levedura de indústria cervejeira (LIC) sobre a conservação aeróbica do resíduo úmido de cervejaria (RUC). Os tratamentos, distribuídos em dois blocos e com comparação entre médias pelo teste de Duncan, foram: Trat. A - RUC; Trat. B - 85% RUC + 15% LIC (p/p), Trat. C - RUC + 0,6% de formalina comercial (37% de FOR) e; Trat. D - RUC + 0,7% de uma mistura 2:1 de formalina comercial e ácido fórmico (v/v).

O RUC foi armazenado em baldes plásticos com 6,5 litros de capacidade, em condições de temperatura ambiente, por 0, 3, 7 e 10 dias. A temperatura da superfície, pH da superfície (pH sup.), pH da sub-superfície (pH ssup.), carboidratos solúveis (CHO sol.), matéria seca (MS), nitrogênio total (N-total), nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e crescimento de fungos foram utilizados como parâmetros para avaliação das condições de conservação.

A partir dos resultados obtidos conclui-se que, a conservação aeróbica do RUC não foi afetada significativamente pela inclusão da LIC mas, o aldeído fórmico e ácido fórmico melhoraram significativamente sua conservação quando considera-se a menor intensidade de crescimento de fungos, os menores valores médios de temperatura e pH da superfície e maior porcentagem de matéria seca nos tratamentos C e D.

O segundo trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da utilização do aldeído fórmico (FOR) como conservante do resíduo de cervejaria úmido (RCU) sobre parâmetros fisiológicos e microbiológicos do

rúmen. Em um delineamento quadrado latino 3 X 3, com diferenciação entre médias pelo teste de Duncan ($P < 0,05$), foram comparados três tratamentos.

As rações experimentais, fornecidas "ad libitum" para três bovinos, fêmeas, equipados com cânulas no rúmen, foram: Trat. A - silagem de sorgo 60% + concentrado 1 - 40 %; Trat. B - silagem de sorgo 60% + concentrado 2 - 25% + RCU 15%; Trat. C - silagem de sorgo 60% + concentrado 2 - 25% + RCU tratado com 0,52% de formalina comercial (37% de FQR) 15% . As rações, isocalóricas e isonitrogenadas, apresentavam 13% de P.B., 68,0 de N.D.T. e 25,0% de F.D.A.

O consumo de matéria seca como uma porcentagem do peso vivo foi significativamente menor ($P < 0,05$) no tratamento C (2,05%) em relação ao tratamento A (2,39%) enquanto que esta diferença não se verificou em relação aos tratamentos A e B.

Os três tratamentos diferiram significativamente ($P < 0,05$) entre si em relação ao pH ruminal (Trat. A = 6,54 ; Trat. B = 6,61 e Trat. C = 6,74) e concentração de ácido butírico (Trat. A = 1,28 mmol/dl; Trat. B = 0,97 mmol/dl e Trat. C = 0,72 mmol/dl). A concentração de ácido acético foi significativamente menor no tratamento C ($P < 0,05$) em relação aos tratamentos A e B. Os demais parâmetros ruminiais estudados (nitrogênio amoniacal, taxa de passagem de fluido, contagem total de protozoários e desaparecimento *in situ* da casca de soja) não foram afetados de forma significativa pelos tratamentos.

Pode-se concluir que a utilização do aldeído fórmico para conservação do R.U.C. afeta negativamente a fermentação ruminal com possíveis prejuízos para o desempenho animal.

WET BREWERS GRAINS: CONSERVATION AND
EFFECTS ON RUMINAL FERMENTATION.

Author: Milton Luiz Moreira Lima

Adviser: Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos

SUMMARY

The objective of the first trial was to determine the influence of formaldehyde (FOR), formic acid (FA) and brewers yeast slurry (BYS) on the aerobic stability of wet brewers grains (WBG), in the following combinations of the treatment:

- WBG
- 85% WBG + 15% BYS (w/w);
- WBG + 0,6% formalin (37% formaldehyde);
- WBG + 0,7% of a mix 2:1 of formalin and formic acid (v/v).

For aerobic storage, the WBG was compacted in plastic pails and exposed to air at room temperature for 0, 3, 7 e 10 days. The samples were taken from the surface (0-12 cm) and subsurface (12-24 cm) to measure temperature and pH, and samples from the whole content were taken to determine for water soluble carbohydrate (WSC), dry matter (DM), total nitrogen (total-N), ammoniacal-nitrogen (N-NH⁴). Fungi growth was also monitored.

Results from this study indicate that the aerobic stability of the WBG is not affected significantly by the inclusion of BYS but, the inclusion of formaldehyde and mix formaldehyde-formic acid improved the aerobic stability when were considering the low fungi growth, low surface temperature and pH; high dry matter for the treatments C and D were taken into account.

The objective of the second trial was to determine the influence of formaldehyde treated WEG (0,19% DM) on the physiological and microbiological parameters in the rumen. Three rumen-fistulated, non-lactating dairy cows, were used in a 3 X 3 Latin Square design. The three experimental diets, on a dry matter basis, were:

- A) 60% sorghum silage + 40% concentrate 1
- B) 60% sorghum silage + 25% concentrate 2 + 15% WEG
- C) 60% sorghum silage + 25% concentrate 2 + 15% WEG with 0,52% of formalin (37% formaldehyde).

Dry matter intake, as a percentage of live weight, was significantly low ($P < 0,05$) in the treatment C (2,05%) in comparison with the treatment A (2,39%), while in treatments A and B there were no differences in dry matter intake.

The ruminal pH differed between the three treatments with the higher value for the treatment C (6,74) followed by treatments B (6,61) and A (6,54) and also, the butyric acid concentration was different for the treatments (A = 1,28 mmol/dl ; B = 0,97 mmol/dl ; C = 0,72 mmol/dl). The acetic acid concentration was significative lower in the treatments C ($p < 0,05$) than in treatments A and B. The other ruminal parameters studied (amoniacal-nitrogen, ruminal fluid dilution rate, total protozoa counting and "in situ" insoluble degradation of soybeans hulls) weren't affected significantly by the different treatments.

It may be possible to conclude that the utilization of formic formaldehyde for the R.U.C. conservation affects negatively the ruminal fermentation with possible damages for the animal performance.

1. INTRODUÇÃO

Nos países em desenvolvimento a baixa produtividade de grãos acentua o problema de competição por alimentos entre o homem e os animais domésticos. Nessas condições, há uma grande ênfase em pesquisas destinadas a estudar o aproveitamento de alimentos que não são convencionalmente utilizados na alimentação humana. Dessa forma, os resíduos agroindustriais, em função do seu baixo custo e disponibilidade, constituem-se numa alternativa para alimentação animal.

Anualmente no Brasil milhões de toneladas de subprodutos estão disponíveis para alimentação animal, entretanto, muitas vezes por desconhecimento da melhor forma de utilização desses subprodutos, perde-se recursos valiosos para produção de alimentos de alto valor como as proteínas de origem animal.

Entre as espécies economicamente exploradas no processo de produção animal, os ruminantes possuem o maior potencial para o aproveitamento desses subprodutos porque características peculiares de seu aparelho digestivo e simbiose com microrganismos permitem uma utilização eficiente resíduos agroindustriais em sua alimentação.

Entre os subprodutos da agroindústria, os originários das indústrias de fabricação de cerveja merecem um destaque especial, principalmente por seu valor nutritivo e disponibilidade para propriedades próximas às indústrias. O resíduo úmido de cervejaria (R.U.C.), como principal representante desses subprodutos, é tradicionalmente utilizado no Brasil e em outras regiões do mundo como parte da ração de bovinos leiteiros, principalmente vacas em lactação.

A grande disponibilidade permite muitas vezes que R.U.C. seja adquirido a preços competitivos com outras fontes protéicas mais comuns, como os farelos de soja e algodão, contribuindo para uma redução nos custos de alimentação.

Em algumas situações a utilização do R.U.C. é associada a um aumento

na eficiência de utilização de nutrientes da dieta, possivelmente relacionado a uma baixa degradabilidade da fração protéica e valor energético desse subproduto.

Além disso, o R.U.C. apresenta em sua composição química uma porcentagem de carboidratos estruturais elevada quando comparado ao farelo de soja e outros concentrados protéicos. A fração de carboidratos estruturais desse subproduto é composta principalmente por celulose e hemicelulose com teores baixos de lignina, caracterizando-se portanto, como uma fonte de fibra de excelente qualidade e tornando sua utilização de particular interesse na formulação de rações para vacas leiteiras de alta produção, por permitir um balanço mais adequado entre os níveis de fibra e energia.

No entanto este subproduto possui limitações quanto a sua utilização. O R.U.C. comercializado no Brasil apresenta um percentual de umidade muito elevado (85 a 91 %), o que dificulta sua conservação, inviabiliza o seu transporte por longas distâncias e limita sua utilização na alimentação de vacas leiteiras, onde a porcentagem de MS da dieta pode representar um fator regulador do consumo de alimentos.

O uso de técnicas para conservação do R.U.C. é o objeto de estudo de alguns pesquisadores. Várias alternativas são propostas, e a utilização de aditivos para conservação aeróbica ou a conservação na forma de ensilagem são técnicas empregadas com sucesso em algumas situações. Os resultados são satisfatórios com a utilização de aditivos, mas esta prática muitas vezes tem sua viabilidade econômica questionada em função do custo do aditivo utilizado.

Torna-se dessa forma interessante a busca de alternativas de menor custo para conservação do R.U.C. de forma a viabilizar sua utilização sem prejuízos para o desempenho animal.

O aldeído fórmico é um aditivo químico de baixo custo com propriedades bacteriostáticas e fungistáticas, que ainda não foi avaliado para a conservação aeróbica do R.U.C.. Esse produto é aplicado em função do nível de proteína do alimento a ser conservado, mas seus efeitos sobre o padrão fermentação ruminal são pouco estudados até o momento.

O objetivo desse trabalho foi estudar a utilização do aldeído fórmico, sozinho ou em mistura com o ácido fórmico como aditivos para conservação

aeróbica do R.U.C. e testar os efeitos da utilização do aldeído fórmico sobre o padrão de fermentação ruminal e população de protozoários do rúmen.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.) Obtenção e características do R.U.C.

O R.U.C. é um subproduto produzido em grandes volumes por indústrias cervejeiras do mundo todo. Estimativas de STOKES(1977), indicam que para cada 1.000 litros de cerveja são obtidos 52 kg de R.D.C.(89 % de MS) ou 350 kg de R.U.C.(13 % de MS). Considerando no Brasil uma produção anual de aproximadamente 55 milhões de hectolitros de cerveja e utilizando os dados apresentados acima, calcula-se uma disponibilidade em torno de 2 milhões de toneladas/ano, destacando o grande potencial para utilização desse subproduto na alimentação animal.

No Brasil as cervejarias utilizam como matéria prima para fabricação malte, grãos de arroz quebrados e griz fino de milho. O malte é produzido a partir dos grãos de cevada que são imersos em água morna, drenados e germinados para o desenvolvimento de um completo sistema enzimático que hidrolisa o amido em dextrina e maltose. Em seguida os grãos são desidratados e separados em três partes: malte, gérmen e raiz de malte (VELLOSO, 1984). Para produção de cerveja o malte é moído em mistura com milho, arroz ou outros cereais, cozido e então separado em frações sólidas e líquidas. A parte líquida (mosto) é fermentada para produção de cerveja e a parte sólida denomina-se R.U.C. (CLARK et al., 1987).

Durante o processo industrial para obtenção do mosto, a fração sólida é lavada com diferentes intensidades para extração de componentes solúveis, empregando-se para isto grandes volumes de água. O resultado final desse processo é um subproduto com uma porcentagem de MS variável e geralmente baixa. Praticamente toda dextrina e maltose são extraídas pelas lavagens e, consequentemente, a P.B. e outros nutrientes aumentam sua concentração no R.U.C. quando comparados aos grãos que os originam (CLARK et al., 1987). Essas alterações podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparação entre composição bromatológica média da matéria prima de fabricação da cerveja e R.U.C. de diferentes procedências.

Composição	Indústrias				Matéria Prima	% de M.P. ⁴
	Brahma	Kaiser	Schincariol	Skol		
Matéria seca (%)	15,6	9,2	12,3	14,7	91,3	10-23
Proteína Bruta (%) ¹	31,8	26,0	27,6	31,7	9,9	262-322
Fibra Bruta (%)	15,8	18,9	14,1	14,9	3,9	366-491
E.N.N. (%)	41,1	43,5	49,0	43,5	83,1	49-58
Extrato Etéreo (%)	6,9	7,8	5,7	6,6	1,5	385-527
F.D.A. (%)	21,3	26,5	20,9	25,9	-	-
F.D.N. (%)	43,8	54,0	44,5	47,8	-	-
C.N.E. (%) ⁵	13,1	7,4	18,6	10,6	-	-
N - F.D.A. (% P.B.) ²	8,8	13,3	14,1	17,0	-	-
N - F.D.N. (% P.B.) ²	56,0	33,0	48,6	41,6	-	-
Lignina (%)	3,5	4,8	4,5	5,3	-	-
N.D.T. (%) ³	74,0	69,4	70,6	68,9	-	-
E.L.l. (Kcal/kg) ³	1,69	1,58	1,61	1,56	-	-

1 = Valores em % expressos com base em 100% de matéria seca

2 = Porcentagem da proteína bruta do R.U.C. ligada a fibra em detergente neutro ou detergente ácido

3 = Valores calculados conforme proposto por WEISS (1991).

4 = Valores expressos como uma porcentagem relativa da matéria prima de fabricação da cerveja.

5 = Carboidratos Não Estruturais. Calculado conforme proposto por VAN SOEST et al. (1991) onde

$$C.N.E. = 100 - (P.B. + E.E. + N.D.F. + N.N.).$$

A porcentagem de P.B. do R.U.C. pode apresentar uma grande variabilidade e valores entre 17 a 35 % de P.B. na MS são descritos na literatura. Dados comparativos do percentual de P.B. de amostras R.U.C. provenientes de quatro diferentes indústrias de produção de cerveja no estado de São Paulo e analisadas no laboratório de bromatologia do departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, indicam uma média de 29,3 % (variação de 26,0 a 31,8 %). Esta variação na composição química destaca a importância de uma análise bromatológica.

tológica antes de sua utilização.

A extração dos componentes solúveis ocasiona mudanças significativas na composição da fração protéica do R.U.C.. As globulinas, proteínas solúveis dos grãos de malte, milho e arroz, são extraídas pelas lavagens para obtenção do mosto e esses grãos não contêm ou apresentam uma baixa concentração de albuminas (CLARK et al., 1987), uma fração da proteína insolúvel de rápida degradação (SNIFFEN, 1990). Assim, predominam no subproduto proteínas insolúveis e de baixa degradabilidade como as prolaminas e glutelinas (CLARK et al., 1987).

Dessa forma, o R.C. constitui-se em uma fonte protéica de origem vegetal naturalmente protegida da degradação ruminal não necessitando de nenhum processamento adicional para redução de sua degradabilidade (KLOFFEINSTEIN et al., 1977).

Vários autores tem se dedicado a estudar a degradabilidade protéica do R.U.C. e os trabalhos publicados por MERCHEN et al. (1979); SANTOS et al., (1984); ARMENTANO et al., (1986); ALAWA et al., (1988); SUSMEL et al., (1989) e VALLADARES FILHO et al., (1990) são exemplos dessas avaliações.

Em algumas avaliações os autores utilizaram apenas o R.D.C. (MERCHEN et al., 1979; SUSMEL et al., 1989 e VALLADARES FILHO et al., 1990) e em outras foram oportunidades utilizados ambos os resíduos (SANTOS et al., 1984; ARMENTANO et al., 1986; ALAWA et al., 1988). A desidratação do R.C. pode afetar a degradabilidade da proteína do R.C. e segundo os resultados de KLOFFEINSTEIN et al. (1977) e ARMENTANO et al. (1986), há uma redução na degradabilidade da fração nitrogenada ocasionada pela desidratação.

Entretanto os resultados de ALAWA et al. (1988) não sustentam esta hipótese. Segundo esses autores, a desidratação ocasiona apenas pequenas reduções na degradabilidade do R.C.. Provavelmente as diferenças entre avaliações estão associadas à intensidade do tratamento pelo calor (temperatura x tempo) empregada em cada situação.

A baixa degradabilidade do R.C. pode, em algumas situações, tornar-se um fator limitante para o crescimento de microorganismos do rúmen, diminuindo a disponibilidade de proteína microbiana para o animal.

MERCHEN et al. (1979), pesquisando a degradabilidade protéica do R.D.C. e farelo de soja, e utilizando a uréia para atender um terço da proteína

dietética, encontraram uma redução na quantidade de nitrogênio de origem microbiana que atingia o abomaso quando utilizaram o R.C. + uréia como fonte protéica em relação as dietas que utilizavam apenas a uréia ou farelo de soja + uréia.

ROGERS et al.(1986), estudando a influência da utilização do R.C. nas formas úmida e desidratada sobre parâmetros fisiológicos e microbiológicos do rúmen, encontraram uma maior porcentagem de nitrogênio solúvel, um aumento na população microbiana do rúmen e concentrações mais elevadas de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis para as dietas que empregavam o R.U.C. como principal fonte de proteína.

SANTOS et al. (1984), comparando farelo de soja, glúten de milho, resíduos de destilaria e R.U.C. em relação a fermentação ruminal, fluxo e absorção de aminoácidos no intestino delgado, concluíram que as rações com glúten de milho, resíduos de destilaria ou R.U.C. determinam um maior fluxo de aminoácidos para o intestino delgado do que rações contendo farelo de soja. A síntese de proteína microbiana não foi afetada pelo suplemento protéico utilizado mas a menor degradabilidade da proteína parece ser responsável pelo maior fluxo de aminoácidos para o intestino delgado.

A lisina e a metionina são aminoácidos essenciais considerados como limitantes para vacas de alta capacidade de produção, consumindo dietas a base de silagem de milho, grãos de milho e quantidades limitadas de feno de alfafa (SATTER, 1986).

A lisina é apontada por alguns autores como aminoácido mais limitante do R.U.C. (ROGERS et al.1986; SANTOS et al., 1984 e MERCHEN et al., 1979). Entretanto, SUGMEL et al. (1989), pesquisando a degradabilidade da P.B. e aminoácidos de quatro diferentes fontes protéicas (farelo de soja, farinha de peixe, R.D.C. e silagem de alfafa), utilizaram a caseína e a carne como padrões de valor biológico para proteína e concluíram que a proteína do R.D.C. é deficiente em ordem decrescente de importância, em metionina, lisina e isoleucina quando comparadas à caseína, e em metionina, lisina e histidina quando comparadas à carne; dessa forma a metionina pode ser considerada como o aminoácido mais limitante.

Apesar dos resultados discordantes, um desempenho ótimo de animais de alta capacidade de produção utilizando esse subproduto, só poderá ser obtido

através de uma combinação adequada de diferentes alimentos, com objetivo de suprir uma possível deficiência de aminoácidos essenciais.

A maioria dos trabalhos de avaliação energética do R.C. concluíram que há uma subestimativa por parte das Tabelas editadas pelo N.R.C. (1971) e N.R.C. (1978) quanto ao verdadeiro valor energético do R.C..

Segundo PRESTON et al. (1973), quando o R.D.C. participa com 50 % ou menos da MS da ração de novilhos confinados o seu valor alimentar é igual ao do milho e os valores de E.L.m. e E.L.g. podem estar subestimados em 60 % pelo N.R.C. (1971). Os autores sugerem os valores de 2,30 Mcal/kg para E.L.m. e 1,42 Mcal/kg para E.L.g. em relação aos valores de 1,42 Mcal/kg e 0,83 Mcal/kg propostos pelo N.R.C. (1971).

THOMPSON et al. (1977), revisando os dados disponíveis de estudos de campo sobre a utilização de R.D.C. em dietas de bovinos de corte confinados, concluíram que este resíduo apresenta um valor energético semelhante ao do milho quando incluído entre 10 e 45 % da MS da dieta.

Rakes e Davenport (1975), citados por HOFFMAN & ARMENTANO (1988), encontraram um valor de 77 % de N.D.T. para o R.U.C. quando vacas em lactação foram alimentadas em um nível ligeiramente acima da manutenção. Trabalhando com vacas em lactação MURDOCK et al. (1981), estimaram o valor de N.D.T. do R.U.C. em 78 %, sendo este 16 % maior do que o valor de 66 % apresentado pelas Tabelas do N.R.C. (1978).

ZEJULA et al. (1985), pesquisando o valor nutritivo do R.C. para ruminantes e utilizando como volumoso de feno de braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) encontraram um valor de 70,7 % de N.D.T. para o R.C..

Apoiando-se em uma diferença de digestibilidade entre o R.D.C. e R.U.C. encontrada por Conrad & Porter (1980), HOFFMAN & ARMENTANO (1988), sugerem valores de N.D.T. para esses subprodutos de 71 e 77 %, respectivamente. Entretanto, quando compararam o R.D.C., R.U.C. e farelo de soja como suplementos protéicos para bovinos leiteiros, esses autores concluíram que, em função de uma menor digestibilidade da M.O. para dietas com R.U.C., o valor de 77 % de N.D.T. proposto para este resíduo seria incorreto e sugeriram que os valores de energia para vacas em lactação de 72 e 74 % de N.D.T. para o R.U.C. e R.D.C. respectivamente.

Comparativamente a outros suplementos protéicos, o R.U.C. apresenta

uma elevada porcentagem de componentes de parede celular. Analisando-se as concentrações de F.D.A., F.D.N. e lignina apresentadas na Tabela 1 conclui-se que a parede celular do R.U.C. caracteriza-se como uma fonte de fibra de excelente qualidade. Aproximadamente 50% dessa parede celular é digestível no rúmen e 33% do total pode ser considerado como fibra efetiva (STERN & ZIEMER, 1993).

PRESTON et al.(1973), pesquisando o valor energético do R.D.C. utilizaram dietas exclusivas de concentrados para bovinos em confinamento concluíram que o R.D.C. possui uma função semelhante a da forragem no rúmen e parte das respostas favoráveis em dietas que incluíram esse subproduto, foram atribuídas a uma redução nos casos de paraqueratose do rúmen e abscessos no fígado.

THOMPSON et al.(1977), indicam que o R.D.C. foi efetivo em reduzir a incidência de distúrbios digestivos e abscessos no fígado quando incluído 5, 10, 15, 30, 45, ou 75 % da matéria seca da dieta de bovinos de corte em confinamento, que receberam uma dieta basal de milho triturado e minerais. Esses resultados são semelhantes aos de OSTER et al. (1977) que também encontraram uma redução significativa nos casos de paraqueratose ruminal em quando o R.D.C. foi incluído em 17 e 36% de uma mistura de concentrados, em substituição ao farelo de soja e fornecida para novilhos em confinamento.

Dessa forma, a utilização resíduo de cervejaria torna-se interessante no balanceamento de rações para vacas de alta capacidade de produção por permitir um melhor balanço entre carboidratos estruturais e não estruturais.

Quanto ao conteúdo de minerais, o R.U.C. apresenta uma baixa porcentagem de K (HOFFMAN & ARMENTANO, 1988) exigindo uma suplementação quando o resíduo substitui alimentos mais ricos nesse elemento mineral, como os farelos de soja e algodão. O R.U.C. é rico em selênio e segundo CRICKENBERGER & JOHNSON, 1982 sua utilização pode melhorar índices reprodutivos de rebanhos que apresentem uma deficiência desse elemento

2.2.) Utilização do R.U.C. na produção de leite.

Uma revisão da literatura disponível indica que há uma carência de pesquisas destinadas a avaliar os efeitos do R.C. (úmido e desidratado)

sobre a produção de leite.

POLAN et al. (1985) encontraram maiores produções diárias de leite para vacas de estágio intermediário de lactação recebendo R.D.C. (29,4 kg de leite/dia) e R.U.C. (28,9 kg de leite/dia) quando comparadas a vacas recebendo farelo de soja (26,2 kg de leite/dia).

HOFFMAN & ARMENTANO (1988) encontraram uma produção média diária de 36,7; 37,8 e 36,2 kg de leite corrigido para 3,5% de gordura para vacas em início de lactação consumindo R.U.C., R.C.D e farelo da soja respectivamente. Não houve diferenças significativas entre tratamentos e os autores sugerem que a escolha do suplemento a ser utilizado deve se basear custo e disponibilidade de cada opção.

Em vários estudos comparando o R.U.C. ao farelo de soja como suplementos protéicos para vacas em lactação (MURDOCK et al., 1981; DAVIS et al., 1983; SEYMOUR & POLAN, 1986 e JOHNSON & HUBER, 1987) não foram encontradas diferenças significativas na produção de leite quando as vacas receberam R.U.C. ou farelo de soja.

HERRERA-SALDANA & HUBER (1989), trabalhando com fontes de carboidrato (grãos de sorgo e cevada) e proteína (farelo de algodão e R.D.C.) de alta e baixa degradabilidade ruminal respectivamente, em um experimento fatorial 2 x 2 e utilizando vacas em início de lactação, encontraram produções de leite significativamente mais elevadas para as vacas recebendo um concentrado a base de farelo de algodão e grãos de cevada.

O maior consumo de matéria seca, suprimento de nutrientes digestíveis e um aumento da massa microbiana produzida no rúmen são apontadas por HERRERA-SALDANA & HUBER (1989) como responsáveis pela maior produção de leite obtida.

Em um trabalho conduzido no Brasil, CARDOSO et al. (1982) encontraram produções de leite significativamente mais elevadas quando incluíram o R.U.C. em dois níveis da mistura de concentrados (42,9 e 85,8%). Da mesma forma, SOUTO et al. (1992), utilizando vacas mestiças HZ e substituindo 50 e 100% da mistura de concentrados por R.U.C. encontraram uma maior produção diária de leite para ração correspondendo a 50% de substituição.

2.3.) Fatores limitantes a utilização do R.U.C.

A elevada porcentagem de umidade encontrada no R.U.C. constitui-se no principal fator limitante a sua utilização por três razões básicas: a) - Nessas condições o transporte por distâncias muito longas é uma prática geralmente antieconômica; b) Limita a participação do subproduto na composição da ração, principalmente quando outros subprodutos com umidade elevada e alimentos fermentados também participam da formulação, o que pode constituir-se em um fator limitante ao consumo de MS e c) - Dificulta a conservação do subproduto por períodos prolongados.

2.3.1) Transporte do R.U.C.

O transporte do R.U.C. por grandes distância aumenta significativamente o custo do subproduto por quilograma de MS transportada. VALENTINE & WICKES (1982), pesquisando os efeitos da suplementação de uma dieta a base de feno com R.U.C. e grãos de cevada, sobre a produção e composição do leite, concluíram que a viabilidade econômica da utilização do R.U.C. depende da relação entre a quantidade desse subproduto fornecida e a quantidade de gordura produzida no leite diariamente, além do preço de cada variável.

Os autores indicam que, sem considerar os custos de transporte, seria econômico para produção de gordura fornecer 8,5 kg/dia de MS de R.U.C., com o resíduo custando US\$ 20,00/ton e gordura do leite US\$ 3,50/ton. Ao assumir um custo de US\$ 0,10/ton/km para o transporte do resíduo por 40 km, os autores indicam que a quantidade de R.U.C. fornecida deve ser reduzida para 4,9 kg de MS/dia.

EASTRIDGE (1991), sugere que nas condições de comercialização vigentes nos E.U.A. o R.U.C. não deve ser transportado por distâncias superiores a 100 milhas ou 160 km. Já CHANDLER (1987), também nos E.U.A., indica que o transporte desse subproduto não deve ultrapassar um raio de 200 milhas de distância da indústria produtora de cerveja.

Em termos comparativos, o R.C. comercializado no Brasil geralmente apresenta uma porcentagem de umidade acima da encontrada em outras regiões

do mundo. Segundo BATH (1981), algumas das indústrias de cerveja nos Estados Unidos padronizam a MS do R.U.C. para valores em torno 25 % antes da comercialização para obterem uma melhor remuneração com a venda desse subproduto.

Esta prática não é adotada por indústrias brasileiras e, de uma maneira geral, o R.C. comercializado apresenta entre 10 e 16 % de MS, conforme pode ser observado na Tabela 1. Dessa forma, os custos por unidade de MS transportada são mais elevados, impondo uma restrição mais severa para utilização do subproduto.

2.3.2) Consumo de MS em dietas com R.U.C.

Variações no desempenho de vacas leiteiras podem ser explicadas por alterações no consumo de MS. Segundo MERTENS (1992), o consumo de MS depende do animal, do alimento e das condições de alimentação. Dados apresentados no N.R.C. (1988) indicam que dietas com menos de 50 % de MS podem limitar o consumo. Nessas condições, o nível de participação do R.U.C. na formulação pode ser ditado porcentagem de MS da ração, principalmente quando também são utilizados alimentos fermentados e succulentos (EASTRIDGE, 1991).

MURDOCK et al. (1981), estudando a inclusão de dois níveis de R.U.C. (15 e 30 % da MS total) em dietas de vacas holandesas em lactação, não encontraram diferenças significativas no consumo de MS. DAVIS et al. (1983), investigando a substituição de um concentrado a base de farelo de soja e milho triturado por quatro níveis (0, 20, 30 e 40 % da MS total) de R.U.C. concluíram que a inclusão de 40 % de R.U.C. reduzia significativamente o consumo de MS.

MCCOY et al. (1986), trabalhando com 6 vacas em lactação recebendo dietas a base de silagem de milho (40 % da MS), concentrado (20 % da MS) e R.D.C., R.U.C. ou R.C. reidratado (40 % da MS da total) encontraram consumos de 13,3 ; 12,0 e 12,0 kg de MS/cab/dia (2,4 ; 2,2 e 2,2 kg/100 kg de peso vivo)

PORTER & CONRAD (1975), em um estudo para determinar o valor relativo do R.D.C., R.U.C., R.D.D.S. e um concentrado a base de farelo de soja e farelo de trigo como suplementos protéicos para vacas em lactação, encontraram uma redução no consumo de MS com a utilização do R.U.C. e todos os

suplementos protéicos participavam com 20 % da MS total.

2.3.3) Conservação aeróbica do R.U.C.

O uso eficiente do R.U.C. para alimentação animal depende de uma conservação satisfatória e alterações na composição bromtológica causadas por uma degradação aeróbica afetam negativamente o valor nutritivo do subproduto.

DIXON & COMBELLAS (1983), pesquisando diferentes formas de utilização do R.U.C. na Venezuela, encontraram uma redução no consumo de MS (-0,13 kg de MS/cab./dia de armazenamento) em vacas leiteiras recebendo R.U.C. armazenado em condições de aerobiose. A redução no consumo foi atribuída a putrefações que ocorrem neste material durante o armazenamento.

A redução do consumo provavelmente está associada a modificações na composição química R.U.C.. O processo de degradação aeróbica aumenta a concentração de componentes de parede celular, reduz a digestibilidade da M.O. e concentração de carboidratos solúveis. Além disso, há uma intensa degradação de proteínas o que eleva a concentração de nitrogênio amoniacal, aminas e ácidos orgânicos, fatores estes, relacionados a uma redução no consumo.

Os fungos e leveduras são os principais microrganismos responsáveis pela degradação aeróbica do R.U.C. (ALLEN, 1975).

Segundo JONES et al. (1984), três fatores são importantes para o desenvolvimento de fungos em grãos de cereais: a) - O conteúdo de umidade dos grãos; b) - O tempo de armazenamento e c) - Temperatura ambiente durante o armazenamento. Da mesma forma esses fatores também estão relacionados as perdas que ocorrem durante o armazenamento do R.U.C. e segundo ALLEN et al. (1975), são influenciadas pelo tempo de estocagem, temperatura ambiente e recursos disponíveis para o armazenamento.

Segundo JOHNSON & HUBER (1987), sem o uso de conservantes, o resíduo úmido de destilaria (R.U.D.) pode ser estocado por 2 a 3 dias nas condições de temperatura de verão encontradas no estado de Michigan - E.U.A. e no inverno este período pode ser prolongado para 8 dias ou mais. Estes resultados permitem concluir que as condições de temperatura e umidade encon-

tradas na maior parte do Brasil favorecem desenvolvimento de fungos e leveduras no R.U.C.

Para o controle do crescimento de microrganismos e melhor conservação do R.U.C., a utilização de aditivos químicos tem sido proposta. Entretanto, esta prática nem sempre tem garante a manutenção da qualidade do produto conservado.

DIXON & COMBELLAS (1983), estudaram a utilização do NaCl, NaOH, H_2SO_4 e uma mistura em partes iguais de ácido propiônico e fórmico para conservação do R.U.C. em aerobiose por 7 e 14 dias.

O uso do NaCl não manteve as condições iniciais de pH = 4,3 e houve uma elevação desses valores conforme avançava o período de conservação. Além disso, os valores de nitrogênio amoniacal passaram de 0,2 g de N/kg de MS para 6,4 - 9,5 g de N/kg de MS. A utilização do NaOH também não se mostrou efetiva porque, após 7 e 14 dias de armazenamento, o R.U.C. apresentava odor desagradável e a presença de larvas de moscas, sinais claros de putrefação.

ALLEN et al. (1975), pesquisaram a eficiência do ácido fórmico, ácido propiônico, melão e uma mistura em partes iguais de ácido fórmico e propiônico como produtos para conservação do R.U.C. em aerobiose. No total foram empregados dez tratamentos e as amostragens foram efetuadas na superfície e sub-superfície das pilas empregadas para o armazenamento.

A utilização de 2,0 % de melão não melhorou as condições de conservação sendo inclusive inferior ao tratamento testemunha. Ao final de duas semanas de estudo, 30 % do nitrogênio total apresentava-se na forma de nitrogênio amoniacal em relação a um valor de 26,5 % para o tratamento testemunha, além disso este tratamento também demonstrou a maior superfície de deterioração entre todos os testados.

A utilização de 0,4 % de uma mistura de ácido fórmico e propiônico reduziu a concentração de nitrogênio amoniacal, a área de deterioração em superfície e a concentração de ácidos orgânicos na sub-superfície, constituindo-se na melhor forma de conservação do R.U.C. por períodos de até duas semanas.

JOHNSON & HUBER (1987a), estudando a influência de diferentes concentrações de amônia sobre conservação aeróbica do R.U.C. por 0, 3, 7 e 10 dias concluíram que uma dosagem de 4,0 % da MS reduz o crescimento de fungos

e a superfície de deterioração.

JOHNSON & HUBER(1987b), comparando os efeitos de diferentes temperaturas e concentrações de hidróxido de amônio sobre a preservação aeróbica do resíduo de destilaria úmido por 0, 4, 9 e 14 dias concluíram que as concentrações de 3,14 e 4,71 % da MS reduziram o crescimento de fungos, a superfície de deterioração, a elevação de temperatura e melhoraram a recuperação de MS do material armazenado em relação ao tratamento testemunha e com 1,57 % de amônia.

Estudando diferentes formas de conservação do R.U.C., LILLY et al. (1980), concluíram que o resíduo pode ser preservado satisfatoriamente quando, após uma centrifugação, é misturado a 30% de melaço de beterraba e 0,3% de sorbato de potássio. Entretanto, o elevado custo dos aditivos impede a utilização desse tratamento em condições práticas.

2.4.) Utilização do aldeído fórmico

O formaldeído ou aldeído fórmico é um produto químico de custo relativamente baixo empregado com inúmeras finalidades pela indústria agropecuária. O controle de degradação do amido (FLUHARTY & LOERCH, 1989; McALLISTER et al., 1990 e OKE & LOERCH, 1992) e nitrogênio no rúmen (FERGUSON, 1974 e SPEARS et al., 1985), além do uso como um aditivo para silagem (NAGEL & BRODERICK, 1992) são alguns dos exemplos de utilização do formaldeído na indústria de produção animal.

Sua utilização no tratamento de alimentos destinados à alimentação de vacas em lactação e bovinos de corte parece não trazer riscos para saúde humana desde que, sua recuperação no leite e na carne é geralmente baixa. BUCKLEY et al. (1988) estudando a concentração de aldeído fórmico no leite e carne de vacas e bezerros recebendo soro de leite tratado com este produto químico, encontraram valores inferiores aos normalmente detectados em cervejas e refrigerantes.

Quando utilizado como um aditivo para silagem, as dosagens dependem da porcentagem de proteína bruta do material a ser ensilado. WILKINSON et al. (1976), sugeriram que as dosagens seguras para aplicação em silagens de gramíneas são de 30 a 50g de aldeído fórmico/kg de proteína bruta. No caso

das leguminosas são recomendadas de 100 a 150 g de aldeído fórmico/kg de proteína bruta.

Em uma série de experimentos desenvolvidos durante a década de setenta vários autores encontraram um efeito positivo da utilização do aldeído fórmico sobre o consumo de matéria seca de silagens (VALENTINE & BROWN, 1973; BARRY, 1975 e BARRY et al., 1978) e esses resultados foram associados principalmente a uma menor concentração de nitrogênio amoniacal e ácidos orgânicos em silagens tratadas (BARRY et al., 1978).

Um aspecto negativo da utilização do aldeído fórmico é a maior susceptibilidade das silagens para deterioração quando expostas a condições de aerobiose (BARRY & FENNESSY, 1972 e THEUNE & HONIG, 1979). No entanto, esses resultados podem estar associados à baixa concentração de aldeído fórmico encontrada em silagens no momento da abertura dos silos e THEUNE & HONIG (1979), encontraram uma redução exponencial na concentração de aldeído fórmico em função do tempo de armazenamento da silagem.

Apesar desses resultados, WOOLFORD (1975), estudando os efeitos de vários aditivos sobre o crescimento de bactérias, fungos e leveduras normalmente encontrados em silagens, sugeriu que 8 milimoles de aldeído fórmico/litro era uma concentração suficiente para inibir todos os tipos de microrganismos estudados. Da mesma forma, CAJA et al. (1977), relataram que o crescimento de fungos foi impedido em sementes de girassol tratadas com aldeído fórmico para reduzir a degradabilidade ruminal da proteína.

Um outro aspecto contrário a utilização do aldeído fórmico é o possível efeito que este agente químico pode exercer sobre microrganismos do rúmen, modificando o padrão de fermentação e digestão de alimentos, quando aplicado em doses elevadas.

WOOLFORD (1975), destaca que os agentes esterelizantes, como aldeído fórmico, quando utilizados em dosagens elevadas, exercem efeitos negativos sobre a microflora ruminal e a redução na síntese de proteína microbiana é um efeito negativo sobre a atividade fermentativa do rúmen descrito por BEEVER et al. (1977), ARNOULD et al. (1978), BEEVER et al. (1987) e FILLHARTY & LOERCH (1989).

Diante disso, a utilização do aldeído fórmico como um aditivo químico para conservação aeróbica depende da aplicação de dosagens que permitam um

efeito inibidor máximo sobre os principais microrganismos responsáveis por processos de deterioração e simultaneamente não interfira no processo fermentativo do rúmen.

3) MATERIAL & MÉTODOS

3.1) Local

Os dois experimentos foram conduzidos no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, no período de janeiro de 1992 a maio de 1992.

3.2) Conservação aeróbica do R.U.C.

O R.U.C. foi adquirido da "Cervejarias Reunidas Skol Caracu S.A.", localizada em Rio Claro - SP e armazenado por 48 horas em tambores metálicos de 200 litros de capacidade, equipados com tela de malha de 1,0 milímetro no fundo para drenagem de efluentes.

3.2.1) Tratamentos

Foram empregados quatro tratamentos, utilizando-se dois aditivos químicos e a levedura industrial de cervejaria (L.I.C.) em combinação com o R.U.C. drenado. Os tratamentos são relacionados abaixo:

Tratamento A - R.U.C. sem aditivos.

Tratamento B - 85% de R.U.C. + 15 % de levedura industrial de cervejaria (p/p).

Tratamento C - R.U.C. + 0,6 % de formalina P.A. (37% de aldeído fórmico).

Tratamento D - R.U.C. + 0,7 % de uma mistura 2:1 de formalina P.A. e ácido fórmico comercial (85 %) (v/v).

Amostras em duplicata de cada tratamento acondicionadas em baldes plásticos de 6,5 litros de capacidade, expostas às condições de temperatura ambiente e aerobiose, foram armazenadas por 0, 3, 7 e 10 dias para avaliação

das condições de conservação.

3.2.2) Análise efetuadas

A temperatura da superfície do R.U.C. foi determinada em cada tratamento e tempo de armazenamento, utilizando um termômetro de bulbo de mercúrio com escala graduada de 1° C.

Para determinação do pH da superfície e sub-superfície, amostras em duplicata foram retiradas de 0 a 12 e de 12 a 24 centímetros de profundidade de cada balde plástico, transferidas para copos de 120 ml de capacidade e misturadas com um igual volume de água destilada, executando-se a leitura direta após 15 minutos, em potenciômetro de marca Digned modelo TE 902.

Para determinação da concentração de carboidratos solúveis utilizou-se aproximadamente 7,0 gramas de amostra úmida que foram inicialmente transferidas para Béquers de 600 ml adicionando-se 350 ml água destilada a 100 graus centígrados. Posteriormente os Béquers foram colocados em Banho Maria com aquecimento da água de 55-60 graus centígrados e 90 oscilações por minuto procedendo-se a extração por 30 minutos.

Posteriormente, os Béquers foram retirados do Banho Maria, resfriados a temperatura ambiente e todo o conteúdo foi transferido para balões volumétricos de 500 mililitros de capacidade. O volume dos balões foi ajustado para 500 mililitros com água destilada estes foram agitados e deixados em repouso até que toda fração sólida se apresentasse sedimentada.

Aliquotas de 10 ml de sobrenadante foram retiradas e transferidas para balões volumétricos de 100 mililitros, completando-se o volume com água destilada. A concentração de carboidratos solúveis foi determinada em alíquotas dessas soluções empregando-se a reação colorimétrica do método fenol-sulfúrico conforme JOHNSON et al. (1966). Para determinação da curva padrão empregou-se uma solução contendo concentrações idênticas de xilose e glucose (500 µg/ml).

A porcentagem de MS foi determinada em duas fases. A primeira a 65° graus centígrados por 48 horas e a segunda 105° graus centígrados por uma noite.

As concentrações de nitrogênio total e nitrogênio amoniacal em amo-

tras de matéria original foram determinadas empregando-se a metodologia proposta pelo AOAC(1985).

A intensidade de crescimento de fungos foi avaliada visualmente de acordo com a escala proposta por ALLEN et al. (1975) e descrita a seguir:

Escala

0 - Deterioração não visível.

1 - Ligeiro crescimento de fungos.

2 - Crescimento de fungos e descoloração

3 - Crescimento de fungos, descoloração e quebras na superfície.

4 - Crescimento de fungos, descoloração, quebras na superfície e ligeiro odor.

5 - Crescimento de fungos, deterioração e odor ofensivo.

3.2.3) Delineamento estatístico

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com parcelas subdividas, num total de quatro tratamentos, dois blocos e quatro tempos de armazenamento.

A análise estatística dos dados referentes à temperatura, pH da superfície, pH da sub-superfície, carboidratos solúveis, matéria seca, nitrogênio total e nitrogênio amôniacal foi feita de acordo com o modelo para blocos casualizados com parcelas subdivididas segundo GOMES (1977) descrito a seguir.

Os cálculos das análises de variâncias e as comparações das médias pelo teste de Duncan foram efetuadas através do Sistema de Análise Estatística (S.A.S. 1984).

Causas de variação	Graus de liberdade
Blocos	1
Tratamentos	3
Resíduo a	3
Total de parcelas	7
Tempo	3
Tratamento*tempo	9
Resíduo b	12
Total de sub-parcelas	31

3.3) Experimento com animais fistulados

3.3.1) Animais

Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas, com bebedouros equipados com hidrômetros e cochos móveis, que possibilitavam a limpeza e o controle do consumo de água e alimentos.

Foram utilizados três bovinos, fêmeas, equipados com cânula ruminal, sendo um da raça Jersey (# 1520), um da raça holandesa (# 264) e um mestiço holandês x zebu (# 265). Os animais apresentavam um peso vivo inicial de 494, 563 e 412 kg, respectivamente, e foram pesados no início e final de cada subperíodo experimental.

A utilização de animais canulados permitia uma amostragem mais representativa do conteúdo ruminal em relação aos parâmetros analisados.

No início do experimento os animais foram dosificados com vermífugo injetável a base de fosfato de tetraidrofenilimidazotiazol, vitamina A (1.750.000 UI), D (490.000 UI) e E (490 mg) em uma única dosagem por via parenteral.

3.3.2) Tratamentos

Foram empregados três tratamentos, utilizando-se a silagem de sorgo como único alimento volumoso, duas formulações de concentrado e o R.U.C. conservado ou não com 0,52 % (v/p) com formalina F.A. (37,0 % de aldeído fórmico).

A composição porcentual das rações experimentais e as duas diferentes formulações de concentrado são apresentadas nas Tabelas 2 e 3.

O R.U.C. foi doado pelas "Cervejarias Reunidas Skol Caracu S.A.", localizada em Rio Claro - SP, e transportado para o local do experimento em intervalos de 8 a 10 dias. Antes do fornecimento aos animais e tratamento com formalina, o R.U.C. era armazenado por um período mínimo de 48 horas em tambores metálicos de 200 litros equipados com tela de malha de 1,0 milímetro no fundo com objetivo estabelecer um porcentual de MS constante para o

R.U.C., evitando dessa forma, variações em sua porcentagem na MS da dieta.

Tabela 2 - Composição percentual das rações experimentais (base na MS)

	Sil. Sorgo	C1	C2	R.U.C.	R.U.C. tratado
Tratamento A	60%	40%	-	-	-
Tratamento B	60%	-	25%	15%	-
Tratamento C	60%	-	25%	-	15%

C1 = Concentrado 1 C2 = Concentrado 2

Tabela 3 - Composição percentual das duas diferentes formulações de concentrado (base matéria original).

	Conc. 1	Conc. 2
Milho	67,4%	83,4%
Farelo de Algodão	30,6%	13,4%
Minerais	2,0%	3,2%

Após a drenagem inicial, parte do R.U.C. era tratado com 0,52 % de formalina e retornava aos tambores com tela no fundo.

O milho grão foi adquirido do departamento de Agricultura da ESALQ/USP e para produção das misturas concentradas, os grãos foram triturados em moinho do tipo martelo, equipados com peneira de 5,0 milímetros.

O farelo de algodão e a silagem de sorgo foram cedidos pelo departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. O farelo de algodão utilizado durante o experimento pertencia a uma mesma partida para evitar possíveis variações em sua composição.

Como mistura mineral foi empregada uma fonte comercial a qual se adicionou cloreto de sódio e enxofre elementar para suprir uma deficiência desse elemento na mistura comercial. A composição final da mistura mineral é

apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição percentual da mistura mineral

Mistura comercial	46,0 %
Cloreto de sódio	49,0 %
Enxofre elementar	5,0 %

Os concentrados foram confeccionados com o auxílio de um misturador do tipo vertical, permitindo-se um tempo mínimo de mistura de 15 minutos após a adição do último ingrediente componente da mistura.

A alimentação, na forma de ração completa, foi fornecida em uma única refeição no período da manhã e a quantidade de alimento foi calculada para proporcionar entre 5 a 10 % de sobras.

Semanalmente, e a cada nova partida do R.U.C., determinou-se a porcentagem de MS com o objetivo de ajustar as relações entre os diferentes componentes das rações que empregavam o R.U.C.. Além da porcentagem de MS a cada nova partida de R.U.C. determinava-se a concentração de nitrogênio total e amoniacal na matéria original, acompanhando, dessa forma, as variações que pudessem ocorrer entre as diferentes partidas.

A MS da silagem de sorgo foi determinada em amostras compostas da primeira semana de cada subperíodo experimental e utilizada para ajustar a relação entre os diferentes componentes das rações experimentais.

3.3.3) Período experimental

O período experimental teve a duração de 59 dias, com 3 subperíodos de 15 dias e um período inicial de 14 dias para adaptação dos animais ao local do experimento, antes do início da fase experimental propriamente dita.

Durante cada subperíodo e após uma adaptação inicial de 12 dias para as rações, procediam-se as coletas nos últimos três dias. As coletas de conteúdo ruminal e filtrado foram executadas nos 2 primeiros dias, enquanto que o último dia era utilizado para coleta de fluido ruminal, para determinação

da taxa de passagem da fase líquida e desaparecimento da M.O. de amostras de casca de soja.

3.3.4) Análises efetuadas

3.3.4.1) Componentes das rações e sobras

Durante os últimos três dias de cada subperíodo coletou-se diariamente amostras dos diferentes componentes das rações experimentais e suas respectivas sobras. As amostras foram conservadas a -18° graus centígrados até a análise.

Para as análises, as amostras de cada subperíodo foram descongeladas e misturadas, formando uma amostra composta de cada componente das rações experimentais e suas respectivas sobras. As amostras compostas foram analisadas para matéria seca, proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo e matéria mineral segundo as metodologias da AOAC (1985). Para os componentes das rações também analisou-se a fibra em detergente ácido de acordo com GOERING & VAN SOEST (1970) enquanto os valores de nutrientes digestíveis totais foram calculados por equações propostas por KEARL (1982).

As análises de proteína bruta do R.U.C. foram efetuadas na matéria original em função da porcentagem de nitrogênio amoniacal desse resíduo.

3.3.4.2) Parâmetros ruminais

Amostras de aproximadamente 3 kg de digesta foram coletadas em quatro diferentes pontos, após uma homogeneização do conteúdo do interior do rúmen. O material foi coletado em baldes plásticos de 6,5 litros de capacidade, homogeneizado, retirou-se uma amostra de conteúdo para determinação de protozoários, filtrou-se o restante em 4 camadas de pano de algodão para obtenção de aproximadamente 500 mililitros de fluido ruminal. Posteriormente a parte sólida do conteúdo foi retornada ao interior do rúmen.

As amostras fluido foram retiradas em cada subperíodo, por dois dias consecutivos, 0, 1, 2, 6, 9 e 12 horas após a alimentação para determinação de pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal. Para as análises es-

tatísticas utilizou-se o valor médio referente a cada parâmetro analisado. As amostras de sólidos para contagem de protozoários foram coletadas nos mesmos horários, apenas durante o primeiro dia de cada subperíodo, utilizando-se estes valores para as análises estatísticas.

3.3.4.3) pH ruminal

Aproximadamente 80 mililitros de fluido ruminal foram transferidos para um Béquer com capacidade para 100 mililitros, executando-se a leitura direta em potenciômetro da marca Digned modelo TE 902 imediatamente após a obtenção da amostra.

3.3.4.4) Nitrogênio amônia

Transferiu-se 2 mililitros do filtrado para tubos plásticos de centrifuga contendo 1 mililitro de tungstato de sódio 10 % e em seguida adicionou-se 1 mililitro de ácido sulfúrico 1 N resfriado. Os tubos assim preparados foram centrifugados por 20 minutos à 3.000 x g, o sobrenadante foi então separado e armazenado a - 18 graus centígrados (C) em recipientes de vidro com tampas plásticas.

As concentrações de nitrogênio amônia foram determinadas ao final do experimento através do método descrito por WEATHERBURN (1967) que emprega como princípio a reação colorimétrica entre o fenol e o hipoclorito.

As leituras, em quadruplicata, foram feitas em espectrofotômetro da marca Coleman modelo 295 trabalhando-se com um comprimento de onda de 630 nanômetros e padrões preparados previamente contendo 0, 5, 10, 20 e 30 miligramas de amônia por decilitro.

3.3.4.5) Ácidos graxos voláteis

Aproximadamente 50 mililitros de fluido ruminal foram transferidos para tubos plásticos e submetidos a centrifugação por 10 minutos a 3.000 G. Após a centrifugação uma alíquota de 1 mililitro do sobrenadante foi transferida

para recipientes de vidro que continham 0,4 mililitro de ácido fórmico P.A.. Os recipientes foram vedados hermeticamente com tampas plásticas e armazenados a - 18 graus centígrados para que as análises fossem feitas ao final do experimento. As determinações das concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico, em mmoles/decilitro, foram efetuadas em cromatógrafo a gás marca CG modelo 37 D, segundo a metodologia de ERWIN et al. (1961).

A coluna foi empacotada com Carboxpack e as leituras feitas em detector de ionização de chama. O nitrogênio foi usado como gás de arraste, o oxigênio como comburente e o hidrogênio como combustível nas vazões de 30, 400 e 40 mililitros por minuto. Trabalhou-se nas temperaturas de 195, 120 e 205 graus para o vaporizador, coluna e detector no cromatógrafo, respectivamente.

Para o preparo do padrão foram empregadas soluções dos ácidos acético (0,11028 N), propiônico (0,09721 N), butírico (0,09450 N), isobutírico (0,09179 N), 2 metil - butírico (0,09522 N), valérico (0,09522 N) e isovalérico (0,09324 N). A concentração final da solução padrão foi de 7,468 milimoles (mM) de AGV por decilitro obedecendo as proporções de 63,5; 21,0; 9,0 e 6,5 % para os ácidos acético, propiônico, butírico e isoácidos respectivamente.

Injeções de 1 microlitro das amostras foram efetuadas em duplicata, e a cada 12 injeções de amostra, injetou-se uma do padrão em triplicata. As leituras das concentrações dos AGV foram feitas em um computador equipado com placa integradora, o que permitia uma comparação direta entre os diferentes picos encontrados para curva padrão e amostras. A partir dessas leituras os cálculos para as concentrações molares dos ácidos acético, propiônico e butírico foram executados automaticamente pelo computador. As proporções molares entre esses ácidos foram calculadas manualmente num período posterior.

3.3.4.6) Protozoários

As amostras de conteúdo ruminal para a contagem de protozoários e indentificação das sub-classes foram preservadas em frascos de vidro com capacidade para 100 mililitros e vedados com tampas plásticas.

Coletou-se 25 mililitros de conteúdo ruminal em um Béquer e adicionou-se igual volume de uma solução de formalina 1:1 com água destilada 0, 1, 2, 6, 9 e 12 horas após alimentação da manhã. Este material foi transferido para recipientes de vidro ou plástico e antes da colocação da tampa utilizou-se uma camada de parafilme para permitir uma vedação mais completa dos recipientes. Os recipientes foram armazenados a temperatura ambiente até a contagem.

A determinação do número de protozoários por mililitro foi executada de acordo com a metodologia de PURSER & NOIR (1959) em microscópio ótico, utilizando-se a câmara de Sedwick-Rafter para a contagem das amostras coradas pelo verde brilhante e diluídas em glicerol 30 %.

3.3.4.7) Taxa de passagem de fluidos e volume ruminal

Para determinação da taxa de passagem de fluidos utilizou-se uma solução de polietileno glicol 4.000 (PEG 4.000) diluído em água destilada e preparada de acordo com HYDEN (1956).

No terceiro dia de coleta de cada subperíodo, duas horas antes da alimentação cortou-se o suprimento de água e retirou-se do cocho as sobras de alimento do dia anterior. Imediatamente antes do fornecimento da alimentação, coletou-se, com auxílio de uma bomba de vácuo, uma amostra de fluido ruminal em diferentes pontos do interior do rúmen. Estas amostras foram armazenadas em recipientes de plástico ou vidro a -18 graus centígrados servindo posteriormente como branco na determinação da concentração de PEG 4.000.

Após a retirada das amostras referentes ao tempo zero uma solução 300 gramas de PEG 4.000 foi introduzida em diferentes pontos do rúmen com o auxílio de uma pistola para dosificação de vermífugo. As amostras de fluido foram coletadas conforme o procedimento descrito para o tempo zero, 1, 3, 6, 9, 12 e 24 horas após o fornecimento de alimento e retorno ao suprimento de água.

No preparo das amostras para leitura, transferiu-se uma amostra de 5 mililitros de fluido ruminal dos tempos 1, 3 e 6 horas para tubos plásticos de centrifuga, completando-se o volume para 25 mililitros com água des-

tilada. Para os tempos de 9, 12 e 24 horas utilizaram-se alíquotas de 10 ml de fluido ruminal que foram transferidas para os tubos plásticos de centrifuga, completando-se o volume para 25 mililitros com água destilada. Após a diluição os tubos foram levados a um agitador automático e centrifugados a $3.000 \times g$ por 30 minutos. As amostra de branco também foram centrifugadas porém sem diluição prévia.

Após a centrifugação 10 mililitros do sobrenadante foram transferidos para tubos de cultura de 16 x 150 milímetros e uma alíquota de 2 mililitros foi transferida para tubos plásticos de centrifuga onde adicionou-se 10 mililitros da água destilada, 1 mililitro de uma solução de $BaCl_2$ (10 %), 2 mililitros de uma solução de $Ba(OH)_2$ e 2 mililitros de uma solução de $ZnSO_4$ (5 %).

As amostra foram novamente centrifugadas a $3000 \times g$ por 30 minutos e alíquotas de 1; 1,5; 2,0 e 2,5 mililitros foram transferidas para cubetas, completando-se o volume para 2,5 mililitros com água destilada. Adicionou-se a ~~esses~~ tubos 2,5 mililitros de uma solução de ácido tricloroacético (30%) e cloreto de Bário (5%) executando-se a leitura exatamente um minuto após. As leituras foram executadas em duplicata em um espectrofotômetro da marca Bausch & Lomb modelo Spectronic 20A em um comprimento de onda de 500 nanômetros.

Para o preparo da curva padrão utilizou-se uma solução de 200 miligramas de FEG 4.000 por decilitro. Para obtenção de concentrações de 0,0583, 0,1176, 0,2353 e 0,3529 miligramas de FEG 4.000/mililitro, uma alíquota de 2 mililitros da solução padrão foi transferida para tubos plásticos de centrifuga onde adicionou-se 10 mililitros da água destilada, 1 mililitro de uma solução de $BaCl_2$ (10 %), 2 mililitros de uma solução de $Ba(OH)_2$ e 2 mililitros de uma solução de $ZnSO_4$ (5 %). As amostra foram novamente centrifugadas e alíquotas de 0,25; 0,50; 1,00 e 1,50 mililitros transferidas para cubetas, completando-se o volume para 2,5 mililitros com água destilada. Adicionou-se a esses tubos 2,5 mililitros de uma solução de ácido tricloroacético (30%) e cloreto de Bário (5%) e a leitura foi executada um minuto após.

As taxa de passagem da fase líquida e concentração de FEG 4.000 para o tempo foram calculadas através de equações lineares simples entre os horários de coleta e as concentrações logarítmicas decrescentes de FEG 4.000

obtidas nas leituras dos diferentes horários como se segue:

a) taxa de passagem da fase líquida em porcentagem por hora (tp/h)

$$tp/h = \text{coeficiente angular da reta} \times 100$$

b) volume ruminal

$vr = 300 \text{ gramas /concentração de PEG } 4.000 \text{ em gramas por litro}$
estimada para o tempo zero pela equação.

3.3.4.8) Desaparecimento da casca de soja

Como padrão de desaparecimento de matéria orgânica no rúmen foram utilizadas amostras de casca de soja. As amostras foram moídas em peneira de 2 milímetros em um moinho da marca Willey Mill. Para cada sacola de náilon de 16 x 9 centímetros previamente tarada, pesou-se aproximadamente 3 gramas de amostra mantendo-se uma relação de 10,6 miligramas de amostra por centímetro quadrado de área da sacola conforme recomendações de NODER (1988).

As sacolas foram amarradas em sua extremidade com um fio de náilon, juntamente com uma argola de metal, o que permitia a fixação das sacolas a um mosquetão na extremidade de um fio de náilon de 60 centímetros. As cordas de náilon apresentavam uma das extremidades presa a uma borracha de teflon de 20 centímetros o que tornava possível sua fixação à tampa da cânula ruminal.

No último dia de cada subperíodo, sacolas em triplicata foram incubadas no rúmen por 12 e 24 horas após a alimentação. As sacolas de 24 horas foram introduzidas no rúmen no horário da alimentação e doze horas após foram introduzidas as sacolas referentes às 12 horas de incubação. Todas as sacolas foram retiradas simultaneamente do rúmen no horário de alimentação do dia seguinte, lavadas em água corrente, secas em estufa a 65 graus centígrados por 48 horas e pesadas para determinação do desaparecimento da matéria original.

Para determinação da fração prontamente solúvel, utilizou-se sacolas de náilon previamente taradas de 10 x 5,5 centímetros contendo em seu interior uma esfera de vidro. As sacolas em quadruplicata, contendo aproximadamente 10,6 miligramas de casca de soja por centímetro quadrado de sacola foram

fechadas em sua extremidade por um fio de náilon e colocadas em um Banho Maria de marca Dubnoff modelo 45, por 15 minutos com a temperatura equilibrada para 39 graus centígrados. Em seguida, as sacolas foram lavadas em água corrente, colocadas estufa a 65 graus centígrados por 48 horas e posteriormente pesadas.

Para determinação do desaparecimento da matéria seca e matéria orgânica o material contido nas sacolas foi transferido para cadinhos de porcelana, pesado, colocado em estufa a 105 graus centígrados por uma noite, novamente pesado e levado a mufla por 3 horas para determinação do conteúdo de matéria mineral. O mesmo procedimento foi adotado para determinação da matéria seca e matéria orgânica da casca de soja.

3.5) Delineamento estatístico

Como delineamento estatístico empregou-se um Quadrado Latino 3 x 3, sendo cada animal designado para um tratamento dentro de cada subperíodo. A distribuição dos diferentes tratamentos entre os animais em cada subperíodo é demonstrada abaixo:

	Vacas	264	265	1520
<hr/>				
Períodos				
1		A	B	C
2		B	C	A
3		C	A	B
<hr/>				

A análise estatística dos dados referentes ao consumo de matéria seca, consumo de água, taxa de passagem de fluidos e volume ruminal foi feita de acordo com o modelo para Quadrado Latino segundo GOMES (1977), descrito abaixo:

Causas de variação	Graus de liberdade
--------------------	--------------------

Tratamentos	2
Períodos	2
Animais	2
Resíduo	2
<hr/>	
Total	8

Para parâmetros com coleta de amostras no tempo ao longo do dia como pH ruminal, nitrogênio amôniaal, ácidos graxos voláteis, contagem de protozoários e desaparecimento da casca de soja, analisou-se os dados como um Quadrado Latino com parcelas sub-divididas, de acordo com as recomendações de GILL (1986), ficando os quadros de análise de variância assim constituídos:

a) pH ruminal, nitrogênio amôniaal, ácidos graxos voláteis e protozoários

Causas de variação	Graus de liberdade
--------------------	--------------------

Tratamentos	2
Períodos	2
Animais	2
Resíduo A	2
<hr/>	
Parcelas	8
<hr/>	
Horas	5
Tratamentos X Horas	10
Resíduo B	30
<hr/>	
Sub-parcelas	53

b) Desaparecimento da casca de soja

Causas de variação	Graus de liberdade
Tratamentos	2
Períodos	2
Animais	2
Resíduo A	2
Parcelas	8
Horas	1
Tratamento X Horas	2
Resíduo B	5
Sub-parcelas	16

Os cálculos das análise estatísticas e as comparações das médias pelo teste de Duncan foram efetuadas através do Sistema de Análises Estatísticas (S.A.S. 1986).

4) RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1) Experimento 1 - Conservação do R.U.C.

4.1.1.) Níveis de aplicação de aditivos

Os níveis de aplicação de aldeído fórmico e ácido fórmico empregados nesse experimento podem ser observados na Tabela 5 e esses dados serão utilizados para discussão dos resultados relativos aos parâmetros considerados para avaliação das condições de conservação do R.U.C..

Tabela 5 - Níveis de aplicação de aldeído fórmico e ácido fórmico utilizados no experimento de conservação do R.U.C..

Aditivo	% da M.O.	% da MS	g/kg de P.B.	mmoles/litro
Formaldeído				
Trat. C	0,22	1,18	37,0	90,3
Trat. D	0,17	0,87	27,0	71,3
Ac. Fórmico				
Trat. D	0,20	0,99	-	54,0

4.1.2.) Crescimento de fungos

Os resultados médios para o crescimento de fungos nos diferentes tratamentos e tempos de conservação podem ser observados na Tabela 6.

A utilização de 15% de levedura industrial de cervejaria aumentou a susceptibilidade à deterioração do R.U.C. conforme pode ser observado pela

escala de pontos encontrada para o Trat. B, inclusive superando os valores do Trat. A a partir do quarto dia de armazenamento. A utilização do aldeído fórmico sozinho ou em mistura com ácido fórmico inibiu o crescimento de fungos, entretanto, o Trat. D mostrou-se mais eficaz do que o Trat. C para o controle.

A maior susceptibilidade do Trat. B em relação ao Trat. A para desenvolvimento de microrganismos aeróbicos, está provavelmente relacionada a inclusão de 15% de L.I.C.. BRUNING & YOKOYAMA (1988), avaliando diferentes características de L.I.C. composta de células vivas ou mortas e armazenadas em temperatura ambiente, observaram que a L.I.C. composta de células vivas foi mais resistente à deterioração por fungos do que a composta de células mortas. A L.I.C. composta de células mortas apresentava um intenso crescimento de fungos após cinco dias de armazenamento e a concentração de etanol na L.I.C. composta de células vivas foi apontada como a principal razão para as diferenças encontradas.

Tabela 6 - Resultados médios para o crescimento de fungos⁽¹⁾

tratamentos	0	Tempo de armazenamento(dias)				
		2	4	6	8	10
Trat. A	0	1	1	2	2	3
Trat. B	0	1	2	4	5	5
Trat. C	0	0	0	0	1	2
Trat. D	0	0	0	0	0	0

1 = Intensidade de crescimento de fungos segundo escala proposta por ALLEN et al. (1975): 0 - Deterioração não visível; 1 - Ligeiro crescimento de fungos; 2 - Crescimento de fungos e descoloração; 3 - Crescimento de fungos, descoloração e quebras na superfície; 4 - Crescimento de fungos, descoloração, quebras na superfície e ligeiro odor; 5 - Crescimento de fungos, deterioração e odor ofensivo.

microrganismos aeróbicos.

Pela intensidade de crescimento de fungos encontrada para o Trat. B

pode-se supor que a levedura utilizada nesse experimento apresentou uma baixa concentração de etanol e houve uma predominância de células mortas. As possíveis alterações na composição química não são uma provável razão para o aumento na intensidade de crescimento de fungos encontrada no Trat. B em relação ao Trat. A. Segundo WOOLFORD (1984), a concentração de componentes como açúcares, ácidos graxos voláteis, amônia, aminoácidos livres e, os valores de pH, não estão bem correlacionados à susceptibilidade de silagens a deterioração aeróbica.

De maneira semelhante ao Trat. A, JOHNSON et al. (1987a), também observaram a presença de fungos no R.U.C. a partir do sexto dia de armazenamento em aerobiose e ALLEN et al. (1975), testando os efeitos de diferentes aditivos sobre a conservação aeróbica do R.U.C., encontraram um aumento na escala de pontos para o tratamento testemunha (R.U.C. sem aditivos) a partir do quinto dia de armazenamento com valores de 2, 3 e 4 respectivamente para os dias 5, 7 e 9 de armazenamento. Nesse caso, a utilização de 0,4% (p/p) de uma mistura 1:1 de ácido fórmico e ácido propiônico (p/p) foi o tratamento mais efetivo em reduzir a superfície de deterioração do R.U.C..

JOHNSON & HUBER (1987b), avaliando a influência de três diferentes temperaturas de armazenamento (15,6; 26,7 e 37,8 graus centígrados) e quatro níveis de hidróxido de amônio (0; 1,57; 3,14 e 4,71% de amônia na matéria seca) sobre a conservação aeróbica dos resíduos de destilaria úmidos, também encontraram um crescimento de fungos substancial no resíduo não tratado ou tratado com o nível mais baixo de hidróxido de amônio. O aparecimento de fungos mostrou-se dependente da temperatura e tempo de armazenamento. Com uma temperatura de 26,7 graus centígrados o número de dias para o aparecimento fungos foi de 7 dias.

A presença de odores desagradáveis, possivelmente associados a processos de degradação da matéria orgânica do R.U.C., desencadeados pelo aparecimento de fungos e a presença de larvas de moscas, indicavam a falta de uma preservação efetiva do R.U.C. nos tratamentos A e B. Esta característica também foi observada por DIXON & COMBELLAS (1983) trabalhando com diferentes aditivos para conservação aeróbica do R.U.C..

As concentrações de aldeído fórmico utilizadas nos tratamentos C e D foram muito superiores a concentração mínima de 8 mmoles/litro proposta por

WOOLFORD (1975b) para controlar o crescimento de fungos, mas estão próximas aos valores de 0,25 a 0,33% da matéria original considerados pelo mesmo autor como necessários para utilização prática desse aditivo em silagens. Esses valores também estão de acordo com os propostos por WILKINSON et al. (1976) de 30 a 50g de aldeído fórmico/kg de proteína bruta para utilização do aldeído fórmico como um aditivo para silagem de gramíneas.

Apesar de BARRY & FENNESSY (1972), BROWN & VALENTINE (1972), MANN & McDONALD (1976) e THELINE & HONIG (1979) sugerirem que a utilização do aldeído fórmico reduz a estabilidade aeróbica de silagens, os resultados do tratamento C indicaram que esse aditivo foi efetivo para controlar o crescimento de fungos.

Possivelmente as diferenças entre os resultados estão associadas a fato de que grande parte do aldeído fórmico é decomposto durante o armazenamento, pois as dosagem utilizadas por BARRY & FENNESSY (1972) (1,70% da MS), MANN & McDONALD (1976) (0,73% da MS) e THELINE & HONIG (1979) (0,81 e 1,31% da MS) estão próximas ou acima da dosagem de aldeído fórmico utilizada no tratamento C (1,18% da MS). THELINE & HONIG (1979) encontraram uma redução exponencial na concentração desse aditivo em função do tempo de armazenamento em silagens e sugerem que concentrações de 0,34 a 0,40% da MS (2,80 a 3,30 mmol/litro) são insuficientes para garantir a estabilidade aeróbica.

Mesmo considerando que há uma redução na concentração do aldeído fórmico durante o processo de fermentação em silagens, ainda assim este parece ser efetivo no controle do crescimento de fungos. VALENTINE & BROWN (1972), utilizando o aldeído fórmico sozinho ou combinado com ácido fórmico como aditivos para silagem de alfafa (*Medicago sativa* L. cv. Du puits) e em concentrações semelhantes as empregadas neste experimento (0,9% de aldeído fórmico na matéria seca e 1,4% de ácido fórmico na matéria seca), encontraram um crescimento insignificante de fungos após 115 dias de armazenamento para as silagens tratadas com esses aditivos.

De forma diferente de THELINE & HONIG (1979), que responsabilizam as elevadas concentrações de ácido butírico pela maior estabilidade aeróbica de silagens de gramíneas tratadas com ácido fórmico ou uma mistura de ácido fórmico e aldeído fórmico, as concentrações de ácido butírico encontradas por VALENTINE & BROWN (1972) não podem ser responsabilizadas pela maior es-

tabilidade das silagens de alfafa (*Medicago sativa* L. cv. *Du puits*) porque as concentrações desse ácido nas silagens tratadas com aldeído fórmico (0,05% da matéria seca) e com a mistura de ácido fórmico e aldeído fórmico (nível não detectável) foram insuficientes para explicar a maior estabilidade encontrada.

A utilização de uma mistura 2:1 de formalina comercial e ácido fórmico no tratamento D garantiu uma maior estabilidade para o R.U.C.. Segundo WOOLFORD (1975a) o efeito de um ácido sobre a fermentação em silagens é um fenômeno complexo e, em diferentes taxas de aplicação, um ácido pode em um caso agir diretamente como um agente antimicrobiano e em outro afetar a atividade microbiana simplesmente por ter reduzido o pH.

Segundo WOOLFORD (1975a), em $\text{pH} \geq 4,0$ o ácido fórmico torna-se mais inibidor para leveduras, fungos e bactérias lácticas do que em valores mais elevados de pH. ALLEN et al. (1975), determinaram uma grande redução na superfície de deterioração do resíduo de cervejaria tratado com 0,4% de ácido fórmico e com taxas médias e altas de uma mistura de ácido fórmico e ácido propiônico.

A concentração mínima de ácido fórmico em pH 4,0, determinada por WOOLFORD (1975a) para inibir do crescimento de fungos foi de 100 mmoles/litro. Esta concentração é idêntica a utilizada por ALLEN et al. (1975) trabalhando com R.U.C. que apresentou um pH inicial de 4,0. Esses valores são superiores aos de 54 mmoles/litro de ácido fórmico empregados no tratamento D, indicando que em combinação com o aldeído fórmico, o ácido fórmico pode ser utilizado em concentrações inferiores ao valor mínimo de 100 mmoles/litros e ainda assim auxiliar o controle de crescimento de fungos no R.U.C..

4.1.3.) Temperatura da superfície e porcentagem de matéria seca.

Os resultados de temperatura da superfície e porcentagem de matéria seca do R.U.C. nos diferentes tempos de armazenamento podem ser observados na Tabela 7 e as equações de regressão linear e os coeficientes de correlação entre alguns dos parâmetros avaliados podem ser observados nos apêndices 1 e

2.

Todos os tratamentos apresentaram uma temperatura ligeiramente superior à temperatura ambiente no tempo zero em função da temperatura inicial do R.U.C..

A temperatura média da superfície do R.C.U. no tratamento A foi significativamente mais elevada do que os demais tratamentos o que pode ser atribuído a um crescimento de fungos a partir do segundo dia de armazenamento. Conforme pode ser observado na figura 1, houve um aumento linear na temperatura do R.U.C. no tratamento A em função do tempo de armazenamento e, aos 7 e 10 dias, a temperatura do R.U.C. apresentou-se 5,85 e 7,20 graus centígrados acima da temperatura ambiente média.

As temperaturas do R.U.C. neste tratamento foram positivamente correlacionadas aos valores de pH da superfície ($r=0,707$), nitrogênio amoniacal ($r=0,718$) e negativamente correlacionadas a porcentagem de matéria seca ($r=-0,521$) indicando que o crescimento de fungos, e consequentemente as elevações de temperatura, provavelmente estão relacionadas a redução linear na porcentagem de matéria seca do R.U.C. em função do tempo de armazenamento e a uma deterioração da matéria orgânica.

Esses dados concordam com a hipótese de WOLFFORD (1984) de que, durante a degradação aeróbica de silagens, a metabolização de substratos como os açúcares residuais, ácidos orgânicos, aminoácidos e proteínas resulta na formação de dióxido de carbono, amônia e água. A formação de amônia conduz a uma elevação do pH e, com a continuidade do processo de deterioração, há uma elevação de temperatura a qual é diretamente relacionada a perda de matéria seca na forma de dióxido de carbono.

Além disso, esses resultados são semelhantes aos obtidos por JOHNSON et al. (1987b) que, trabalhando com resíduo de destilaria úmido encontraram uma elevação de temperatura em função do tempo de armazenamento e atribuíram este fenômeno ao aparecimento de fungos no resíduo não tratado. A recuperação de matéria seca foi dependente da temperatura de armazenamento mas, crescimento de fungos e elevação de temperatura foram responsáveis por um aumento nas perdas de matéria seca.

Figura 1 - Temperatura média da superfície, para os 4 tratamentos, nos diferentes dias.

Tabela 7 - Resultados para temperatura, matéria seca, pH superfície, pH sub-superfície nos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Tempo (dias)				média	C.V. (%) ¹
	0	3	7	10		
Temperatura ²						2,07
Trat. A	27,50	27,00	30,25	31,00	28,94 ^a	
Trat. B	26,50	25,00	25,50	26,00	25,75 ^b	
Trat. C	25,00	23,50	23,50	23,00	23,75 ^c	
Trat. D	25,00	23,50	23,75	23,00	23,81 ^c	
Matéria seca (%)						1,42
Trat. A	20,41	19,30	19,37	18,67	19,43 ^b	
Trat. B	19,48	19,63	19,16	18,78	19,26 ^b	
Trat. C	19,90	20,05	21,41	21,64	20,50 ^a	
Trat. D	20,82	20,97	20,86	21,33	21,00 ^a	
pH superf. ³						5,23
Trat. A	3,69	4,81	5,21	8,18	5,47 ^a	
Trat. B	3,84	4,36	6,58	7,19	5,49 ^a	
Trat. C	3,64	3,72	3,86	3,74	3,74 ^b	
Trat. D	3,22	3,34	3,34	3,32	3,30 ^c	
pH sub-superfície ⁴						2,06
Trat. A	3,69	3,59	3,66	4,12	3,76 ^a	
Trat. B	3,84	3,66	3,66	3,72	3,72 ^a	
Trat. C	3,64	3,70	3,75	3,71	3,70 ^a	
Trat. D	3,22	3,29	3,24	3,24	3,25 ^b	

1 - Coeficiente de variação

2 - Temperatura em graus centígrados

3 - pH de 0 a 12 centímetros

4 - pH de 12 a 24 centímetros

Todavia, JOHNSON et al. (1987a), avaliando a influência de diferentes níveis de amônia (0, 2 e 4% da matéria seca) sobre a conservação aeróbica do R.U.C., não encontraram diferenças significativas entre as temperaturas do resíduo tratado ou não.

O tratamento B apesar de apresentar uma temperatura média significativamente mais elevada do que os tratamentos C e D e uma maior intensidade no crescimento de fungos na maioria das avaliações em relação ao tratamento A, não demonstrou alterações de temperatura. Aos 7 e 10 dias de armazenamento a temperatura do tratamento B mostrou-se apenas 1,1 e 2,2 graus centígrados acima da temperatura ambiente.

Esses resultados podem estar relacionadas a diferenças na porcentagem de matéria seca dos tratamentos A e B. Segundo WOOLFORD (1984), em silagens com uma baixa porcentagem de matéria seca perdas consideráveis por deterioração podem ocorrer sem que ocorra uma elevação de temperatura porque nessas condições a umidade pode atuar como um dreno para o calor gerado pelos processos de degradação.

De forma semelhante ao tratamento A houve uma redução linear na porcentagem de matéria seca do tratamento B, indicando uma perda de matéria orgânica nesse tratamento.

Para os tratamentos C e D as temperaturas se mantiveram abaixo da temperatura média diária, indicando uma boa condição de preservação em ambos tratamentos. Além disso, houve uma elevação linear na porcentagem de matéria seca do R.U.C. em função do tempo de armazenamento indicando que as perdas de matéria orgânica podem ter sido minimizadas.

Todavia, MANN & McDONALD (1976), testando vários aditivos em silagens de *Lolium multiflorum*, aplicados sozinhos ou em diferentes combinações, concluíram que as silagens tratadas com aldeído fórmico ou com misturas contendo este aditivo foram as menos aerobicamente estáveis.

Possivelmente as diferenças de pH entre a silagem *Lolium multiflorum* utilizada por MANN & McDONALD (1976) e o R.U.C. utilizado neste experimento podem ser responsabilizadas pelas diferenças encontradas, já que as concentrações de aldeído fórmico (0,22 e 0,17 vs. 0,17% da matéria orgânica) e

ácido fórmico (0,20 vs. 0,19% da matéria orgânica) utilizadas foram muito semelhantes entre os dois experimentos.

4.1.4.) pH da superfície e nitrogênio amôniaal

Os níveis médios de nitrogênio amôniaal nesse experimento, conforme demonstrado na Tabela 8, encontram-se abaixo daqueles relatados por ALLEN et al.. (1975) e possivelmente refletem o método de amostragem adotado, onde não houve uma separação entre amostras de superfície e sub-superfície, o que segundo ALLEN et al.. (1975), é um fator determinante dos níveis de nitrogênio amôniaal encontrados.

Os valores médios de pH da superfície dos tratamentos A e B mostraram-se significativamente mais elevados do que dos tratamentos C e D, e foram positivamente correlacionados com a concentração de nitrogênio amôniaal ($r=0,90$ e $r=0,93$ respectivamente). Tanto o pH da superfície como a concentração de nitrogênio amôniaal, aumentaram de forma linear com o tempo de armazenamento para os tratamentos A e B, conforme pode ser observado nas figuras 2 e 3.

A intensidade de crescimento de fungos na região superficial dos tratamentos A e B provavelmente foi o fator responsável pela elevação nos níveis de nitrogênio amôniaal o que por sua vez influenciou os valores de pH da superfície.

De maneira semelhante, DIXON & COMELLAS (1983), testando a efetividade do cloreto de sódio para a preservação aeróbica do R.U.C., também demonstraram uma elevação nos valores de pH e concentração de nitrogênio amôniaal em função do tempo de armazenamento.

JOHNSON et al. (1987a), também encontraram uma elevação nos níveis de nitrogênio amôniaal em função do tempo de armazenamento, com os maiores incrementos ocorrendo no R.U.C. não tratado. A desaminação da proteína do R.U.C. durante a deterioração aeróbica, foi apontada por esses autores como o fator responsável pelo aumento nos níveis de nitrogênio amôniaal no resíduo armazenado sem aditivos.

Da mesma forma, ALLEN et al. (1975) concluíram que a elevação de pH que ocorre na região superficial do R.U.C. armazenado aerobicamente está as-

sociada a concentração de amônia, que é produzida por desaminação oxidativa de aminoácidos por fungos saprófitas, encontrados no material armazenado.

Tabela 8 - Resultados para nitrogênio total, nitrogênio amôniaal e carboidratos solúveis nos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Tempo (dias)				média	C.V. (%) ¹
	0	3	7	10		
Nitrogênio total ⁴						5,57
Trat. A	5,40	5,46	5,75	6,13	5,68 ^b	
Trat. B	5,69	5,69	6,12	6,82	6,07 ^a	
Trat. C	5,49	5,20	5,52	5,29	5,38 ^b	
Trat. D	5,03	5,60	5,34	5,70	5,42 ^b	
Nitrogênio amôniaal ²						7,36
Trat. A	15,20	15,06	15,70	21,30	16,81 ^{ab}	
Trat. B	13,79	14,68	19,00	22,50	17,49 ^a	
Trat. C	16,53	16,90	15,73	17,13	16,57 ^b	
Trat. D	17,52	16,73	16,29	17,61	17,04 ^{ab}	
Carboidratos solúveis ³						13,71
Trat. A	1,85	4,24	8,11	10,30	6,12 ^a	
Trat. B	2,66	4,20	10,69	9,93	6,87 ^a	
Trat. C	0,88	3,36	3,97	3,19	2,85 ^b	
Trat. D	2,62	2,99	2,61	3,52	2,93 ^b	

1 - Coeficiente de variação

2 - Carboidratos solúveis como uma porcentagem da matéria seca

3 - Nitrogênio total como uma porcentagem da matéria seca

4 - Nitrogênio amôniaal como uma porcentagem do nitrogênio total

A diferença significativa de pH entre os tratamentos C e D pode ser explicada pela utilização do ácido fórmico, ocasionando uma redução significativa do pH do tratamento D durante o período de armazenamento.

Figura 2 - pH médio da superfície, para os 4 tratamentos, nos diferentes dias.

Figura 3 - Concentração média de nitrogênio amoniacal (% N total), para os 4 tratamentos, nos diferentes dias

A concentração de nitrogênio amoniacal não diferiu entre esses tratamentos e as boas condições de conservação do R.U.C. são evidenciadas pela pequena variação de pH e concentração de nitrogênio amôniacal, que mantiveram-se praticamente constantes durante o período de estudo.

Esses resultados provavelmente estão associados a menor intensidade de crescimento de fungos no tratamento C e a ausência desses no tratamento D. Assim a utilização do aldeído fórmico ou de uma mistura de aldeído fórmico com ácido fórmico nas concentrações empregadas nesse experimento, parece ser um procedimento efetivo para reduzir deterioração do R.U.C. armazenado aerobicamente.

4.1.5.) pH sub-superfície

Os valores médios de pH da sub-superfície para os tratamentos A, B e C não se mostraram significativamente diferentes entre si mas diferiram significativamente do tratamento D, conforme pode ser observado na Tabela 7. Essa diferença é explicada provavelmente pela utilização do ácido fórmico no tratamento D, determinando um menor valor médio para o pH.

É importante destacar que as diferenças entre os resultados para o pH da superfície e sub-superfície indicaram que o processo de deterioração do R.U.C. armazenado por períodos curtos de tempo, pode estar restrito a região superficial. Na sub-superfície as alterações de composição no R.U.C. ocorrem em função de um processo fermentativo com a produção de ácidos orgânicos (acético, láctico e butírico) e consequentemente valores de pH são mais baixos do que os valores encontrados na superfície, onde predomina um processo de degradação por microrganismo aeróbicos que utilizam como substrato ácidos orgânicos, carboidratos solúveis, proteínas e aminoácidos, produzindo CO_2 , H_2O e nitrogênio amôniacal.

Esta hipótese é confirmada pelos dados de ALLEN et al. (1975), que encontraram uma redução no pH da sub-superfície (75 cm profundidade) do R.U.C., em todos os tratamentos empregados.

4.1.6) Nitrogênio total

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8 e Figura 4, o tratamento B apresentou valores médios para nitrogênio total significativamente mais elevados do que os tratamentos A, C e D. Houve um aumento linear na concentração de nitrogênio total do tratamento B em função do tempo de armazenamento e esses valores foram negativamente correlacionados a porcentagem de matéria seca ($r = - 0,779$). O tratamento A, apesar de não diferir significativamente dos tratamentos C e D, apresentou um comportamento semelhante ao tratamento B, com um aumento linear no valores de nitrogênio total em função do tempo de armazenamento, e uma correlação negativa entre a porcentagem de matéria seca e a concentração de nitrogênio total ($r = - 0,806$).

Os resultados encontrados para os tratamentos A e B possivelmente são explicados pela perda de matéria seca que ocorreu nesses tratamentos e são concordantes com os de JOHNSON & HUBER (1987), onde o aumento na concentração de nitrogênio total de resíduos de destilaria armazenados aerobiamente foi correspondente ao decréscimo na recuperação de matéria seca.

Da mesma forma, STECKELY et al. (1979), avaliando as alterações de composição de L.I.C. armazenadas aerobicamente em diferentes temperaturas, também encontraram uma relação inversa entre o conteúdo de nitrogênio total e a recuperação de matéria seca.

A porcentagem de nitrogênio total não diferiu entre os tratamentos C e D e estas observações, quando associadas às variações na porcentagem de matéria seca desse dois tratamentos, indicaram que os aditivos utilizados melhoraram as condições de preservação do R.U.C.. STECKELY et al. (1979), também encontraram uma redução na perda de matéria seca da L.I.C. em função do tempo de armazenamento, quando utilizaram aditivos, principalmente quando incluía-se o aldeído fórmico e ácido fórmico.

Figura 4 - Nitrogênio total (% da matéria original), para os 4 tratamentos, nos diferentes dias.

4.1.7.) Carboidratos solúveis

Conforme pode ser observado na Tabela 8, as concentrações de carboidratos solúveis nos tratamentos A e B aumentaram linearmente em função do tempo de armazenamento e mostraram-se significativamente mais elevadas em relação aos tratamentos C e D. O aumento de concentração de carboidratos solúveis nos tratamentos A e B é possivelmente explicado pela hidrólise e metabolização de componentes da parede celular (celulose) por fungos que se desenvolveram na região superficial. Segundo McDONALD (1981), a presença de fungos em silagens é indesejável porque estes metabolizam não apenas os açúcares e ácido lático, mas também hidrolizam e metabolizam a celulose e outros componentes da parede celular.

As correlações positivas entre as concentrações de carboidratos solúveis e o pH da superfície ($r = 0,878$ e $0,954$) e concentração de nitrogênio amoniacal ($r = 0,778$ e $0,885$), juntamente com as correlações negativas entre a porcentagem de matéria seca e concentração de carboidratos solúveis ($r = -0,729$ e $-0,640$) nos tratamentos A e B, reforçam a hipótese levantada acima.

Estas observações discordam dos resultados de JOHNSON et al. (1987a), que encontraram uma redução na porcentagem de carboidratos solúveis em função do tempo de armazenamento do R.U.C. em aerobiose. A razão pela qual os possíveis produtos da hidrólise de componentes da parede celular foram metabolizados por fungos encontrados na região superficial dos tratamentos A e B é desconhecida.

As concentrações médias de carboidratos solúveis não diferiram entre os tratamentos C e D e, embora o tratamento C demonstre uma tendência a um aumento linear na concentração de carboidratos solúveis em função do tempo de armazenamento, as variações foram pequenas nos diferentes tempos estudados, o que reforça a hipótese de uma melhoria nas condições de preservação do R.U.C. com a inclusão dos aditivos.

Apesar de tratar-se de estudos de naturezas diferentes, os resultados de VALENTINE & BROWN (1972) reforçam a hipótese de uma melhoria nas condições de conservação do R.U.C. com a utilização do formaldeído e ácido fórmico como aditivos. Além de encontrarem um crescimento insignificante de fungos

em silagens de alfafa tratadas com aldeído fórmico e ácido fórmico, a concentração final de carboidratos solúveis foi provavelmente maior em função da menor concentração de ácidos orgânicos.

4.2) Experimento 2 - Parâmetros ruminais

4.2.) Parâmetros fisiológicos e microbiológicos do rúmen

4.2.1.) Variação no peso vivo dos animais

A variação de peso vivo dos animais durante o período experimental pode ser observada na Tabela 9. Esses dados representam os pesos iniciais dos animais em cada período, uma vez que, o peso final do período precedente é o mesmo peso inicial do próximo período.

Apesar das variações positivas e negativas de peso vivo dos animais entre os diferentes períodos, houve uma tendência para o aumento de peso em todos os animais durante o período experimental.

O aumento de peso vivo está relacionado a alteração da alimentação e sistema de manejo, porque, antes do início do experimento, os animais foram manejados em sistema de pastagem com suplementação de volumosos e concentrados, e durante o período experimental foram mantidos em confinamento total e recebendo uma dieta com níveis relativamente altos de concentrado. Para a vaca 265, parte da variação positiva de peso vivo também é explicada pelo fato de que este animal encontrava-se no quarto mês de gestação no início do experimento.

4.2.2) Composição dos componentes das dietas, rações fornecidas e sobras

Os resultados de composição bromatológica dos diferentes componentes das rações experimentais podem ser observados na Tabela 10.

Os dados de composição bromatológica do R.U.C. apresentaram valores percentuais de matéria seca e proteína bruta (determinada em amostras de matéria original) maiores do que os esperados. Dessa forma, a porcentagem de

R.U.C. na matéria seca das rações dos tratamentos B e C ficou acima dos valores programados, conforme pode ser observado na Tabela 11, porém sem afetar de maneira significativa a composição final das rações. As porcentagens de matéria seca e de proteína bruta do R.U.C. estão próximas aos valores encontrados por CARDOSO et al. (1982), trabalhando com um rebanho de vacas em lactação e utilizando o R.U.C. para substituir parte do concentrado da ração.

Tabela 9 - Variação de peso vivo dos animais nos três períodos experimentais.

Animais ¹	Períodos				
	P1	P2	P3		Variação
			Início	Final	
	kg				
264	563(A)	539(B)	574(C)	578	+ 15
265	412(B)	432(C)	436(A)	438	+ 26
1520	494(C)	494(A)	528(B)	511	+ 34

1 - Letras entre parênteses representam a distribuição dos animais nos tratamentos nos três períodos experimentais.

A porcentagem de proteína bruta do R.U.C. foi determinada na matéria original em função do elevado percentual de nitrogênio amoniacal encontrado em todas as partidas de R.U.C. utilizadas durante o experimento (média de 15 % do nitrogênio total).

Os resultados de composição bromatológica das rações fornecidas, estimados pela composição dos componentes e participação destes como uma porcentagem da matéria seca das rações, é mostrado na Tabela 12.

O tratamento A apresentou o maior percentual médio de matéria seca e a inclusão do R.U.C. contribuiu para reduzir a porcentagem média de matéria seca nos tratamentos B e C. A redução na porcentagem da matéria seca era

esperada porque o R.U.C. substituiu parte do concentrado nas rações B e C.

As rações B e C apresentaram percentuais de proteína bruta mais elevados do que a ração A porque, conforme descrito anteriormente, as porcentagens de matéria seca e proteína bruta do R.U.C. mostraram-se mais elevadas do que o esperado. A inclusão do R.U.C. nos tratamentos B e C elevou a porcentagem de extrato etéreo, mostrando-se 50 % mais elevada nesses tratamentos do que para o tratamento A.

As porcentagens médias de nutrientes digestíveis totais para as três rações foram muito semelhantes porque apesar das rações B e C apresentarem uma maior porcentagem de fibra bruta e uma menor porcentagem de extrativos não nitrogenados, as porcentagens de proteína bruta e extrato etéreo foram mais elevadas para as rações B e C.

Tabela 10 - Composição bromatológica média dos diferentes componentes das rações experimentais.

Parâmetro	Componentes				
	Silagem	Concentrado 1	Concentrado 2	R.U.C. ²	R.U.C.trat. ³
M.S.(%)	31,70±0,68	87,10±0,21	87,50±0,46	23,00±2,22	22,90±2,60
M.M.(%) ¹	6,70±0,45	4,70±0,18	4,90±0,14	3,30±0,01	3,20±0,09
F.B.(%)	27,10±3,02	6,10±0,36	4,00±0,11	15,70±0,39	15,50±0,42
P.B.(%)	8,40±0,25	20,00±0,79	15,30±0,04	31,70±0,27	32,70±0,90
E.N.N.(%)	55,60±3,44	66,80±0,87	72,30±0,19	41,40±0,08	40,80±0,82
E.E.(%)	2,30±0,25	2,40±0,02	3,50±0,25	7,90±0,24	7,80±0,18
N.D.T.(%)	60,30±2,48	79,90±0,36	77,50±0,25	76,00±0,68	76,30±0,60
F.D.A.(%)	33,50±2,89	10,20±0,27	6,30±0,35	24,80±0,82	24,80±0,69

1- Valores expressos como uma porcentagem da matéria seca 2- Desvio padrão

M.S. = Matéria seca, F.B. = Fibra bruta, P.B. = Proteína bruta, E.N.N. = Extrativos não nitrogenados, E.E. = Extrato etéreo, N.D.T. = Nutrientes digestíveis totais. Calculado segundo equações de KEARL (1982), F.D.A. = Fibra em detergente ácido.

2 - R.U.C. = Resíduo Úmido de Cervejaria

3 - R.U.C. trat. = Resíduo Úmido de Cervejaria Tratado com 0,52% de formalina.

A concentrações de F.D.A nas rações B e C mostraram-se mais elevadas do que no tratamento A, devido ao maior percentual de F.D.A. do R.U.C. em relação aos concentrados utilizados.

O nível médio de aplicação de aldeído fórmico empregado nesse experimento foi de 0,84% da matéria seca e esse valor será utilizado para discussão dos efeitos da inclusão do formadeído no R.U.C. sobre parâmetros fisiológicos e microbiológicos do rúmen.

Os resultados de composição bromatológica média das sobras das três rações são mostrados na Tabela 13.

Pelos resultados observados constatou-se que as sobras apresentaram porcentagens de fibra bruta e F.D.A. mais elevadas e um menor percentual de proteína bruta em relação as rações fornecidas. Ainda, pelas observação das sobras no cocho de alimentação, constatou-se que estas eram compostas basicamente por hastes e outras partes mais fibrosas de silagem de sorgo, explicando as diferenças de composição e destacando a capacidade seletiva dos animais.

4.2.3.) Consumo médio de matéria seca e água.

Os resultados de consumo médio diário de matéria seca (quilogramas) e água (litros), e ambos como uma porcentagem do peso vivo para as três rações utilizadas encontram-se na Tabela 14.

Analisando-se os dados da Tabela 14 verificou-se que o tratamento A proporcionou um consumo de matéria seca significativamente mais elevado do que o tratamento C com o tratamento B ocupando uma posição intermediária. O consumo mais elevado no tratamento A, em relação ao tratamento C, pode ser explicado por uma maior porcentagem de matéria seca da ração A ou por um efeito direto da utilização da formalina (37 % de aldeído fórmico) sobre o consumo.

O efeito depressivo da formalina sobre o consumo de matéria seca parece ser confirmado pelas diferenças na ingestão entre os tratamentos B e C que, apesar de não se mostrarem significativas, observou-se uma tendência de redução de consumo do tratamento C, embora ambas as rações apresentassem valores muito semelhantes de matéria seca.

Tabela 11 – Participação porcentual programada e encontrada dos diferentes componentes das rações experimentais durante o período experimental.

Componentes ¹	Tratamentos		
	TRAT. A	TRAT. B	TRAT. C
Silagem – programado	60,00	60,00	60,00
– encontrado	60,09±0,03 ³	58,92±1,74	59,30±2,00
C 1 – programado	40,00	–	–
– encontrado	39,91±0,03	–	–
C 2 – programado	–	25,00	25,00
– encontrado	–	24,36±0,46	24,47±0,72
R.U.C. – programado	–	15,00	–
– encontrado	–	16,72±2,20	–
R.U.C. ₂ – programado	–	–	15,00
– encontrado	–	–	16,24±2,66

1 - Valores como uma porcentagem da matéria seca

2 - R.U.C. tratado com 0,52 % de formalina.

3 - Desvio padrão.

Tabela 12 - Composição bromatológica média das rações fornecidas¹.

Parâmetros	Tratamentos		
	TRAT. A	TRAT. B	TRAT. C
M.S. (%) ³	42,40±0,75	34,89±0,05	34,94±0,18
M.M. (%) ⁴	5,89±0,32 ²	5,67±0,19	5,66±0,18
F.B. (%) ⁵	18,70±1,87	19,53±1,70	19,52±1,74
P.B. (%) ⁶	13,01±0,32	13,98±0,50	14,02±0,45
E.N.N. (%) ⁷	60,07±2,02	57,31±2,32	57,32±2,31
E.E. (%) ⁸	2,33±0,15	3,56±0,07	3,51±0,14
N.D.T. (%) ⁹	68,14±1,58	67,17±1,23	67,15±1,36
F.D.A. (%) ¹⁰	24,21±1,81	25,39±1,60	25,44±1,85

1 - Resultados expressos como uma porcentagem da matéria seca; 2 - Desvio padrão

3 - M.S. = matéria seca, 4 - M.M. = matéria mineral, 5 - F.B. = fibra bruta, 6 - P.B. = proteína bruta, 7 - E.N.N. = extrativos não nitrogenados, 8 - E.E. = extrato etéreo, 9 - N.D.T. = nutrientes digestíveis totais, 10 - F.D.A. = fibra em detergente ácido.

Tabela 13 - Composição bromatológica média das sobras das três rações fornecidas¹.

Parâmetros	Tratamentos		
	TRAT. A	TRAT. B	TRAT. C
M.S. (%) ³	32,13±1,48	31,93±0,45	30,22±1,70
M.M. (%) ⁴	7,69±0,14 ²	6,67±0,43	6,75±0,22
F.B. (%) ⁵	31,31±0,96	27,66±1,84	28,28±0,47
P.B. (%) ⁶	10,75±0,38	10,98±0,12	10,85±0,18
E.N.N. (%) ⁷	48,20±0,77	52,21±2,22	51,03±0,40
E.E. (%) ⁸	2,05±0,06	2,47±0,16	3,09±0,07
F.D.A. (%) ⁹	37,42±1,69	34,45±1,87	35,76±1,53

1 - Resultados expressos como uma porcentagem da matéria seca; 2 - Desvio padrão

M.S. = matéria seca, M.M. = matéria mineral, F.B. = fibra bruta, P.B. = proteína bruta, E.N.N. = extrativos não nitrogenados, E.E. = extrato etéreo, N.D.T. = nutrientes digestíveis totais, F.D.A. = fibra em detergente ácido.

Esta observação é confirmada pelos resultados de HOLTER & URBAN (1992) onde a porcentagem de matéria seca da ração não influenciou o consumo de matéria seca de vacas secas alimentadas com forragens conservadas. Da mesma forma, ROBINSON et al. (1990), também não encontraram diferenças significativas no consumo de matéria seca entre rações com 35, 45 e 65% de matéria seca fornecidas para vacas em lactação.

A participação do R.U.C. em até 15% da matéria seca da ração ou substituindo 37,5% do concentrado parece não afetar significativamente o consumo de matéria seca, conforme pode ser constatado pelos resultados apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Consumo médio diário de matéria seca e água para as três rações estudadas.

	Tratamentos			
Parâmetros	TRAT. A	TRAT.B	TRAT. C	C.V. ² (%)
Consumo de M.S.				
- kg/dia	12,00 ^{a1}	11,83 ^{ab}	10,37 ^b	4,02
- % / P.V. ³	2,39 ^a	2,33 ^{ab}	2,05 ^b	3,72
Consumo de H ₂ O				
- l/dia ⁴	40,33 ^a	34,00 ^b	31,27 ^b	4,09
- % / P.V.	7,93 ^a	6,54 ^b	6,03 ^b	4,94

1 = Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

2 = Coeficiente de variação.

3 = Consumo médio como uma porcentagem do peso vivo.

4 = Consumo médio em litros por dia.

De forma semelhante, MURDOCK et al. (1981) forneceram para vacas em lactação até 30% da matéria seca da ração, ou 50% da mistura de concentrados como R.U.C. e não encontraram reduções significativas de consumo. CARDOSO et al. (1982) substituindo 42,9 e 85,8% do concentrado de vacas em lactação por R.U.C. encontraram um consumo de matéria seca significativamente maior para vacas que recebiam 42,9% do concentrado como R.U.C., e a inclusão deste resíduo em 85,8% da mistura de concentrados não alterou significativamente o consumo.

Da mesma forma, HOFFMAN & ARMENTANO (1988), avaliaram o R.U.C. como única fonte protéica para vacas em início de lactação produzindo mais de 35 kg de leite/dia e também encontraram consumos semelhantes entre os tratamentos quando o resíduo participou em 23,0% da matéria seca total. WEST & ELY (1992) incluindo o R.U.C. em 15 e 30% da matéria seca da ração de vacas Jersey em lactação, também não encontraram reduções significativas de

consumo com a utilização do R.U.C.

Todavia, DAVIS et al. (1983) encontraram reduções significativas no consumo de matéria seca de vacas em lactação quando o R.U.C. participou com 30 e 40% da matéria seca total, mas a inclusão do resíduo em 20% da matéria seca não afetou de forma significativa o consumo.

De forma semelhante, PORTER & CONRAD (1975), avaliando diferentes fontes de proteína suplementar para vacas em lactação encontraram uma redução no consumo de matéria seca quando o R.U.C. foi utilizado como suplemento atendendo 20% do consumo total de matéria seca, e POLAN et al. (1985) encontraram uma redução de consumo quando o R.U.C. era utilizado em 29% da matéria seca como um suplemento protéico.

JOHNSON & HUEBER (1987) comparando o R.U.C., (15 a 26% da matéria seca) ensilado ou não e suplementado ou não com uréia, ao farelo de soja como fonte suplementar de proteína, encontraram uma redução significativa no consumo de matéria seca que tornou-se mais acentuada com o avançar do período experimental. Da mesma forma, COMBELLAS (1983), substituindo 30% e 60% do concentrado de vacas em lactação por R.U.C. encontraram uma redução no consumo de concentrado com o avançar do tempo de armazenamento possivelmente relacionada à deterioração do R.U.C..

De forma diferente à encontrada nesse experimento a utilização de aldeído fórmico como um aditivo para silagens pareceu não ter afetado (BARRY, 1976) ou melhorado significativamente o consumo de matéria seca de silagem tratadas com este aditivo (VALETINE & BROWN, 1973; BARRY, 1975; BARRY et al., 1978 e DONALDSON & EDWARDS, 1979) quando aplicado em níveis semelhantes ou acima do nível utilizado nesse experimento (0,52 a 2,1% da matéria seca).

O aumento de consumo com a utilização do aldeído fórmico, segundo os autores citados acima, possivelmente está relacionado a uma redução na concentração dos produtos de fermentação de silagens (nitrogênio amoniacal e ácidos orgânicos). BARRY et al. (1978) demonstram que o consumo voluntário de matéria seca apresentou uma relação inversamente significativa entre os níveis de ácido acético e nitrogênio amoniacal com o consumo de matéria seca em silagens de alfafa sem tratamento com aldeído fórmico.

Entretanto, BROWN & VALETINE (1972) utilizando níveis elevados de

aldeído fórmico (3,2; 4,7 e 6,4% da matéria seca) como aditivo para silagens de alfafa encontraram uma redução significativa no consumo de matéria seca e atribuíram esses resultados a uma redução na palatabilidade e a um decréscimo de digestibilidade, relacionado a uma menor taxa de digestão de alimentos no retículo-rúmen.

Apesar do nível de aldeído fórmico utilizado nesse experimento ser inferior ao de BROWN & VALENTINE (1972) e os níveis de aplicação estarem compatíveis com as recomendações de WILKINSON et al. (1976) para utilização do formaldeído como um aditivo para silagens de gramíneas (30 a 50 gramas de aldeído fórmico/kg de proteína), alterações na fermentação ruminal, associadas a uma redução de digestibilidade da dieta no retículo-rúmen, parecem responder pelo menor consumo de matéria seca encontrado para o tratamento C.

Analisado-se os dados de consumo de água apresentados na Tabela 14, verifica-se que o tratamento A apresentou um consumo significativamente mais elevado do que os tratamentos B e C.

As diferenças no consumo de água podem ser explicadas pela porcentagem de matéria seca e pelas diferenças no consumo entre as rações. A diferença na porcentagem de matéria seca entre as rações A e B pode explicar a diferença no consumo de água entre as duas rações. A diferença no consumo de matéria seca e porcentagem de unidade da ração foi responsável pelo menor consumo de água no tratamento C em relação ao A.

HOLTER & URBAN (1972), observaram que a porcentagem de matéria seca da ração, o consumo de matéria seca e o quadrado da porcentagem de proteína bruta da ração são variáveis que respondem por dois terços da variação no consumo de água. Para cada aumento de uma unidade percentual de matéria seca da ração, o consumo de água aumenta em 0,23 kg/dia e para cada kg de matéria seca este aumento é de cerca de 2,2 kg de água/dia. Resultados semelhantes são relatados por MCCOY et al. (1986) que encontraram uma redução significativa no consumo de água, quando incluíram o R.U.C. ou rehidratado em 40% da matéria seca de rações de vacas em lactação. DAVIS et al. (1983) também encontraram uma redução significativa no consumo de água em rações onde o R.U.C. atendia a 40% do consumo diário de matéria seca e atribuíram esses resultados a redução no consumo de matéria seca.

4.2.4.) pH ruminal e nitrogênio amônia- cal

Os resultados para pH ruminal médio e concentração de nitrogênio amônia- cal para as três rações utilizadas encontram-se na Tabela 15. Analisando-se esses resultados, verifica-se que todos os tratamentos diferiram entre si para os valores médios de pH ruminal. O menor valor médio de pH para o tratamento A, em relação aos tratamentos B e C, pode ser explicado pela maior concentração de carboidratos não estruturais encontrada na ração A (39,8% vs. 34,3 e 34,2% para as rações A, B e C respectivamente), determi- nando uma maior intensidade de fermentação ruminal.

Tabela 15 - Resultados médios para o pH ruminal e nitrogênio amônia- cal para as três rações estudadas.

Parâmetros	Tratamentos			
	TRAT.A	TRAT.B	TRAT.C	C.V. ² (%)
pH ruminal	6,54 ^c	6,61 ^b	6,74 ^a	1,95
N-NH ₃ (mg/dl)	4,39 ^a	2,91 ^a	3,26 ^a	45,60

1 = Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

2 = Coeficiente de variação.

Os valores médios de pH para os três períodos, nos diferentes horários de coleta, podem ser observados na figura 5 e apêndice 3. Para todos os tratamentos nos diferentes horários de coleta, os valores de pH sempre situaram-se acima do valor crítico ($\leq 6,0$) proposto por SLYTER (1986) para digestão microbiana da matéria seca e celulose, entretanto, para os trata- mentos A e B, 6, 9 e 12 horas após a alimentação, os valores de pH foram próximos ou inferiores ao valor de 6,2 proposto por GRANT & MERTENS (1992) como limite mínimo para que as taxas de digestão e tempo de colonização do F.D.N. de diferentes substratos não fossem afetados negativamente.

Figura 5 - Valores médios de pH ruminal, para os três tratamentos, nos diferentes horários.

As diferenças de pH entre o tratamento A e o tratamento B estão provavelmente relacionadas às quantidades diárias de milho ingeridas (3,23 kg para o tratamento A vs. 2,40 kg para o tratamento B) e a uma maior fermentabilidade do farelo de algodão em relação ao R.U.C..

A maior fermentabilidade do farelo de algodão em relação ao resíduo de cervejaria foi responsável pela maior concentração de ácidos graxo voláteis encontrada por HERRERA-SALDANA & HUBER (1989), e pode explicar parte da diferença de pH entre o tratamento A e B.

O valor médio de pH para o tratamento B é maior do que os valores encontrados por DAVIS et al. (1983) (6,2 a 6,5), que trabalhou com níveis de R.U.C. de 20 a 40% da matéria seca total, possivelmente em função da maior porcentagem de forragem utilizada neste experimento (60% vs. 40% da matéria seca total). No experimento de DAVIS et al. (1983), independentemente do nível de inclusão do R.U.C., houve elevação do pH ruminal em relação a utilização do farelo de soja como suplemento protéico.

Todavia, o valor médio de pH do tratamento B é menor do que os valores médios de MURDOCK et al. (1981) (7,0) que, trabalhando com R.U.C. (15 e 30% da matéria seca) e farelo de soja como suplementos protéicos, observaram que o pH não foi afetado pelo suplemento utilizado. Os valores obtidos por MURDOCK et al. (1981) correspondem a coletas realizadas com sonda esofagiana determinando valores de pH mais elevados do que valores obtidos em coletas realizadas diretamente do rúmen utilizando-se animais fistulados.

A diferença entre os tratamentos B e C para o valor médio de pH pode estar relacionada ao efeito da formalina que, por tratar-se de um agente esterelizante e por reduzir a solubilidade da proteína no rúmen, afeta o crescimento da população de microrganismos do rúmen determinando uma menor intensidade de fermentação ruminal.

Esta hipótese parece ser confirmada pelos resultados de ARNOLD et al. (1978), que utilizando dosagens de aldeído fórmico superiores as utilizadas nestes experimento (1,1 a 1,4% da matéria seca) como um aditivo para silagens de alfafa e azevém, encontraram uma redução na intensidade de fermentação ruminal, caracterizada por um menor crescimento microbiano, menor produção de ácidos graxos voláteis e uma ligeira elevação do pH ruminal.

Da mesma forma, SPEARS et al. (1985), observaram uma menor concentração

de ácidos graxos voláteis e pH ruminal mais elevado em animais ingerindo rações contendo farelo de soja (9,5% da matéria seca) tratados com diferentes níveis de aldeído fórmico (0; 0,3; 0,6 e 0,9% da matéria seca) sugeriram que a fermentação ruminal pode ter sido deprimida, possivelmente por concentrações de nitrogênio amôniaal muito baixas.

Todavia, NAGEL & BRODERICK (1992), não encontraram diferenças significativas de pH ruminal quando forneceram silagens de alfafa para vacas em lactação, tratadas ou não com 0,31% de aldeído fórmico na matéria seca. Dessa forma, a intensidade de fermentação ruminal avaliada pelo pH, parece ser determinada pelo nível de aldeído fórmico empregado.

Os níveis de nitrogênio amôniaal no rúmen não foram significativamente diferentes entre os tratamentos, possivelmente em função do elevado coeficiente de variação apresentado por esta variável. De uma forma geral, os valores médios em todos os tratamentos estiveram abaixo da concentração mínima de 5,0 mg/dl proposta por SATTER & SLYTER (1974) para uma produção máxima de proteína microbiana. Entretanto, considerando-se que este nível foi estabelecido para permitir uma ligeira margem de excesso e que a produção de proteína microbiana foi realmente maximizada com 2,0 mg/dl, observando-se a figura 6 verifica-se que estes valores estiveram acima deste mínimo por 9, 4 e 6 horas após a alimentação para os tratamentos A, B e C respectivamente.

Uma hora após a alimentação, conforme pode ser observado no apêndice 4, todos os tratamentos apresentavam uma concentração máxima de nitrogênio amôniaal, no entanto, esses valores sempre foram inferiores a concentração mínima de 23,5 mg/dl proposta por MEHREZ et al. (1977) para uma taxa máxima de fermentação ruminal. Entretanto, de acordo com EROMAN et al. (1986), a concentração mínima de nitrogênio amôniaal para máxima fermentação ruminal não é um valor constante e depende da fermentabilidade do substrato.

A semelhança dos resultados de ROGERS et al. (1986), o pico na concentração de nitrogênio amôniaal para o tratamento B ocorreu uma hora após a alimentação, porém com um valor inferior (8,00 vs. 5,39 mg/dl respectivamente) ao demonstrado por esses autores. Os resultados de ROGERS et al. (1986), indicaram que a concentração de nitrogênio amôniaal esteve acima do limite de 5,0 mg/dl por um período de apenas 4 horas com a utilização do

R.U.C., o que constitui-se, segundo os autores, em um indicativo de que a baixa concentração de nitrogênio amoniacal nessas rações é uma função da baixa quantidade de nitrogênio solúvel em resíduos de cervejaria.

Comparando os resultados obtidos nesse experimento com os determinados por outros autores, verificou-se que os valores de nitrogênio amoniacal obtidos por HERRERA-SALDANA & HUBER (1989), trabalhando com farelo de algodão e R.D.C., foram superiores aos tratamentos A e B, possivelmente em função do maior porcentual de proteína bruta utilizado por esses autores.

A semelhança dos resultados de HERRERA-SALDANA & HUBER (1989), porém sem demonstrar diferença significativa, a concentração de nitrogênio amoniacal encontrada para o tratamento A (farelo de algodão) foi superior a do tratamento B (R.U.C.).

Já MURDOCK et al. (1981) empregando uma quantidade de R.U.C. (15% da matéria seca da ração) semelhante à utilizada neste experimento, em rações a base de silagem de milho, feno de alfafa e concentrado fornecidas para vacas em lactação, encontraram uma concentração média maior de nitrogênio amoniacal (9,0 mg/dl) do que a determinada para o tratamento B. Da mesma forma, POLAN et al. (1985) comparando diferentes suplementos protéicos e níveis de proteína em rações para vacas em lactação também determinaram uma concentração média de nitrogênio amoniacal mais elevada do que a encontrada para o tratamento B (13,4 mg/dl), quando o R.U.C. representava 13% da matéria seca total da ração.

De forma contrária aos trabalhos, BEEVER et al. (1977); ARNOLD et al. (1978), SPEARS et al. (1985) e BEEVER et al. (1987), que encontraram uma redução na concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal com a utilização do aldeído fórmico como um aditivo para silagens, ou como uma forma de reduzir a solubilidade do nitrogênio de suplementos proteicos como o farelo de soja, a utilização do aldeído fórmico como conservante do R.U.C. no tratamento C mostrou níveis de nitrogênio amoniacal mais elevados do que o R.U.C. não tratado (tratamento B) o que pode indicar alterações na taxa de utilização do nitrogênio amoniacal no rúmen por um efeito direto sobre a fermentabilidade da dieta ou sobre a população microbiana do rúmen.

Figura 6 - Valores médios de nitrogênio amoniacal, para os três tratamentos, nas diferentes horas.

Os resultados de ARNOLD et al. (1978), indicaram que o efeito bacteriostático do aldeído fórmico, utilizado como aditivo em 1,1 e 1,4% da matéria seca de silagens de alfafa e azevém respectivamente, reduziu o desenvolvimento de bactérias ruminais.

4.2.5.) Ácidos graxos voláteis

Os resultados referentes aos ácidos graxos voláteis são mostrados na Tabela 16 e apêndices 5, 6, e 7, enquanto os resultados referentes a contagem de protozoários (Entodiniomorfa, holotrica e total), balanço de fermentação ruminal e degradação da casca de soja *in situ* podem ser observados na Tabela 17.

A redução significativa na quantidade de ácido acético e butírico no tratamento C, em relação ao tratamento A, possivelmente está relacionada a menor quantidade de hexose fermentada no tratamento C (Tabela 17). A menor população de protozoários (Tabela 17) no tratamento C, embora não significativamente diferente do tratamento A, pode explicar a menor quantidade de hexose fermentada, a redução na produção total do ácidos graxos voláteis bem como a alteração em suas proporções molares.

O efeito da redução na população de protozoários sobre as proporções molares dos ácidos graxos voláteis também foi evidenciado pela redução significativa na produção de ácido butírico e pelo aumento não significativo na produção de ácido propiônico no tratamento B, comparado ao tratamento A. As alterações na produção de ácidos graxos voláteis ficam melhor caracterizada quando observa-se (Tabela 16) as porcentagens molares (% molar) de ácidos graxos voláteis encontradas para os diferentes tratamentos.

Esses resultados são concordantes com DEMEYER & VAN NEVEL (1979), que indicaram haver um aumento na produção de propionato, associado a uma menor produção de acetato, butirato e metano, além de uma redução na fermentação de hexoses no rúmen de animais defaunados quando comparados a animais portadores de fauna ruminal normal. Da mesma forma, VEIRA (1986) e JOUNAY et al. (1988), relatam que o principal efeito da defaunação sobre os ácidos graxos voláteis do rúmen, foi uma redução na proporção molar de ácido butírico com uma concomitante elevação na proporção de ácido propiônico.

Tabela 16 - Resultados médios para os ácidos graxos voláteis obtidos nos três tratamentos

Ácidos graxos voláteis	Tratamentos			C.V.(%) ²
	Trat. A	Trat. B	Trat. C	
Ácético(mmol/dl)	3,37a ¹	3,38a	2,92b	5,66
Propiônico(mmol/dl)	1,07a	1,28a	1,14a	9,12
Butírico(mmol/dl)	1,28a	0,97b	0,72c	14,36
Total(mmol/dl)	5,73a	5,63a	4,78a	6,59
Ac:Prop	3,21a	2,67a	2,65a	5,85
Ácético(% molar)	59,75a	60,45a	62,10a	3,00
Propiônico(% molar)	18,75a	22,74a	23,52a	4,28
Butírico(% molar)	22,04a	15,81b	14,39c	10,10

1 = Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

2 = Coeficiente de variação.

O aumento na proporção de ácido propiônico provavelmente foi induzido por uma mudança na população de bactérias do rúmen. De acordo com USHIDA et al. (1986), o aumento na proporção molar de ácido propiônico pode estar relacionado a um aumento no número de bactérias amilolíticas (*B. ruminicola* e *B. amylophilus*) que produzem succinato.

Considerando a íntima relação existente entre bactérias metanogênicas e protozoários em processos de transferência de hidrogênio no rúmen, conforme proposto por JOUNAY et al. (1988), pode-se concluir que, com a redução na população de protozoários nos tratamentos B e C, o aumento na população de bactérias amilolíticas sugere como uma alternativa, a utilização de hidrogênio livre no rúmen.

A quantidade média de milho ingerida (3,23 kg/dia) no tratamento A, em relação aos tratamentos B e C (2,40 kg/dia), provavelmente foi responsável pela maior população de protozoários, explicando a alta proporção de ácido butírico encontrada nesse tratamento. Esses resultados são concordantes com a proposição de EADIE & MANN (1970), de que em rações com uma elevada

quantidade de grãos os protozoários presentes no rúmen produzem altas proporções de ácido butírico.

Os resultados encontrados nos tratamentos A e B diferiram dos descritos por HERRERA-SALDANA & HUBER (1989) em relação a proporção molar de ácidos graxos voláteis, provavelmente em função da elevada porcentagem de concentrado utilizada por esses autores (65% da matéria seca total).

Os resultados do tratamentos B diferiram dos resultados de ROGERS et al. (1986), que encontraram uma maior produção total de ácidos graxos voláteis (8,52 milimoles/dl vs. 5,63 milimoles/dl), uma maior porcentagem molar de ácido acético (67,6% vs. 60,5%) e uma menor porcentagem molar de ácido propiônico (20,0% vs. 22,74%) quando suplementaram novilhos em crescimento com 22% de R.U.C. em uma base da matéria seca total da ração. Provavelmente a maior porcentagem de volumoso (76% da matéria seca total) utilizada por esses autores pode ser responsabilizada pelas diferenças encontradas.

De forma diferente dos tratamentos B e C, os resultados encontrados por DAVIS et al. (1983) indicaram que há uma elevação na porcentagem molar de ácido acético e uma redução na porcentagem de ácido propiônico quando o R.U.C. é fornecido em até 40% da matéria seca total da ração. De maneira contrária a observada nesse experimento, onde as rações apresentavam porcentagens semelhantes de fibra em detergente ácido, nas rações utilizadas por DAVIS et al. (1983) havia uma elevação nos níveis de fibra em função do aumento da participação do R.U.C. explicando dessa forma as diferenças observadas.

Todavia, os resultados encontrados para o tratamento B são semelhantes aos descritos por MURDOCK et al. (1981), em relação as proporções molares de ácidos graxos voláteis, quando esses autores forneceram 20% da matéria seca da ração como R.U.C..

4.2.6.) Contagem de protozoários e desaparecimento da casca de soja

Para todos os parâmetros referentes a contagem de protozoários (Tabela 17), a causa de variação "hora" mostrou um efeito significativo sobre a contagem de protozoários da sub-classe holotricha e contagem total. Os

resultados referentes a contagem total em relação as horas estudadas podem ser observados na figura 7 e apêndice 8.

Tabela 17 - Resultados médios de contagem de protozoários, balanço de fermentação ruminal e degradação in situ de casca de soja.

Parâmetros	Tratamentos			C.V.(%) ⁴
	Trat. A	Trat. B	Trat. C	
Protozoários				
Spirotricha (#10 ⁴ /ml)	39,6a	23,5a	16,2a	18,00
Holotricha (#10 ⁴ /ml)	0,49a	0,11a	0,01a	191,25
Total (#10 ⁴ /ml)	40,0a	23,6a	16,2a	18,14
Balanço de fermentação ¹				
C ₆ fermentada (mol)	61,80	58,40	57,20	-
Energia em A.B.V. (%) ²	75,20	76,00	75,90	-
Energia em CH ₄ (%) ³	18,50	17,70	17,80	-
Desaparecimento				
12 horas (%)	39,90a	45,66a	41,47a	7,07
24 horas (%)	67,69a	69,23a	65,73a	

1 = Calculado conforme proposto por WOLIN (1960) e considerando os seguintes valores de calor de combustão: glucose (C₄) = 672,0 kcal/mol; ácido acético = 209,4 kcal/mol; ácido propiônico = 367,2 kcal/mol; ácido butírico = 524,3 kcal/mol; metano (CH₄) = 210,8 kcal/mol.

2 = Calculado como uma porcentagem da energia da glucose fermentada que é recuperada em A.B.V.

3 = Calculado como uma porcentagem da energia da glucose fermentada que é perdida como metano.

4 = Coeficiente de variação.

Percebe-se, através a figura 7, que a contagem total de protozoários em todos os tratamentos sofreu uma redução linear em função do horário de coleta. Essas observações concordam com os resultados de MICHALOWSKI & MUSZYNSKI (1978), que encontraram um número máximo de protozoários imediata-

mente antes da alimentação e um decréscimo para valores mínimos nas contagens entre 4 e 12 horas após a alimentação, principalmente quando os animais eram alimentados apenas uma vez ao dia.

A redução na concentração de protozoários após a alimentação conforme constatado para os diferentes tratamentos está provavelmente associada a uma diluição do conteúdo ruminal em função do consumo de alimento e água, da salivagem e da passagem de digesta, conforme proposição de MICHALOWSKI (1977).

Entretanto, esses resultados diferiram dos de YANG & VARGA (1989), que não observaram flutuações na população de protozoários em amostras de rúmen coletadas em diferentes horários após a alimentação.

O acréscimo esperado na contagem de protozoários sub-classe holotricha após a alimentação, conforme proposto por ABE et al. (1981), provavelmente não ocorreu para os tratamentos B e C porque, de uma maneira geral, as contagens da sub-classe Holotricha nesses tratamentos mostraram-se sempre baixas e em muitas oportunidades não foram encontrados exemplares dessa sub-classe. Para o tratamento A, as flutuações na população dessa sub-classe estão de acordo com ABE et al. (1981) com as contagens máximas ocorrendo uma hora após a alimentação, entretanto estes protozoários também participavam com uma parcela muito pequena das contagens totais (1,22%).

A razão para uma ausência de exemplares da sub-classe Holotricha pode estar relacionada a utilização do R.U.C.. A ausência de protozoários da sub-classe Holotricha também foi descrita por ROGERS et al. (1986) que, trabalhando com uma ração a base de silagem de milho (76%), amido de milho (2%) e R.U.C. (22%), encontraram apenas exemplares da sub-classe Spirotrichia e em concentrações mais elevadas (165,0 vs. 23,6 e 16,2 x 10⁴/ml) do que as relacionadas na Tabela 17 para os tratamentos B e C.

De forma semelhante, RUNG et al. (1987) substituindo progressivamente uma ração de novilhos por R.U.C., observaram um completo desaparecimento de todos os protozoários do rúmen após dez dias de fornecimento de R.U.C.. Nove dias após retornarem com a alimentação normal, os únicos protozoários presente no rúmen eram da sub-classe Spirotrichia.

Figura 7 - Contagem média de protozoários totais por mililitro para os três tratamentos, nas diferentes horas.

Para todos os parâmetros analisados na Tabela 17 referentes ao desaparecimento da casca de soja *in situ*, apenas a causa de variação "hora" apresentou valores de "F" significativos ao nível de 5% de probabilidade. Dessa forma, os tratamentos empregados não afetaram significativamente o desaparecimento da casca de soja apesar da menor população de protozoários encontrada para os tratamentos B e C. Segundo VEIRA (1986), um sumário de estudos empregando animais defaunados indica que estes apresentam uma menor extensão de degradação de matéria orgânica no rúmen (85% dos valores normalmente encontrados em animais faunados).

4.2.7.) Taxa de passagem e volume ruminal

Os resultados médios referentes as taxa de passagem da fase líquida e volume ruminal encontrados para os diferentes tratamentos podem ser observados na Tabela 18.

ROGERS et al. (1986), estudando a cinética das fases líquida e sólida no rúmen em rações que incluíam 22% de resíduo de cervejaria, desidratado ou não, encontraram uma menor taxa de renovação para ambas as fases nas rações onde era utilizado o resíduo úmido. Todavia, DAVIS et al. (1983), não encontraram diferenças para as taxas de passagem e volume ruminal quando substituíram em níveis crescentes parte da matéria seca da ração de vacas em lactação por R.U.C. (0, 20, 30 e 40%).

Houve uma tendência de se verificar uma menor taxa de passagem da fase líquida no tratamento C em relação aos demais tratamentos. Este resultado está de acordo com a menor ingestão de matéria seca encontrada nesse tratamento e o coeficiente de correlação entre o consumo de matéria seca e tempo de renovação em horas ($r = -0,61$; $P = 0,0792$) colabora para reforçar esta hipótese.

Não houve diferenças significativas entre os volumes ruminais para os diferentes tratamentos, embora o tratamento C tenha apresentado uma tendência para um maior volume ruminal.

Tabela 18 – Taxa de passagem média da fase líquida e volume ruminal médio nos diferentes tratamentos.

Parâmetros	Tratamentos			C.V. (%) ¹
	Trat. A	Trat. B	Trat. C	
Taxa de passagem (%/hora)	8,27a	8,21a	7,19a	7,51
Taxa de renovação (horas)	11,95a	12,18a	14,09a	7,18
Taxa de renovação (dias)	0,50a	0,51a	0,58a	6,98
Volume ruminal (litros)	88,09a	84,42a	93,08a	17,67

1 = Coeficiente de variação.

5) CONCLUSÕES

1 - A utilização do aldeído fórmico, sozinho ou associado ao ácido fórmico, nas dosagens empregadas nesse experimento, é uma prática benéfica para conservação aeróbica do R.U.C. porque melhora as condições de conservação desse subproduto em condições de aerobiose.

2 - A inclusão de levedura de indústria cervejeira no R.U.C., na quantidade empregada nesse experimento, apresenta efeitos negativos sobre as condições de conservação, aumentando a susceptibilidade para o aparecimento de fungos, favorecendo dessa forma a perda de nutrientes e valor nutritivo em função dos processos de deterioração encontrados.

3 - A inclusão de 15% de R.U.C. na matéria seca total da ração não trouxe prejuízos para o consumo de matéria seca e condições de fermentação ruminal.

4 - A inclusão do aldeído fórmico no R.U.C. em dosagem recomendadas para conservação de silagens de gramíneas, apesar de benéfica para sua conservação, reduz de forma significativa o consumo de matéria seca e processo de fermentação ruminal, podendo afetar de forma negativa o desempenho animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, M.; TSUNENORI, I.; TOBE, N.; SHIBUI, H. Sequestration of holotrich protozoa in the reticulo-rumen of cattle. **Applied Environmental Microbiology**, Baltimore, 41(3):758-65, 1981.
- ALLEN, W.R.; STEVENSON, K.R. & BUCHANAN-SMITH, J. Influence of additives on short-term preservation of wet brewers' grains stored in uncovered piles. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, 55:609-18, 1975a.
- ALLEN, W.R.; STEVENSON, K.R. & BUCHANAN-SMITH, J. Influence of additives on the ensiling process of wet brewers' grains. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, 55:391-402, 1975b.
- ARMENTANO, L.E.; HERRINGTON, T.A.; POLAN, C.E.; MOE, A.J.; HERBEIN, J.H. & LIMSTADT, P. Ruminal degradation of dried brewers' grains, and soybean meal. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69(8):2124-33, 1986.
- ARNOULD, R.; VANELLE, M.; JOASSART, J.M.; PASTOR, C.; HOMEM DE CARVALHO, J.L. Le formaldéhyde utilisé comme conservateur d'ensilage. II. Influence sur les fermentations au niveau du rumen chez le mouton. **Revue de l'Agriculture**, 31(3):500-12, 1978.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL OF CHEMISTS. Official methods of analysis. 14th ed. AOAC, Washington, D.C., 1985.
- BARRY, T.N. Effect of treatment with formaldehyde, formic acid, and formaldehyde-acid mixtures on the chemical composition and nutritive value of silage. I: Silages made from immature pasture compared with hay. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, 18(3):285-94, 1975.

- BARRY, T.N. Effect of treatment with formaldehyde, formic acid, and formaldehyde-acid mixtures on the chemical composition and nutritive value of silage. I: Mature herbage. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, 19(2):185-91, 1976.
- BARRY, T.N. & FENNESSY, P.F. The effect of formaldehyde treatment on the chemical composition and nutritive value of silage. II: Chemical composition. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, 15(4):712-22, 1972.
- BARRY, T.N.; COOK, J.E. & WILKINS, R.J. The influence of formic acid and formaldehyde additives and types of harvestinf machine on the utilization of nitrogen in lucerne silages. 1. The voluntary intake and nitrogen retention of young sheep consuming the silages with and without intraperitoneal supplements of DL-methionine. **Journal Agricultural Science**, Cambrigde, 91(3):701-15, 1978.
- BATH, L. Feed by-products and their utilization by ruminants. Huber, J.T., ed. **Upgrading residues and by-products for animals**. Boca Raton, CRC Press, 1981. Cap. 1, p. 1-16.
- BEEVER, D.E.; THOMSON, D.J.; CAMELL, S.B. & HARRISON, D.B. The digestion by sheep of silages made with an without the addition of formaldehyde. **Journal Agricultural Science**, Cambrige, 88(1):61-70, 1977.
- BEEVER, D.E.; LOSADA, H.R.; GALE, D.L.; SPOONER, M.C. & DHANDA, M.S. The use of monensin or formaldehyde to control the digestion of the nitrogenous constituents of perenial ryegrass (*Lolium perene* cv Melle) and white clover (*Trifolium repens* cv Blanca) in the rumen of cattle. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 57(1):57-67, 1987.

- BROWN, D.C. & VALENTINE, S.C. Formaldehyde as a silage additive. 1. The chemical composition and nutritive value of frozen lucerne, lucerne silage, and formaldehyde-treated lucerne silage. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, 23:1093-100, 1972.
- BRUNING, C.L. & YOKOYAMA, M.T. Characteristics of live and killed brewers' yeast slurries and intoxication by intraruminal administration to cattle. **Journal Animal Science**, Champaign, 66:585-91, 1988.
- BUCKLEY, K.E.; FISHER, L.J. & MACKAY, V.G. Levels of formaldehyde in milk, blood, and tissues of dairy cows and calves consuming formalin-treated whey. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, 36:1146-50, 1988.
- CAJA, G.; GALVEZ, J.F.; ARGUMENTEIRA, A. & CIRIA, J. Inhibition of ruminal desamination *in vitro* by formaldehyde treatment of sunflower-seed, soya bean and fish meals: response curves to protective treatment. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, 2:267-75, 1977.
- CARDOSO, R.M.; COELHO DA SILVA, J.F.; MELLO, R.P. & MOTTA, V.A.F. Produção de leite de vacas alimentadas com silagem de sorgo suplementada com polpa úmida de cevada. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 11(1):38-45, 1982.
- CHANDLER, P.T. Wet brewers grain: Its role in dairy cattle feeding. **Feedstuffs**, Minneapolis, 59(17), 1987.
- CLARK, J.H.; MURPHY, M.R. & CROOKER, B.A. Supplying the protein needs of dairy cattle from by-products feeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 70(5):1072-107, 1987.
- COMBELLAS, J. Uso de residuos de granos de cervceria frescos en la alimentacion de vacas lecheras. **Informe Anual**, Caracas, 1983.

- CRINCKENBERGER, R.G. & JOHNSON, B.H. Effect of feeding wet brewers' grains to beef heifers on wintering performance, serum selenium and reproductive performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, 54(1):18-22, 1982.
- DAVIS, C.L.; GRENWALT, D.A. & MCCOY, G.C. Feeding value of pressed brewers' grains for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 66:73-79, 1983.
- DEMEYER, D.I. & VAN NEVEL, C.J. Effect of defaunation on the metabolism of rumen micro-organisms. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 42:515-24, 1979.
- DIXON, R. & COMBELLAS, J. Una nota sobre la preservacion de residuos de cervceria frescos. **Producción Animal Tropical**, Santo Domingo, 8:164-65, 1983.
- DONALDSON, E. & EDWARDS, R.A. Metabolism, within the rumen, of silages made with formaldehyde. In: CONFERENCE ON FORAGE CONSERVATION IN THE 80'S, Brighton, 1979. Proceedings, edited by C. Thomas. Berkshire, British Grassland Society, 1980. p.350-5. (Occasional Symposium, 11).
- EADIE, J.M. & MANN, S.O. Development of the rumen microbial population: high starch diets and instability. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PHYSIOLOGY OF DIGESTION AND METABOLISM IN THE RUMINANT, 3., Cambridge, 1969. **Proceedings**, edited by A.T. Phillipson and others. Newcastle, Oriel Press, 1970. p. 335-47.
- EASTRIDGE, M.L. Alternative feeds. In: OHIO DAIRY NUTRITION CONFERENCE, Wooster, 1991. Proceedings, org. por M.L. Eastridge and others. Wooster, Ohio State University, 1991. p. 49-63.
- ERDMAN, R.A.; PROCTOR, G.H. & VANDERSALL, J.H. Effect of rumen ammonia concentration on *in situ* rate and extent of digestion of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69(9):2312-20, 1986.

- ERWIN, W.S.; MARCO, G.J. & EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 44:1768-71, 1961.
- FLUHARTY, F.L. & LOERCH, S.C. Chemical treatment of ground corn to limit ruminal starch digestion. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, 69:173-80, 1989.
- GILL, J.L. **Design and analysis of experiments**; in the animal and medical sciences. Ames, The Iowa State University Press, 1981. v.2, 301p.
- GOERING, H.K. & VAN SOEST, P.J. Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedure and some applications). Washington, USDA, Agricultural Research Service. USDA, 1970. 19p. (USDA. Agricultural Research Handbook, 379).
- GOMES, F.P. Curso de Estatística Experimental, 12^a ed. São Paulo, Ed. Nobel, 1987. 467p.
- GRANT, R.J. & MERTENS, D.R. Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber kinetics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 75(10):2762-68, 1992.
- HERRERA-SALDANA, R. & HUBER, J.T. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, 72(6):1477-83, 1989.
- HOFFMAN, P.C. & ARMENTANO, L.E. Comparison of brewers wet and dried grains and soybean meal as supplements for dairy cattle. **Nutrition Reports International**, Los Altos, 38(3):655-63, 1988.
- HOLTER, J.B. & URBAN, W.E. JR. Water partitioning and intake prediction in dry and lactating holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 75(6):1472-79, 1992.

- HYDEN, S. The recovery of polyethylene glycol after passage through the digestive tract. *Kungliga Lantbrukshogskolans Annaler*, Uppsala, 22:411-24, 1956.
- JOHNSON, C.O.L.E. & HUBER, J.T. Aerobic storage and utilization of ammonia-treated distillers wet grains for lactating dairy cows, *Journal of Dairy Science*, Champaign, 70(7):1417-25, 1987b.
- JOHNSON, C.O.L.E. & HUBER, J.T. Storage and utilization of wet brewers grains in diets for lactating dairy cows, *Journal of Dairy Science*, Champaign, 70(1):98-107, 1987a.
- JOHNSON, R.R.; BALWANI, T.L.; JOHNSON, L.J.; MCLURE, K.E. & DEHORITY B.A. Corn plant maturity. II. Effect on *in vitro* cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. *Journal of Animal Science*, Champaign, 25:617-23, 1966.
- JONES, G.M., MOWAT, D.N., ELLIOT, J.I. & MORAN, E.T. Organic acid preservation of high moisture corn and other grains and nutritional value: A review. *Canadian Journal Animal Science*, Ottawa, 54(4):499-517, 1978.
- JOUNAY, J.P.; DEMEYER, D.I. & GRAIN, J. Effect of defaunating the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, 21:229-65, 1988.
- KEARL, L.C. Nutrient requirements of ruminants in developing countries. International Feedstuffs Institute, Utah State University, Logan, Utah. 381p., 1982.
- KLOFFENSTEIN, T.; MERCHEN, N. & ROLINDS, W. Value of brewers dried grains protein for beef cattle. *Feedstuffs*, Minneapolis, 49(50):8, 1977.
- LILLY, V.; BIRCH, M. & GARSADDEN, B. The preservation of spent brewers' grains the application of intermediate moisture food technology. *Journal*

of the Science of Food and Agriculture, Barking, 31:1059-65, 1980.

MANN, E.M. & McDONALD, P. The effect of formalin and lower volatile fatty acids on silage fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Barking, 27:612-16, 1976.

McALLISTER, T.A.; CHENG, K.J.; RODE, L.M. & BUCHANAN-SMITH, J.G. Use of formaldehyde to regulate digestion of barley starch. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, 70:581-89, 1990.

MCCOY, G.C., MURPHY, M.R. & DAVIS, C.L. Effect of water in brewers grains on rumen parameters and polyester bag digestibility. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69(suppl. 1):217, 1986.

McDONALD, P. The Biochemistry of Silage. Bath, John Wiley, Ltda., 1981. 226p.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. & McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 56(6):407-19, 1986.

MERCHEN, N.; HANSON, T. & KLOFFENSTEIN, T. Ruminal bypass of brewers dried grains protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, 49(1):192-98, 1979.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29., Lavras, 1992. Palestras, Editado por J.C. Teixeira & R.S. Neiva. Lavras, SBZ, 1992. p 1-32.

MICHALOWSKI, T. Diurnal changes in concentration of rumen ciliates and in occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalis*) fed once daily. **Applied and Environmental Microbiology**, Easton, 33(4):802-04, 1977.

- MICHALOWSKI, T. & MUSZYNSKI, P. Diurnal variations in number of ciliates protozoa in the rumen of sheep fed once and twice daily. **Journal Agricultural Science**, Cambridge, 90(1):1-5, 1978.
- MURDOCK, F.R.; HODGSON, A.S. & RILEY JR., R.E. Nutritive value of wet brewers grains for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 64:1826-32, 1981.
- NAGEL, S.A. & BRODERICK, G.A. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 75(1):140-54, 1992.
- NOCER, J.E. Evaluation of especific variables affecting *in situ* estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 68(5):1347-58, 1985.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Atlas of Nutritional Data on United and Canadian Feeds. Washington, Natl. Academy of Sciences, 1971. 770p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requeriments of Dairy Cattle, 5 ed. Washington, Natl. Academy of Science, 1978. 150p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requeriments of Dairy Cattle, 6 ed. Washington, Natl. Academy of Science, 1988. 157p.
- OKE, B.D.; LOERCH, S.C. & REDMAN, D.R. Effects of dietary level and formaldehyde treatment of corn on nutrient digestion and metabolism in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, 71(4):1197-205, 1991.
- OSTER, A.; THOMKE, S. & GYLLANG, H. A note on the use of brewer's dried grains as a protein feedstuffs for cattle. **Animal Production**, Edinburgh, 24(2):279-82, 1977.

- POLAN, C.E. & WARK, W.A. Lactating response to protein sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 67(suppl. 1):122, 1984.
- POLAN, C.E.; HERRINGTON, T.A. WARK, W.A. & ARMENTANO, L.E. Milk production response to diets supplement with dried brewers grains, wet brewers grains, or soybean meal. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 68:2016-26, 1985.
- PORTER, R.M. & CONRAD, H.R. Comparative nutritive value of wet and dried brewers grains for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 58(5):745-46, 1975.
- PRESTON, R.L.; VANCE, R.D. & CAHILL, V.R. Energy evaluation of brewers grains for growing and finishing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, 37(1):174-78, 1973.
- PURSER, D.B. & MOIR, R.J. Ruminant flora studies in the sheep. IX. The effect of pH on the ciliate population of rumen *in vivo*. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, 10:555-64, 1959.
- ROBINSON, P.H.; BURGESS, P.L. & McQUEEN, R.E. Influence of moisture content of mixed rations on feed intake and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 73(10):2916-21, 1990.
- ROGERS, J.A.; CONRAD, H.R.; DEHORITY, B.A. & GRUBB, J.A. Microbial numbers, rumen fermentation, and nitrogen utilization of steers fed wet or dried brewers grains. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69:745-53, 1986.
- RUNG, G.; SEKIGUCHI, H. & IMAI, S. Changes in rumen ciliates and in rumen fluid caused by excessive brewer's grains feeding and restoration of them. **Japanese Journal of Zootechnical Science**, 57(11):887-94, 1986. *Apud Nutrition Abstracts and Reviews*, Aberdeen, 57(6):331, 1987. (Resumo).

- SANTOS, K.A.; STERN, M.D. & SATTER, L.D. Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactating dairy cattle fed various protein sources. **Journal of Animal Science**, Champaign, 58(1):244-55, 1984.
- S.A.S. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM S.A. User's guide; statistics. Ed. Cary, NC, 1986.
- SATTER, L.D. & SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 32(2):199-208, 1974.
- SATTER, L.D. Protein supply from undergraded dietary protein. Symposium: Protein and fiber digestion, passage and utilization in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69:2734-49, 1986.
- SEYMOUR, W.M. & POLAN, C.E. Dietary energy regulation during gestation on subsequent lactational response to soybean meal or dried brewers grains. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 69(11):2837-45, 1986.
- SLYTER, L.L. Ability of pH-selected mixed ruminal microbial populations to digest fiber at various pHs. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, 52(2):390-91, 1986.
- SNIFFEN, C.J. Rumen Microbial Ecology. In: T.P. Lyons, ed. *Biotechnology in the Feed Industry*, Nicholasville, Alltech Technical Publications, Nicholasville, 1991. p.79-95.
- SOUTO, P.R.L.; VILELA, D. & DESSAUNE FILHO, N. Uso de polpa úmida de cevada na alimentação de vacas em lactação. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 28., João Pessoa, 1991. Anais. João Pessoa, SBZ, 1991. p.295.

- SPEARS, J.W.; CLARK, J.H. & HATFIELD, E.E. Nitrogen utilization and ruminal fermentation in steers fed soybean meal treated with formaldehyde. **Journal of Animal Science**, Champaign, 60(4):1072-80, 1985.
- STECKLEY, J.D.; GRIEVE, D.G.; MACLEOD, G.K. & MORAN JR., E.T. Brewer's yeast slurry, I. Composition as affected by length of storage, temperature, and chemical treatment. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 62(6):941-46, 1979.
- STERN, M.D. & ZIEMER, C.J.. Consider value, cost when selecting nonforage fiber. **Feedstuffs**, Minneapolis, 65(2):14-21, 1993.
- STOKES, P.T. Animal feeds and the brewing industry. **Feedstuffs**, Minneapolis, 49(50):8, 1977.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; MILLS, C.R. & MANUELA, C. Change in amino acid composition of different protein sources after rumen incubation. **Animal Production**, 49(3):375-83, 1989.
- THELINE, H.H. & HONIG, H. Changes in formaldehyde treated grass silage during fermentation and after aerobic deterioration. In: CONFERENCE ON FORAGE CONSERVATION IN THE 80'S, Brighton, 1979. Proceedings, edited by C. Thomas. Berkshire, British Grassland Society, 1980. p.265-270. (Occasional Symposium, 11).
- THOMPSON, G.B.; JOHNSON, R. & HUTCHESON, D. Evaluation of brewers dried grains in finishing rations for cattle. **Feedstuffs**, Minneapolis, 49(50):9, 1977.
- USHIDA, K.; JOUNAY, J.P. & THIVEND, P. Role of rumen protozoa in nitrogen digestion in sheep given two isonitrogenous diets. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 56(6):407-19, 1986.

- VALENTINE, S.C. & BROWN, D.C. Formaldehyde as a silage additive, II. The chemical composition and nutritive value of lucerne hay, lucerne silage, and formaldehyde and formic acid-treated silages. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, 24:939-46, 1973.
- VALENTINE, S.C. & WICKES, R.B. The production and composition of milk from dairy cows fed hay and supplemented with either brewer's grains or rolled barley grain. **Australian Journal Experimental Agricultural Animal Husbandry**, Melbourne, 22(116):155-58, 1982.
- VALLADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; LEAO, M.I.; EUDLYDES, R.F.; VALLADARES, R.F.D. & CASTRO, A.C.G. Degradabilidade in situ da matéria seca e proteína de vários alimentos em vacas em lactação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 19(6):512-22, 1990.
- VEIRA, D.M. The role of ciliate protozoa in nutrition of the ruminant. **Journal of Animal Science**, Champaign, 63:1547-60, 1986.
- VELLOSO, L. Subprodutos de origem do beneficiamento de cereais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 10(119):15-21, 1984.
- WEATHERBURN, M.W. Phenol hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, Washington, 39:971-74, 1967.
- WEST, J.W. & ELY, L.O. The use of brewers' grains in the diets of lactating dairy cows during heat stress conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 75(suppl. 1):295, 1992.
- WILKINSON, J.M.; WILSON, R.F. & BARRY, T.N. Factors affecting the nutritive value of silage. **Outlook on Agriculture**, 9:3-8, 1976.
- WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 43:1452-59, 1960.

WOOLFORD, M.K. Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Barking, 26:229-37, 1975b.

WOOLFORD, M.K. Microbiological screening of straight chain fatty acids (C_1 - C_{12}) as potential silage additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Barking, 26:219-28, 1975a.

WOOLFORD, M.K. The Silage Fermentation - Microbiology Series, Vol. 14, 1984.

YANG, C.M.J. & VARGA, G.A. Effect of sampling site on protozoa and fermentation end products in the rumen of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 72(6):1492-98, 1989.

ZEOLLA, L.M.; COELHO DA SILVA, J.F.; SILVA, D.J. & TORRES, R.A. Valor nutritivo do resíduo seco de cervejaria para ruminantes. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 14(5):551-58, 1985.

AFÈNDICE

APÊNDICE 1 - Equações de regressão linear para os diferentes tratamentos utilizando o tempo de armazenamento do R.U.C. como variável independente e os parâmetros de avaliação das condições de conservação como variáveis dependentes.

% de matéria seca

Trat. A - $Y = 20,16 - 0,148 X$; $r^2 = 0,618$; $\text{prob} > F = 0,0207$

Trat. B - $Y = 19,64 - 0,076 X$; $r^2 = 0,486$; $\text{prob} > F = 0,0547$

Trat. C - $Y = 19,68 + 0,163 X$; $r^2 = 0,804$; $\text{prob} > F = 0,0025$

Trat. D - $Y = 20,79 + 0,039 X$; $r^2 = 0,460$; $\text{prob} > F = 0,0643$

Temperatura

Trat. A - $Y = 26,87 + 0,413 X$; $r^2 = 0,760$; $\text{prob} > F = 0,0049$

Trat. B - $Y = 25,88 - 0,025 X$; $r^2 = 0,022$; $\text{prob} > F = 0,7249$

Trat. C - $Y = 24,61 - 0,172 X$; $r^2 = 0,626$; $\text{prob} > F = 0,0192$

Trat. D - $Y = 24,63 - 0,163 X$; $r^2 = 0,696$; $\text{prob} > F = 0,0100$

pH superfície

Trat. A - $Y = 3,46 + 0,401 X$; $r^2 = 0,827$; $\text{prob} > F = 0,0017$

Trat. B - $Y = 3,66 + 0,365 X$; $r^2 = 0,926$; $\text{prob} > F = 0,0001$

Trat. C - $Y = 3,67 + 0,013 X$; $r^2 = 0,325$; $\text{prob} > F = 0,1401$

Trat. D - $Y = 3,26 + 0,008 X$; $r^2 = 0,399$; $\text{prob} > F = 0,0928$

pH subsuperfície

Trat. A - $Y = 3,56 + 0,040 X$; $r^2 = 0,444$; $\text{prob} > F = 0,0710$

Trat. B - $Y = 3,77 - 0,010 X$; $r^2 = 0,180$; $\text{prob} > F = 0,2949$

Trat. C - $Y = 3,66 + 0,008 X$; $r^2 = 0,481$; $\text{prob} > F = 0,0565$

Trat. D - $Y = 3,25 + 0,0001 X$; $r^2 = 0,0006$; $\text{prob} > F = 0,9543$

Carboidratos solúveis

Trat. A - $Y = 1,82 + 0,860 X$; $r^2 = 0,974$; $\text{prob} > F = 0,0001$

Trat. B - $Y = 2,62 + 0,850 X$; $r^2 = 0,858$; $\text{prob} > F = 0,0010$

Trat. C - $Y = 1,75 + 0,220 X$; $r^2 = 0,481$; $\text{prob} > F = 0,0946$

Trat. D - $Y = 2,61 + 0,064 X$; $r^2 = 0,192$; $\text{prob} > F = 0,2769$

Nitrogênio total (% da matéria seca)

Trat. A - $Y = 5,32 + 0,073 X$; $r^2 = 0,726$; $\text{prob} > F = 0,0235$

Trat. B - $Y = 5,52 + 0,112 X$; $r^2 = 0,816$; $\text{prob} > F = 0,0021$

Trat. C - $Y = 5,45 - 0,007 X$; $r^2 = 0,008$; $\text{prob} > F = 0,8291$

Trat. D - $Y = 5,17 + 0,049 X$; $r^2 = 0,230$; $\text{prob} > F = 0,2297$

Nitrogênio amôniaal (% do nitrogênio total)

Trat. A - $Y = 14,08 + 0,544 X$; $r^2 = 0,602$; $\text{prob} > F = 0,0235$

Trat. B - $Y = 12,98 + 0,900 X$; $r^2 = 0,930$; $\text{prob} > F = 0,0001$

Trat. C - $Y = 16,52 + 0,011 X$; $r^2 = 0,001$; $\text{prob} > F = 0,9400$

Trat. D - $Y = 17,07 + 0,008 X$; $r^2 = 0,001$; $\text{prob} > F = 0,9300$

APÊNDICE 2 - Coeficientes de correlações entre parâmetros utilizado para avaliar as condições de conservação do R.U.C.

Tratamento 1	Coef. Correlação	prob > R
temperatura * matéria seca	0,521	0,1850
temperatura * pH superfi.	0,707	0,0497
temperatura * nitr. amôniacal	0,718	0,0447
matéria seca * pH superfi.	-0,763	0,0278
pH superfi. * nitr. amôniacal	0,900	0,0023
matéria seca * nitr. total	-0,806	0,0156

Tratamento 2	Coef. Correlação	prob > R
temperatura * matéria seca	-0,387	0,3437
temperatura * pH superfi.	-0,124	0,7707
temperatura * nitr. amôniacal	0,076	0,8588
matéria seca * pH superfi.	-0,604	0,1127
pH superfi. * nitr. amôniacal	0,925	0,0010
matéria seca * nitr. total	-0,779	0,0225

Tratamento 3	Coef. Correlação	prob > R
temperatura * matéria seca	-0,693	0,0569
temperatura * pH superfi.	-0,646	0,0835
temperatura * nitr. amôniacal	-0,125	0,7676
matéria seca * pH superfi.	0,270	0,5182
pH superfi. * nitr. amôniacal	-0,374	0,3614
matéria seca * nitr. total	-0,207	0,6220

Tratamento 4	Coef. Correlação	prob > R
temperatura * matéria seca	-0,671	0,0681
temperatura * pH superfi.	-0,807	0,0155
temperatura * nitr. amôniacal	0,175	0,6777
matéria seca * pH superfi.	-0,279	0,5039
pH superfi. * Nitr. amôniacal	-0,417	0,3034
Matéria seca * Nitr. total	0,172	0,6835

APÊNDICE 3 - pH ruminal médio, para os 3 tratamentos, nas diferentes horas.

HORA	TRAT.	N	pH	
			Média	DP
0	A	3	7.17000000	0.05567764
1	A	3	6.75000000	0.11357817
2	A	3	6.62666667	0.16289056
6	A	3	6.18666667	0.31564748
9	A	3	6.19666667	0.21733231
12	A	2	6.38500000	0.03535534
0	B	3	7.30333333	0.24826062
1	B	3	6.97000000	0.26888659
2	B	3	6.72333333	0.31895663
6	B	3	6.33666667	0.14294521
9	B	3	6.23666667	0.39803685
12	B	2	5.85000000	0.01414214
0	C	3	7.35666667	0.13576941
1	C	3	6.96000000	0.24979992
2	C	3	6.82666667	0.18147543
6	C	2	6.46500000	0.30405592
9	C	3	6.46333333	0.16862186
12	C	2	6.24000000	0.21213203

APÊNDICE 4 - Concentração média de nitrogênio amoniacal (mg/dl) para os 3 tratamentos, nas diferentes horas.

HORA	TRAT.	N	Amônia	
			Média	DP
0	A	3	3.11333333	1.87222684
1	A	3	8.25000000	3.23950614
2	A	3	6.55333333	2.62772398
6	A	3	3.10333333	0.26407070
9	A	3	2.89666667	0.47035448
12	A	2	1.44500000	0.86974134
0	B	3	3.46000000	2.54159399
1	B	3	5.39333333	2.97130162
2	B	3	3.48333333	1.26243152
6	B	3	0.78000000	0.43588989
9	B	3	1.45000000	1.53977271
12	B	2	2.87500000	0.37476659
0	C	3	1.97666667	2.70601798
1	C	3	6.71333333	3.08477444
2	C	3	4.73666667	5.48521953
6	C	2	1.97000000	1.58391919
9	C	3	1.18333333	1.37311082
12	C	2	2.19500000	1.68998521

APÊNDICE 5 - Concentração média de ácido acético (mmol/dl), para os 3 tratamentos, nas diferentes horas.

HORA	TRAT.	N	ACÉTICO	
			Média	DP
0	A	3	2.69366667	0.39792252
1	A	3	3.43400000	0.15077135
2	A	3	3.23166667	0.11539642
6	A	3	3.59500000	0.23052766
9	A	3	3.61800000	0.10553199
12	A	2	3.59150000	0.12091526
0	B	3	2.79166667	0.34165236
1	B	3	3.10566667	0.31186589
2	B	3	3.27966667	0.53860592
6	B	3	3.59300000	0.17260649
9	B	3	3.71200000	0.38454779
12	B	2	3.97000000	0.15414928
0	C	3	2.28566667	0.53983084
1	C	3	2.73000000	0.31453458
2	C	3	2.88866667	0.33470933
6	C	2	3.06300000	0.38608030
9	C	3	3.36300000	0.18728588
12	C	2	3.40300000	0.18101934

APÊNDICE 6 - Concentração média de ácido butírico (mmol/dl), para os 3 tratamentos, nas diferentes horas.

HORA	TRAT.	N	BUTÍRICO	
			Média	DP
A	0	3	0.63266667	0.05455578
A	1	3	1.29866667	0.11238476
A	2	3	1.25800000	0.13709850
A	6	3	1.50433333	0.23671361
A	9	3	1.48366667	0.33444332
A	12	2	1.54500000	0.06646804
B	0	3	0.48433333	0.07166822
B	1	3	0.94800000	0.24027692
B	2	3	0.98700000	0.27038491
B	6	3	1.04200000	0.14945233
B	9	3	1.17300000	0.31764760
B	12	2	1.47950000	0.12374369
C	0	3	0.30100000	0.12401210
C	1	3	0.65333333	0.28577322
C	2	3	0.72366667	0.27837445
C	6	2	0.92150000	0.30052038
C	9	3	0.96133333	0.07934944
C	12	2	1.00500000	0.14142136

APÊNDICE 7 - Concentração média de ácido propiônico (mmol/dl), para os 3 tratamentos, nas diferentes horas

HORA	TRAT.	N	PROPIÔNICO	
			Média	DP
0	A	3	0.75433333	0.17006567
1	A	3	1.10000000	0.12805858
2	A	3	1.02633333	0.11287309
6	A	3	1.13800000	0.20742227
9	A	3	1.17466667	0.16318497
12	A	2	1.22200000	0.24183052
0	B	3	0.88000000	0.07969944
1	B	3	1.13866667	0.05427093
2	B	3	1.27133333	0.14020105
6	B	3	1.36633333	0.11450910
9	B	3	1.48300000	0.06559726
12	B	2	1.59050000	0.04030509
0	C	3	0.65800000	0.18075121
1	C	3	1.01466667	0.14797410
2	C	3	1.12233333	0.09941998
6	C	2	1.29500000	0.07353911
9	C	3	1.41200000	0.18571753
12	C	2	1.51650000	0.11525841

APÊNDICE 8 - Contagem média de protozoários totais por mililitro ($\times 10$)⁴ para os 3 tratamentos, nas diferentes horas

HORA	TRAT.	N	TOTAL	
			Média	DP
0	A	3	448533.333	269894.597
1	A	3	425066.667	224388.710
2	A	3	409666.667	247914.206
6	A	3	377066.667	206164.724
9	A	3	350133.333	160000.667
12	A	3	392266.667	219716.666
0	B	3	284533.333	86000.310
1	B	3	253333.333	144213.915
2	B	3	262933.333	146000.183
6	B	3	246933.333	155608.397
9	B	3	215466.667	54495.994
12	B	3	156266.667	47741.526
0	C	3	206666.667	100068.243
1	C	3	176266.667	97722.328
2	C	3	126133.333	44659.303
6	C	3	146933.333	74988.355
9	C	3	151733.333	56694.738
12	C	3	168800.000	110955.126