EFEITOS DA POLPA DE CITRUS E DO MILHO SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS

RUBEM RAMOS ROCHA FILHO

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. **PAULO FERNANDO MACHADO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", 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

Fevereiro - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Rocha Filho, Rubem Ramos
Efeitos da polpa de citrus e do milho sobre parâmetros ruminais / Rubem Ramos
Rocha Filho. - - Piracicaba, 1998.
71 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Alimentação animal 2. Fermentação ruminal 3. Milho 4. Polpa de fruta citrica
5. Ruminante 6. Vaca holandesa I. Título

CDD 636.2084

**EFEITOS DA POLPA DE CITRUS E DO MILHO
SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS**

RUBEM RAMOS ROCHA FILHO

Aprovado em: 14.05.1998

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado

ESALQ/USP

Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce

ESALQ/USP

Prof. Dr. Laércio Melotti

FMVZ/USP

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado
Orientador

À minha mãe, Lêda, por todo o AMOR, apoio e confiança.

À Walba, eterna companheira, e a Cora, nossa amada filha.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

À Escola Agrotécnica Federal de Satuba, por apoiar minhas vindas a Piracicaba na fase de conclusão dos trabalhos.

Ao Professor Paulo Machado, pela orientação e confiança em meu trabalho.

Ao Professor Raul d'Arce, pela grande amizade, apoio e confiança, trazendo motivação indispensável nos momentos difíceis.

Ao Júnior, pelo amizade e indispensável participação neste trabalho.

À grande amiga Patrícia, pelo carinho, atenção e acolhida em sua casa, tornando menos difíceis os momentos finais desta jornada.

Aos amigos Maguila, Carla, Marisa, Artur, Paula, Molinha, Moranguinho, Márcia, Claudinha, Fábio, Vivi, Carlinhos e tantos outros, "cultivados" nos períodos que permaneci em Piracicaba.

À Ednar, pela sua "cumplicidade".

Ao meu pai, Rubem, pelo apoio em todos os anos de estudo.

À minha mãe, Lêda, por ser verdadeiramente mãe, amando, amparando, incentivando e confiando nos muitos momentos difíceis e, também, naqueles de felicidade.

Ao meu irmão, David, participando de minha vida nos momentos mais difíceis, sendo um verdadeiro irmão.

À Walba, pelo seu amor e oportunidade de estarmos juntos, sempre.

À minha filha, Cora, por trazer tanta alegria e motivação para continuar em frente.

A todos que de alguma maneira tenham contribuído para a conclusão deste trabalho.

A Deus, por nos mostrar os caminhos e fazer-nos capazes de segui-los.

OBRIGADO.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	iv
SUMMARY.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Histórico.....	4
2.2 Características nutricionais da polpa de citrus.....	5
2.3 Parâmetros ruminais.....	11
2.3.1 Ácidos graxos voláteis.....	12
2.3.2 pH ruminal.....	15
2.3.3 Amônia ruminal e uréia sangüínea.....	17
2.3.4 Efeitos da polpa de citrus na produção de leite.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Animais e instalações.....	20
3.2 Período experimental.....	20
3.3 Tratamentos.....	21
3.4 Caracterização dos alimentos.....	22
3.5 Delineamento experimental e análise estatística.....	23
3.6 Parâmetros avaliados.....	24
3.6.1 Parâmetros ruminais.....	24
3.6.2 Uréia sangüínea.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Ácidos graxos voláteis.....	30
4.1.1 Ácido acético.....	30
4.1.2 Ácido propiônico.....	36
4.1.3 Ácido butírico.....	42

4.1.4 Ácidos graxos voláteis totais.....	47
4.1.5 Relação acetato/propionato.....	50
4.2 pH ruminal.....	53
4.3 Degradação “ <i>in situ</i> ” da matéria seca de amostra de feno de padrão forrageiro.....	56
4.4 Amônia ruminal e nitrogênio uréico sanguíneo	58
5 CONCLUSÕES.....	61
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido acético ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.....	32
2 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido acético ruminal nos diferentes tempos de amostragem.....	34
3 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido propiônico ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.....	38
4 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido propiônico ruminal nos diferentes tempos de amostragem.....	40
5 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido butírico ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.....	44
6 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido butírico ruminal nos diferentes tempos de amostragem.....	46
7 Efeito das rações experimentais sobre a produção total de ácidos graxos voláteis nos diferentes tempos de amostragem.....	49
8 Efeito das rações experimentais sobre a relação acetato/propionato ruminal.....	52
9 Efeito das dietas experimentais sobre pH ruminal nos diferentes tempos de amostragem.....	55
10 Efeito das rações experimentais sobre a produção de amônia ruminal (mg/dl) nos diferentes tempos de amostragem.....	60

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Composição bromatológica da polpa de citrus desidratada.....	7
2 Conteúdo em minerais da polpa de citrus, expresso em função da matéria seca.....	8
3 Formulação das rações experimentais.....	21
4 Valores médios das análises bromatológicas dos alimentos e das rações utilizadas durante o período experimental.....	23
5 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido acético ruminal (mM/dl).....	31
6 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido acético ruminal.....	33
7 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido propiônico ruminal (mM/dl).....	37
8 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido propiônico ruminal.....	39
9 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido butírico ruminal (mM/dl).....	43
10 Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido butírico ruminal.....	45
11 Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácidos graxos voláteis total (mM/dl).....	48
12 Efeito das rações experimentais na relação acetato/propionato ruminal.....	51
13 Efeito das rações experimentais sobre pH ruminal.....	54
14 Degradação efetiva (%), considerando taxa de passagem de 5%/h, da matéria seca de amostra de feno de padrão forrageiro.....	57

15	Efeito das rações experimentais sobre a produção de amônia ruminal (mg/dl).....	59
16	Efeito das rações experimentais sobre os níveis de uréia sangüínea (mg/dl).....	59

EFEITOS DA POLPA DE CITRUS E DO MILHO SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS

Autor: RUBEM RAMOS ROCHA FILHO

Orientador: Prof. Dr. PAULO FERNANDO MACHADO

RESUMO

A polpa de citrus é um subproduto da indústria de suco de laranja que tem sido utilizado principalmente na alimentação de vacas leiteiras. Para avaliar os efeitos da polpa de citrus e do milho sobre as condições ruminais, estes alimentos substituíram parte da silagem de milho em rações para vacas leiteiras em lactação. Foram utilizadas 4 vacas holandesas providas de fístula ruminal, 5 períodos e 5 dietas experimentais em um delineamento estatístico em Quadrado Latino Incompleto. Amostras de fluido ruminal foram coletadas nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas após a alimentação para determinação de ácidos graxos voláteis, pH e nitrogênio amoniacal. Amostras de sangue foram coletadas 2 e 4 horas após a alimentação para determinação de uréia sangüínea. Amostras de feno foram incubadas no rúmen por 0, 4, 6, 10, 12, 24, 36, 48 e 72 horas para determinação da degradação efetiva da matéria seca utilizando o modelo proposto por McDONALD (1981). A produção e a porcentagem de ácido acético foram maiores ($p < 0,05$) para dietas que continham polpa de citrus do que dietas onde o milho foi incluído, isolado ou associado com a polpa. A inclusão de milho associado com a polpa de citrus aumentou ($p < 0,05$) a produção de ácido propiônico. A porcentagem de ácido propiônico foi maior ($p < 0,05$) quando apenas o milho foi incluído e o resultado foi superior ($p < 0,05$) aos tratamentos onde a polpa de citrus foi utilizada. A

produção de ácido butírico foi maior ($p < 0,05$) para a ração com 23% de polpa de citrus do que para as rações com 12% de polpa ou 23% de milho. A menor ($p < 0,05$) porcentagem de ácido butírico ocorreu quando o milho foi incluído na dieta. As menores ($p < 0,05$) relações acetato/propionato também ocorreram quando o milho foi incluído, isolado ou associado com a polpa. Os resultados de ácidos graxos voláteis total, pH ruminal, amônia ruminal e uréia sangüínea não foram significativos ($p > 0,05$). As diferenças de degradação efetiva das amostras de feno não foram expressivas. Nestas condições experimentais os resultados sugerem que a polpa de citrus pode ser utilizada em substituição ao volumoso causando alterações desejáveis nas condições ruminais. Os efeitos do milho sobre o padrão de fermentação ruminal são característicos de um alimento concentrado. A associação do milho com a polpa de citrus é uma alternativa para minimizar estes efeitos.

CITRUS PULP AND CORN EFFECTS ON RUMINAL PARAMETERS

Author: RUBEM RAMOS ROCHA FILHO

Adviser: Prof. Dr. PAULO FERNANDO MACHADO

SUMMARY

Citrus pulp is a by-product of the orange juice industry that has been used specially in dairy cattle feeding. To evaluate the citrus pulp and corn effects in the ruminal conditions, these feeds replaced a portion of corn silage in lactating dairy cattle rations. Four Holstein cows with ruminal fistula were used in five periods and five experimental rations in an Incomplete Latin Square experimental design. Ruminal fluid samples were collected 0, 2, 4, 6, 8 e 24 hours after feeding to determine volatile fatty acids, ruminal pH and ammonia nitrogen. Blood samples were collected 2 and 4 hours after feeding to determine blood urea. Hay samples were incubated in the rumen during 0, 4, 6, 10, 12, 24, 36, 48 and 72 hours to evaluate dry matter effective degradability using the McDONALD (1981) model. The production and percentage of acetic acid were higher ($p<0,05$) in the diets that had citrus pulp than diets that had corn included, isolated or associated with pulp. The inclusion of corn associated with citrus pulp increased ($p<0,05$) propionic acid production. Propionic acid percentage was higher ($p<0,05$) only when corn was included and the result was higher ($p<0,05$) than the treatments where the citrus pulp was used. Butyric acid production was higher ($p<0,05$) in a ration with 23% citrus pulp than rations with 12% citrus pulp or 23% corn. The lower ($p<0,05$) butyric acid percentage

occurred when corn was included in the diet. The lower ($p < 0,05$) acetate/propionate ratios also occurred when corn was included, isolated or associated with pulp. The total volatile fatty acids, ruminal pH, ruminal ammonia nitrogen and blood urea results were not significant ($p > 0,05$). The differences of effective degradability of dry matter of hay samples were not expressive. Under these experimental conditions, the results suggests that citrus pulp can be used in substitution of roughage, resulting in desirable changes in the ruminal conditions. The corn effects in the ruminal fermentation pattern are characteristics of a concentrate feed. The association of corn with citrus pulp is an alternative to minimize these effects.

1 INTRODUÇÃO

É crescente o interesse mundial em aproveitar resíduos agro-industriais de difícil manejo ou com potencial de poluição ambiental. Segundo ZUCKER (1978), resíduos podem ser definidos como materiais com custos para eliminação ou deposição no ambiente. Para o mesmo autor esta é uma definição que estimula a busca por novas possibilidades de utilização deste materiais. Estes resíduos que são passíveis de utilização devem ser chamados de “subprodutos”.

A alimentação animal é uma alternativa para minimizar os problemas ambientais e econômicos gerados por estes resíduos. Propicia a produção de alimentos nobres, como leite e carne, com menores custos e à partir de materiais de baixo ou nenhum valor para a alimentação humana. Segundo BELYA et al. (1989), subprodutos alimentares são produzidos por indústrias de processamento de alimentos para utilização humana ou animal, através de processos de moagem, fermentação e outros, e têm sido reconhecidos há décadas como fontes potenciais de alimentação animal. Neste contexto, chama-se a atenção para os animais ruminantes, com suas características digestivas peculiares, que permitem eficiência no aproveitamento de resíduos de baixo valor nutritivo para animais monogástricos.

A polpa de citrus é obtida à partir do processamento dos resíduos gerados especialmente por indústrias de sucos. A polpa, após a extração do suco, é um subproduto com alto teor de umidade (18 a 25% de matéria seca) e de difícil conservação. Uma das alternativas é a ensilagem, utilizada especialmente onde o custo para processamento desta polpa úmida

inviabilizaria seu uso na alimentação animal. No entanto, este processo traz sérios problemas de poluição ambiental devido a grande quantidade de efluentes liberados (ASHBELL, 1994; ASHBELL & LISKER, 1987; CERVERA et al., 1985). O processo de peletização reduz o teor de umidade da polpa de citrus, aumenta sua densidade e traz benefícios no transporte e armazenamento. Atualmente prevalece o uso da polpa de citrus na forma peletizada (WING, 1975).

O uso da polpa de citrus na alimentação animal tem sido proposto por vários autores, inclusive na alimentação de eqüinos (OTT et al., 1979), suínos (BAIRD et al., 1974) e coelhos (MARTINEZ PASCUAL & FERNANDES CARMONA, 1980b). No entanto, prevalece seu uso na alimentação de ruminantes, em especial de vacas leiteiras em lactação, que consomem cerca de 90% da polpa de citrus produzida nos Estados Unidos (AMMERMAN & HENRY, 1991).

O uso de concentrados na alimentação de ruminantes, em especial aqueles ricos em amido, é frequentemente associado a desordens metabólicas ocorridas no rúmen e alterações na composição do leite, em especial no teor de gordura. Aumento nas concentrações dos ácidos láctico e propiônico, queda no pH e acidose ruminal são problemas relacionados a quantidades elevadas de concentrados na dieta (VISSER et al., 1990).

Neste contexto, as características nutricionais da polpa de citrus vêm sendo exaltadas, especialmente os efeitos benéficos observados sobre as condições ruminais. A polpa têm sido citada como um “concentrado-fibroso” e sua utilização associada a manutenção de condições ruminais mais estáveis, com efeitos semelhantes aos obtidos com alimentos volumosos (HIGHFILL, 1987; WING, 1982). Salientam-se as altas concentrações de ácido acético ruminal e manutenção dos teores de gordura do leite quando a polpa de citrus está presente na dieta (SUTTON, 1987). Sua importância cresce onde existe pequena disponibilidade de alimentos volumosos ou onde estes são de baixa qualidade, o que é frequente nas condições tropicais.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da polpa de citrus e do milho sobre parâmetros ruminais e nível de uréia sanguínea, quando em substituição a parte do volumoso da dieta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

No início do século instalaram-se os primeiros experimentos com ênfase no potencial de uso de resíduos cítricos na alimentação animal. A utilização da polpa de citrus, composta principalmente de bagaço, casca e sementes de laranja, com menores quantidades de outras frutas, consistia basicamente na coleta e deposição destes resíduos em ambientes abertos, onde o gado consumia este material fresco. Porém, como havia um acúmulo de resíduos, ocorriam fermentação e perdas muito rápidas. A solução lógica encontrada para este problema foi a desidratação (AMMERMAN & HENRY, 1991; WING, 1982).

A produção comercial da polpa de citrus desidratada teve início na década de 30, na Flórida, e na safra de 1941-42 cerca de 30.000 t foram produzidas. Em 1991-92 cerca de 600.000 t de polpa de citrus foram produzidas naquele Estado (AMMERMAN & HENRY, 1991; HARRIS & STAPLES, 1992).

O processo de desidratação consistia simplesmente na picagem ou moagem do material e seu aquecimento em um tambor rotativo, aquecido diretamente por uma chama. Uma desidratação incompleta era comum, com a obtenção de um produto que frequentemente era infestado por fungos (WING, 1982).

Atualmente, durante a moagem é adicionado hidróxido ou óxido de cálcio ao material, o que possibilita uma liberação mais completa dos

líquidos aí presentes. Os resíduos podem ser prensados, dando origem a um melaço, que pode ser adicionado de volta à polpa no processo de desidratação. As partículas finas da polpa desidratada podem ser removidas e comercializadas como farelo de citrus ou peletizadas e adicionadas de volta à polpa (AMMERMAN et al., 1965; AMMERMAN & HENRY, 1991; WING, 1982).

A baixa densidade da polpa de citrus desidratada representa uma séria limitação econômica para seu transporte e armazenagem. O processo de peletização é uma alternativa para a solução deste problema, reduzindo o volume e aumentando a densidade do alimento (WING, 1975). Isto levou a mudanças no processamento feito pela indústria, que se iniciou na safra de 1970-71, onde cerca de 60.000 t de polpa, ou aproximadamente 10% da produção total da Flórida, foi peletizada e comercializada nesta forma. Atualmente, cerca de 90% da polpa de citrus desidratada produzida na Flórida é comercializada na forma peletizada, sendo 70% comercializada fora dos Estados Unidos (AMMERMAN & HENRY, 1991).

A produção brasileira de polpa de citrus na safra 98-99 está estimada em 900 mil a 1 milhão de toneladas, onde 70 a 75% deverão ser exportados para países europeus, alcançando valores em torno de \$95,00 a \$98,00 por tonelada. O restante da polpa é absorvida pelo mercado interno, alcançando valores em torno de R\$ 65,00 a R\$ 70,00 por tonelada no primeiro semestre deste ano. No entanto, o consumo interno tem crescido de maneira constante nos últimos anos, com expectativa que assim continue, representando um grande mercado em potencial.

2.2 Características nutricionais da polpa de citrus

As informações disponíveis na literatura sobre a composição nutricional da polpa de citrus apresentam algumas diferenças entre si. Estas variações devem-se principalmente às diferentes origens e variedades dos

frutos, assim como os processos que estes frutos e seus resíduos sofrem até estarem disponíveis para a alimentação animal (AMMERMAN & HENRY, 1991). Segundo MARTINEZ PASCUAL & FERNANDEZ CARMONA (1980a), a matéria seca da polpa de citrus é composta por 60 a 65% de casca, 30 a 35% de bagaço e uma pequena mas variável fração de sementes.

A composição em nutrientes da polpa de citrus, citada por vários autores, está relacionada na Tabela 1. AMMERMAN et al. (1976) apresentaram resultados das análises de 3630 amostras de polpa de citrus, coletadas entre 1963 e 1975. Os teores de umidade apresentaram grande variação, com valores de 2,0 a 18,4% nas amostras, com média de 8,48%. As médias de extrato etéreo (EE) variaram de acordo com a fonte de produção do material, de 3,61 a 5,07%. Os teores de proteína bruta (PB) também variaram, de 6,58 a 7,03%, havendo uma tendência de correlação entre os teores de EE e PB encontrados. Segundo os autores, a justificativa para a correlação entre as frações EE e PB estaria relacionada com o conteúdo de sementes presentes nas amostras.

AMMERMAN et al. (1966) afirmam que para cada 1% de aumento de sementes em substituição à casca e bagaço haverá um aumento aproximado de 0,39% para EE e 0,09% para PB da amostra. Segundo os autores, as sementes são consideravelmente ricas em PB e EE e pobres em FB e extrativo não nitrogenado (ENN), quando comparadas com as outras frações da polpa.

Em concordância com as afirmações acima citadas, MARTINEZ PASCUAL & FERNANDEZ CARMONA (1980c) relatam que as variações mais importantes na composição da polpa de citrus foram nas frações FB e PB, estando a última relacionada com o teor de sementes da polpa. As variações observadas nos valores das frações FB e Fibra em Detergente Neutro (FDN) estariam relacionadas com o estágio de maturação dos frutos processados, sendo as variedades de maturação tardia aquelas que apresentaram maiores valores, quando comparadas com variedades de maturação precoce.

Tabela 1 - Composição bromatológica da polpa de citrus desidratada.

Nutriente	Valores da Literatura
MS (%)	91,52 ⁽¹⁾ ; 91,0 ⁽²⁾ ; 90,4 ⁽³⁾ ; 87,9 ⁽⁴⁾
PB (%)	6,80 ⁽¹⁾ ; 6,7 ⁽²⁾ ; 7,75 ⁽³⁾ ; 7,4 ⁽⁴⁾
EE (%)	4,08 ⁽¹⁾ ; 3,7 ⁽²⁾ ; 4,92 ⁽³⁾ ; 2,1 ⁽⁴⁾
ENN (%)	70,38 ⁽¹⁾ ; 59,33 ⁽³⁾ ;
FB (%)	13,32 ⁽¹⁾ ; 12,7 ⁽²⁾ ; 11,15 ⁽³⁾ ; 14,2 ⁽⁴⁾
CINZAS (%)	5,42 ⁽¹⁾ ; 6,6 ⁽²⁾ ; 16,85 ⁽³⁾ ; 6,6 ⁽⁴⁾
ADF (%)	22,0 ⁽²⁾ ; 12,8 ⁽³⁾ ; 24,6 ⁽⁴⁾
NDF (%)	23,0 ⁽²⁾ ; 19,4 ⁽³⁾ ; 26,0 ⁽⁴⁾
NDT (%)	77,0 ⁽²⁾
EL _L (Mcal/kg)	1,77 ⁽²⁾ ; 1,66 ⁽³⁾

Referências: ⁽¹⁾AMMERMAN et al. (1968); ⁽²⁾NRC (1989) ; ⁽³⁾ FEGEROS et al. (1995); ⁽⁴⁾ DEAVILLE et al. (1994)

Valores de macro e microminerais foram determinados por AMMERMAN et al. (1968). Variações no conteúdo de Ca das amostras, com valores entre 0,79 e 2,13% foram observados para diferentes origens da polpa de citrus. Segundo os autores, altos teores de Ca são geralmente observados devido a necessidade de adição de óxido ou hidróxido de Ca durante o processo de desidratação da polpa de citrus. Assim, espera-se que variações nestes teores ocorram com frequência. O conteúdo em minerais da polpa de citrus está relacionado na Tabela 2.

Em concordância com o descrito acima, MARTINEZ PASCUAL & FERNANDEZ CARMONA (1980c) relatam que houve aumento na fração Cinzas com o aumento da quantidade de Ca (OH)₂ empregado no processamento da polpa. Deve-se salientar também os altos valores de Cinzas (16,85%) e Ca (7,0%) relatados por FEGEROS et al. (1995).

Tabela 2 - Conteúdo em minerais da polpa de citrus, expresso em função da matéria seca.

Minerais	Valores de Literatura
Ca (%)	1,43 ⁽¹⁾ ; 1,84 ⁽²⁾ ; 7,0 ⁽³⁾ ; 1,38 ⁽⁴⁾
P(%)	0,11 ⁽¹⁾ ; 0,12 ⁽²⁾ ; 0,48 ⁽³⁾ ; 0,11 ⁽⁴⁾
K (%)	1,09 ⁽¹⁾ ; 0,79 ⁽²⁾ ; 1,0 ⁽⁴⁾
S (%)	0,06 ⁽¹⁾ ; 0,08 ⁽²⁾ ;
Na (%)	0,09 ⁽¹⁾ ; 0,08 ⁽⁴⁾
Mg (%)	0,12 ⁽¹⁾ ; 0,17 ⁽²⁾ ; 0,2 ⁽³⁾
Co (ppm)	0,073 ⁽¹⁾ ; 0,16 ⁽²⁾
Cu (ppm)	6,19 ⁽¹⁾ ; 6,0 ⁽²⁾ ; 6,5 ⁽³⁾
Fe (ppm)	98,72 ⁽¹⁾ ; 378,0 ⁽²⁾ ; 170,0 ⁽³⁾
Mn (ppm)	5,70 ⁽¹⁾ ; 7,0 ⁽²⁾ ; 5,1 ⁽³⁾
Zn (ppm)	9,94 ⁽¹⁾ ; 15 ⁽²⁾ ; 4,5 ⁽³⁾

Refs: ⁽¹⁾AMMERMAN (1968); ⁽²⁾NRC (1989); ⁽³⁾FEGEROS et al. (1995); ⁽⁴⁾DEAVILLE et al. (1994)

O processo de desidratação que ocorre durante o processamento da polpa de citrus também pode ter efeito em suas características nutricionais. AMMERMAN et al. (1965) relatam que variando a temperatura entre 104, 115 e 126 °C não houve um efeito significativo na composição em nutrientes da polpa, com exceção de um aumento no conteúdo da fração Cinzas. Segundo os autores, a maior porcentagem de matéria mineral sugere a perda de nutrientes orgânicos com o aumento da temperatura. No entanto, as frações PB e energia da ração contendo polpa de citrus desidratada a 104 °C apresentaram digestibilidade significativamente maior ($p < 0,05$) que os demais tratamentos.

Dados semelhantes são relatados por MARTINEZ PASCUAL & FERNANDEZ CARMONA (1980c), que observaram pequena variação na composição da polpa entre temperaturas de 80 a 130 °C. No entanto, acima de

130 °C as frações FB, Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Lignina em Detergente Ácido (LDA), assim como as perdas de MS apresentaram um aumento de 2 a 2,5% a cada 10°C adicionais. A fração PB teve valores semelhantes quando a temperatura ou tempo de secagem foram alterados, no entanto, em concordância com AMMERMAN et al. (1965), os autores salientam que é bem conhecida a redução do valor nutritivo da proteína quando esta é submetida a altas temperaturas.

Outra fase do processamento da polpa de citrus, a peletização, foi estudada por WING (1975), como possível fator de alteração de sua qualidade nutricional para vacas leiteiras. Os resultados obtidos mostram que o uso de polpa de citrus peletizada ou na forma convencional não alteraram características do leite produzido, concluindo os autores que a forma física não influenciou nas características nutricionais deste alimento.

Algumas características no conteúdo em carboidratos da polpa de citrus devem ser comentadas. Quando comparada com o milho, a polpa de citrus é um material com teor muito baixo de amido em sua composição. DEAVILLE et al. (1994) encontraram valores de 0,1 e 0,14% de amido em amostras de polpa de citrus analisadas. No entanto, salienta-se o alto conteúdo em pectina presente na polpa de citrus. BEN-GHEDALIA et al. (1989) determinaram que 23,1% dos resíduos monossacarídeos de um concentrado contendo 84,5% de polpa de citrus e 12,5% de farelo de soja eram constituídos de ácidos pécticos urônicos, provenientes da hidrólise da pectina presente na polpa de citrus. Segundo RIHANI et al. (1993), a polpa de citrus apresenta em torno de 11% de pectina na MS.

BHATTACHARYA & HARB (1973) substituíram em até 100% o milho da dieta por polpa de citrus, perfazendo 60% do total da dieta de carneiros. Os coeficientes de digestibilidade da MS, PB e ENN das rações experimentais foram menores quando utilizados níveis mais altos de polpa de citrus. No entanto, a digestibilidade da FB foi maior para dietas com maiores quantidades de polpa de citrus, sugerindo, segundo os autores, que a fibra da

polpa é mais digerível que a do milho. Os coeficientes de digestibilidade da MS das dietas variaram de 81 a 75%.

A digestibilidade de dietas contendo concentrados fibrosos (polpa de citrus e polpa de beterraba) e amiláceos (cevada, trigo e mandioca), em níveis de inclusão de 60 e 80%, foi estudada por SUTTON et al. (1987). Os autores encontraram que a digestibilidade da MS, MO e energia foi maior para as dietas contendo nível mais altos de concentrados, mas não foi afetada pelo tipo de concentrado. No entanto, as dietas experimentais contendo concentrados fibrosos apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade da FB, para os dois níveis de inclusão.

HIGHFILL et al. (1987) utilizaram diferentes suplementos energéticos (milho, polpa de citrus, casca de soja, glúten de milho) em dietas contendo 75% de feno fresco. A ração experimental contendo polpa de citrus não apresentou diferenças significativas quando comparadas com os demais tratamentos, para digestibilidade aparente da MS, FDN e FDA.

DURAND et al. (1988), utilizando a metodologia RUSITEC para determinação de digestibilidade *in vitro*, observou coeficiente de digestibilidade de 90% para a MO da polpa de citrus. Para os constituintes da parede celular - celulose e hemicelulose - foram determinados coeficientes de digestibilidade de 78,0 e 78,7%, respectivamente. Segundo os autores, estes valores foram superiores aos apresentados por farelo de glúten de milho e farelo de trigo.

HARMS et al. (1968) trabalharam com polpa de citrus desidratada como substrato para cama de frango e sua posterior utilização na alimentação de ruminantes. Foram calculados por diferença os seguintes coeficientes médios de digestibilidade para a polpa de citrus: MO 83,3%; PB 41,1%; EE 101,4% e FB 79,7%.

DEAVILLE et al. (1994) determinaram os coeficientes de digestibilidade aparente de diversos subprodutos energéticos utilizados na alimentação de ruminantes. Foram determinados para a polpa de citrus os valores de 89,0; 56,0; 85,0; 89,0 e 87%, para MO, PB, EE, FDN e energia bruta,

respectivamente. Os autores determinaram o valor de 12,6 MJ EM/kg de matéria seca para a polpa de citrus.

Valores de digestibilidade aparente da polpa de citrus também foram determinados por FEGEROS et al. (1995). Os autores trabalharam com ovelhas recebendo dietas contendo feno e 30% de polpa de citrus. Foram determinados os valores 78,6; 87,2; 52,7; 82,0; 93,2; e 83,1% para a digestibilidade aparente das frações MS, MO, PB, EE FB e ENN, respectivamente. Salienta-se o baixo valor para a fração PB, em concordância ao exposto por HARMS et al. (1968) e DEAVILLE et al. (1984). Estes resultados estão de acordo com as afirmações de AMMERMAN et al. (1965) e MARTINEZ PASCUAL & FERNANDEZ CARMONA (1980c), sobre a influência do aquecimento da polpa de citrus durante o seu processamento sobre a qualidade nutricional da proteína.

2.3 Parâmetros ruminais

A polpa de citrus é por definição um alimento concentrado (AMMERMAN et al., 1976; HARRIS & STAPLES, 1992). No entanto, os seus efeitos são considerados intermediários entre os de um alimento volumoso e um concentrado no que diz respeito ao fator fibra (WELSH & SMITH, 1971). Neste sentido, os subprodutos ditos “concentrados fibrosos” estão sendo estudados como substitutos de alimentos concentrados ou onde as forragens são escassas ou de baixa qualidade, sem incorrer em efeitos negativos geralmente associados ao uso de concentrados baixos em fibra e altamente fermentáveis adicionados à dieta (HIGHFILL et al., 1987; VALK et al., 1990). WING (1982) comenta que a polpa de citrus contém propriedades semelhantes aos dos alimentos volumosos, promovendo concentrações relativamente altas de acetato no rúmen, assim como valores de pH mais elevados que aqueles observados quando utilizam-se concentrados em geral.

Um conceito importante a se considerar é o de fibra efetiva. Segundo STERN & ZIEMER (1993), fibra efetiva pode ser definida como a capacidade da fibra em estimular ruminação, salivação, produção de acetato ruminal e, conseqüentemente, porcentagem de gordura no leite. Diversos métodos são utilizados para estimar a efetividade da fibra, com sucesso variável. Entre eles salientam-se o tempo de mastigação, relação acetato/propionato ruminal e teor de gordura no leite. Os dados a este respeito são escassos. De acordo com referência citada por STERN & ZIEMER (1993), a polpa de citrus teria 70% de efetividade em seu conteúdo de FDA.

WELCH & SMITH (1971) compararam o efeito da polpa de citrus e de uma mistura de feno sobre o tempo de ruminação em ovinos e bovinos. Quando analisado o tempo de ruminação por unidade de MS ingerida, a polpa de citrus ocasionou uma diminuição dos valores observados. No entanto, quando o tempo de ruminação foi expresso em função da ingestão de constituintes da parede celular a polpa de citrus apresentou valores iguais ou superiores (porém não significativo) aos obtidos para o feno.

2.3.1 Ácidos graxos voláteis

Vários autores relatam as condições ruminais favoráveis resultantes da utilização da polpa de citrus na dieta, quando comparado com o uso de outros concentrados, especialmente aqueles ricos em amido. No que diz respeito à produção de ácidos graxos voláteis (AGV), os trabalhos em geral indicam maiores proporções de ácido acético e menores proporções de ácido propiônico quando a polpa de citrus está presente na dieta (AMMERMAN & HENRY, 1991; WING, 1982). Maiores níveis de acetato e menores níveis de propionato no fluido ruminal em geral estão associados a animais alimentados com maiores quantidades de forragens (SCHAIBLY & WING, 1974).

LOGGINS et al. (1964) estudaram a substituição do milho por farelo de citrus, em níveis de até 63,25% do total da dieta fornecida. Houve um aumento do ácido acético e um decréscimo do propiônico quando o nível de milho decresceu na ração. Com a diminuição do nível de milho na dieta houve também um aumento na relação acetato:propionato, justificada pela mudança no tipo de carboidrato presente nas rações.

Dados semelhantes foram encontrados por HENTGES et al. (1966). A adição de polpa de citrus a dietas para gado de corte aumentou a produção de ácido acético e diminuiu a produção de propiônico no ambiente ruminal. A proporção acético:propiônico mudou de 1,13:1 para 4,35:1, quando a polpa de citrus substituiu em 100% o milho da dieta.

SCHAIBLY & WING (1974) estudaram os efeitos da polpa de citrus nos padrões de fermentação ruminal em carneiros. A polpa substituiu a silagem de milho em proporções de 0, 33, 67 e 100%, representando 0, 27, 55 e 82% da ração consumida. Para as rações contendo polpa de citrus a percentagem molar do ácido acético foi igual ou maior àquelas encontradas para rações compostas apenas por silagem de milho. Para os autores a polpa de citrus não se assemelha a outros concentrados no que diz respeito as concentrações de acetato observadas. Ocorreu uma maior relação acetato:propionato 4h após a alimentação quando se utilizou 82% de polpa de citrus na dieta..

PINZÓN & WING (1976) não encontraram diferenças significativas nas concentrações de acetato quando a polpa de citrus foi adicionada a dieta de novilhos em substituição ao milho, apesar de ter havido tendências de aumento. No entanto, a relação acetato:propionato foi maior para as dietas que continham polpa de citrus. As dietas que continham polpa de citrus também apresentaram maiores valores de AGV's totais produzidos.

VIJCHULATA et al. (1980) observaram que novilhos que receberam dietas que tinham como fonte de energia a polpa de citrus apresentaram menores concentrações de ácido propiônico (22.6 vs. 38.6

moles/100g) e ácido isovalérico (1.6 vs. 3.0 moles/100g) e uma maior concentração de ácido acético (55.3 vs. 41.3 moles/100g) do que aqueles alimentados com milho como principal fonte de energia.

HIGHFILL et al. (1987) suplementaram vacas não lactantes, recebendo dietas à base de 75% de feno fresco, com concentrados contendo milho, casca de soja, farelo de glúten de milho ou polpa de citrus como fonte de energia. As concentrações de acetato e a produção total de ácidos graxos voláteis foram maiores para o tratamento com polpa de citrus do que aquelas observadas para os tratamentos que continham milho ou farelo de glúten de milho.

Em experimento de fermentação *in vitro*, utilizando a metodologia RUSITEC, DURAND et al. (1988) obtiveram resultados onde a polpa de citrus favoreceu maior porcentagem molar de acetato que outros subprodutos, como a polpa de beterraba, o farelo de glúten de milho e o farelo de trigo. A polpa de citrus apresentou porcentagem de acetato no fluido ruminal superior a 60%, semelhante aos valores encontrados para palhadas tratadas com amônia (NH₃) ou hidróxido de sódio (NaOH) e feno de alfafa. Os autores salientam o valor da polpa de citrus como possível suplemento para forragens, apresentando alta digestibilidade e mantendo proporções mais altas de acetato que subprodutos cereais.

Os efeitos da polpa de citrus sobre o padrão de ácidos graxos voláteis no rúmen também foi estudado por BEN-GHEDALIA et al. (1989). Um concentrado contendo 84,5% de polpa de citrus promoveu uma maior concentração de acetato e uma menor concentração de propionato no fluido ruminal, quando comparado com um concentrado contendo 76,5% de cevada em sua composição. Segundo os autores, as diferenças entre o padrão de AGV e pH dos tratamentos indicam diferenças na taxa e padrão de fermentação dos alimentos estudados.

Os resultados apresentados por STROBEL & RUSSEL (1986) estão em concordância com aqueles discutidos acima. Os autores trabalharam

com culturas de carboidratos com bactérias ruminais, onde foram feitas incubações dos carboidratos amido, sacarose, celobiose, xilose, pectina ou uma mistura de carboidratos, em meios de pH 6.7 e 6.0. Os autores observaram que o acetato produzido a partir da fermentação da pectina em pH 6.7 foi maior do que aqueles observados com outros carboidratos. As incubações de pectina também apresentaram a mais alta produção de acetato em pH 6.0, no entanto, não diferindo da xilose e mistura de carboidratos. O tipo de carboidrato teve pouco efeito sobre a produção de propionato, mas a produção de butirato foi menor em tratamentos com xilose e pectina do que para outros tratamentos, independente do pH.

2.3.2 pH ruminal

As informações disponíveis na literatura sobre os efeitos da polpa de citrus no pH ruminal apresentam discordâncias. BHATTACHARIA & HARB (1973) conduziram um trabalho onde a polpa de citrus substituiu o milho da dieta de carneiros em proporções que variaram de 0 a 60% do total da dieta. Os valores de pH ruminal não diferiram estatisticamente entre os tratamentos.

HIGHFILL et al.(1987) também não encontraram diferenças significativas nos valores de pH ruminal entre tratamentos quando substituíram feno fresco por polpa de citrus, casca de soja, farelo de glúten de milho ou milho.

SCHAIBLY & WING (1974) ao substituírem a silagem de milho da dieta de carneiros por polpa de citrus, em proporções de 0 a 100%, encontrou maiores valores de pH quando trabalharam com nível 0 de substituição. Quando os níveis de polpa de citrus atingiram 67 e 100% de substituição, foram observadas reduções nos valores de pH. No entanto, os autores concluem que embora aumentando os níveis da polpa de citrus tenha havido uma redução no pH ruminal, alcançando valores de 7,26; 7,14; 7,06 e 7,04 para 0% e de 6,77

para 100% de substituição, não são valores tão baixos quanto aqueles comumente encontrados para outros concentrados.

Os efeitos da polpa de citrus peletizada e na forma convencional utilizadas em substituição ao milho em dietas de novilhos foram estudados por PINZÓN & WING (1976). As rações continham 33.33% de bagaço de cana e 5% de uréia, sendo, portanto, as dietas pobres em carboidratos facilmente fermentáveis, a não ser por aqueles provenientes do milho e da polpa de citrus. A polpa de citrus causou uma diminuição no pH ruminal, variando de 6.85 para dietas sem polpa de citrus a 6,51 com 55% de substituição, tendência que está de acordo com o encontrado por SCHAIBLY & WING (1974).

CULLEN et al. (1986) afirmam que a acidose ruminal é uma desordem metabólica causada por uma ingestão excessiva de alimentos contendo carboidratos fermentáveis. A propensão de um determinado alimento em produzir acidose é dependente do seu conteúdo em precursores de ácido láctico. Baseado em valores obtidos "in vitro" para pH e acúmulo de lactato, estes autores determinaram que a polpa de citrus tem um maior potencial para apresentar problemas do que a polpa de beterraba, milho e sorgo em grão, sendo menos problemática que a cevada e o trigo.

Resultados semelhantes foram encontrados por MALESTEIN et al. (1984). Os autores enfatizam o potencial de acidose à partir da produção de ácido láctico quando vacas de leite são alimentadas com polpa de citrus. Esta promoveu menores valores de pH e concentração máxima de DL-lactato no fluido ruminal, representando maior potencial de acidose por ácido láctico, quando comparada com outros alimentos como polpa de beterraba, tapioca, farelo de milho, glúten de milho e farelo de soja.

2.3.3 Amônia ruminal e uréia sanguínea

PINZÓN & WING (1976) determinaram que as concentrações de uréia sanguínea e a amônia ruminal diminuíram em novilhos alimentados com 19, 38 ou 55% de polpa de citrus. Altas concentrações de amônia ruminal resultam em uma maior absorção líquida de nitrogênio, conversão em uréia e consequentes perdas à partir da excreção via urinária. Assim, as dietas contendo níveis adequados de nitrogênio mas que resultam em baixo nitrogênio uréico no sangue, resultaram na retenção de maiores quantidades deste elemento. Segundo os autores, os dados obtidos sugerem que níveis de 38 a 55% de polpa de citrus aumentaram a utilização de nitrogênio, já que houve um decréscimo do nitrogênio uréico sanguíneo.

HIGHFILL et al. (1987) observaram que as vacas que receberam polpa de citrus propiciaram uma maior recuperação de proteína bruta microbiana e uma maior eficiência de síntese desta proteína. Segundo os autores, isto provavelmente justifica-se pela presença de carboidratos rapidamente fermentáveis em maiores quantidades, provenientes da polpa de citrus, associados com o nitrogênio altamente solúvel da proteína da soja. Segundo Meyer, citado por HIGHFILL et al. (1987), carboidratos altamente fermentáveis causam uma maior eficiência no uso da amônia para a produção de proteína microbiana pela microflora ruminal. Rihani et al. (1983), citados por GUESSOUS et al. (1989), afirmam que as características de composição em carboidratos e digestibilidade da polpa de citrus indicam que é um alimento que pode ser rapidamente fermentado no rúmen e ser um bom complemento dietético para fontes de nitrogênio não protéico.

2.3.4 Efeitos da polpa de citrus na produção de leite

Existem tendências atuais, motivadas principalmente por fatores econômicos, em substituir grãos de cereais por subprodutos. SUTTON et al. (1987) comentam que a consequência nutricional desta mudança é que o amido é substituído pela fibra como a principal fonte de energia em tais concentrados e que pouco é conhecido sobre os efeitos desta mudança em parâmetros como produção de leite e consumo de forragem.

Estima-se que cerca de 90% da polpa de citrus desidratada nos Estados Unidos é utilizada para a alimentação de vacas leiteiras em lactação. Experiências práticas com produtores de leite têm demonstrado seu valor econômico para vacas em lactação, especialmente quando a forragem é pouco disponível ou de baixa qualidade (AMMERMAN & HENRY, 1991).

Trabalhos têm mostrado que a substituição do milho por polpa de citrus para ruminantes resulta em maiores concentrações de ácido acético (HENTGES et al., 1966; LOGGINS et al., 1964) e que a razão acetato:propionato aumenta ou se mantém quando a polpa substitui a silagem de milho (SHAIBLY & WING, 1974). Estes dados sugerem que a polpa de citrus pode auxiliar a manutenção de altas porcentagens de gordura no leite em condições onde a forragem é escassa ou de baixa qualidade.

VAN HORN et al. (1975) substituíram o milho por polpa de citrus em rações completas para vacas leiteiras. As dietas tinham como base 25% de bagaço de cana peletizado e a polpa de citrus representava 8% ou 43,1% da dieta. Rações ricas em milho (8% de polpa de citrus) diminuíram a porcentagem de gordura, ou seja, as dietas ricas em polpa de citrus mantiveram a porcentagem de gordura no leite. A produção de Leite Corrigido para Sólidos Totais foi maior para dietas ricas em polpa de citrus.

SUTTON et al. (1987) trabalharam com concentrados amiláceos (cevada, trigo e mandioca) e concentrados fibrosos (polpa de citrus e polpa de beterraba) para vacas em lactação, em proporções de 60 ou 80% da dieta.

Com concentrados amiláceos, quando utilizados em níveis mais altos na dieta, houve um aumento de 22% na produção de leite, porém, uma severa depressão na concentração de gordura resultante da queda em sua produção. A depressão na concentração de gordura no leite foi menos severa para os concentrados fibrosos para o nível de 80% de concentrados na dieta.

DRUDE et al. (1971) trabalharam com rações completas contendo combinações de silagem de milho, alfafa peletizada, polpa de citrus e casca de algodão. As dietas continham 40% de forragem e 60% de concentrados com base na energia. A dieta contendo silagem de milho e polpa de citrus apresentou maior produção de leite corrigido para gordura e proporcionou um aumento na razão acetato:propionato no rúmen. LUCCI et al. (1975) substituíram parcial ou totalmente o milho desintegrado por polpa cítrica em misturas concentradas para vacas em lactação. Estas substituições não alteraram significativamente a produção de leite, levando a conclusão de que a polpa cítrica pode ser utilizada até 67% de misturas concentradas, sem prejuízos para o consumo ou outros efeitos indesejáveis.

VISSER et al. (1990), estudando os efeitos de carboidratos estruturais e não estruturais em concentrados para suplementação de vacas leiteiras, concluíram que altas produções de leite podem ser obtidas com dietas de alta qualidade e que a composição do leite pode ser manipulada através de mudanças da composição em carboidratos de parte da dieta. No entanto, os autores salientam que são necessárias pesquisas adicionais sobre os efeitos dos diferentes constituintes da parede celular.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e instalações

O ensaio foi conduzido nas dependências do Departamento de Zoologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, em Piracicaba - SP. Foram utilizadas 4 vacas holandesas, não lactantes, com peso vivo variando entre 400 e 550 kg, providas de fístula ruminal. Os animais receberam tratamento para combate a endo e ectoparasitos e aplicações parenterais de vitaminas A, D e E, antes do período experimental.

Os animais foram alojadas em baias individuais, tendo acesso durante o período pré-experimental a um pequeno piquete para exercícios. Durante o período experimental os animais ficavam confinados às baias.

3.2 Período experimental

O experimento foi conduzido no período de agosto a dezembro de 1994. Foram utilizados 5 períodos, com 24 dias cada. O período pré-experimental foi de 16 dias, onde os animais eram adaptados ao novo tratamento (dieta). O período experimental foi de 8 dias, quando era feita a coleta de dados para os parâmetros avaliados. No 1º e 3º dias foram feitas as coletas de fluido ruminal; do 5º ao 7º dias foram feitas as incubações para determinação de degradabilidade *in situ*. No 7º e 8º dias foram feitas as coletas de sangue para determinação de uréia sanguínea.

3.3 Tratamentos

Foram estudadas dietas onde a silagem de milho foi substituída por diferentes quantidades de polpa de citrus peletizada, milho ou uma combinação de milho e polpa de citrus. A Tabela 3 relaciona os ingredientes das dietas experimentais e a composição esperada em nutrientes.

Tabela 3 - Formulação das rações experimentais

kg de MS	Trat I	Trat II	Trat III	Trat IV	Trat V
silagem de milho	6,00.	8,50	10,00	6,00	6,00
conc. Vialac	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
polpa de citrus	5,00	2,50	0,00	2,50	0,00
milho	0,00	0,00	0,00	2,50	5,00
uréia	0,21	0,20	0,15	0,18	0,13
sal mineral	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15.
% forragem	28,40	40,10	49,60	28,40	28,40
<hr/>					
% PB	16,50	16,50	16,50	16,50	16,50
% PB Bypass	32,90	32,60	32,30	34,10	36,00
% PB solúvel	33,80	34,10	32,30	30,70	28,20
EL _L (Mcal/kg)	1,67	1,62	1,60	1,66	1,72
% ADF	20,50	21,90	22,80	19,70	16,00
% NDF	29,00	33,20	36,50	31,60	25,70
% CNE	46,10	41,60	37,90	43,30	49,50

As dietas foram balanceadas para atender as exigências de manutenção e produção de uma vaca com 600 kg de peso vivo, não gestante, em lactação, com produção diária de 35 kg de leite com 3,5% de gordura. As dietas foram fornecidas uma vez ao dia, no horário de 7:00 horas, com base na

matéria seca, em quantidade referente a 1,8% do peso vivo do animal. O consumo de matéria seca foi estimado em 10 a 12 kg/dia.

3.4 Caracterização dos alimentos

Foram feitas análises laboratoriais para se determinar a composição bromatológica da polpa de citrus e de outros alimentos utilizados nas dietas experimentais. As análises foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal-LANA, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz - ESALQ.

As análises de Matéria Seca, Fibra Bruta, Matéria Mineral e Proteína Bruta, foram realizadas de acordo com as metodologias descritas por AOAC (1978).

Para Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) foram utilizadas as metodologias propostas por Van Soest et al. (1991).

Esta caracterização inicial dos alimentos teve por objetivo minimizar os efeitos das diferenças de composição dos alimentos encontradas na literatura e obtenção de dietas realmente balanceadas de acordo com os propósitos deste trabalho.

Durante a condução do ensaio foram coletadas amostras semanais de silagem de milho para determinação da matéria seca, com o objetivo de manter ajustadas as proporções de volumoso e concentrado das dietas experimentais. Amostras das rações experimentais, da silagem de milho e dos alimentos concentrados foram coletadas do décimo sexto ao vigésimo primeiro dia e amostras das sobras da alimentação foram coletadas do décimo sétimo ao vigésimo segundo dia de cada período experimental. Estas amostras foram analisadas para MS, PB, FB, MM, FDN, FDA. As composições médias dos alimentos e das rações experimentais estão relacionados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios das análises bromatológicas dos alimentos e das rações utilizadas durante o período experimental.

	MS (%)	PB (%)	FB (%)	FDN(%)	FDA(%)	EE(%)	MM(%)
tratamento I	53,46	16,20	12,36	28,35	19,06	2,24	7,58
tratamento II	48,51	15,57	14,12	30,22	20,81	2,57	7,04
tratamento III	43,72	15,63	14,78	33,81	19,63	3,07	7,28
tratamento IV	55,24	16,59	12,29	30,55	17,55	2,84	7,15
tratamento V	50,34	16,25	11,77	30,54	15,62	2,91	6,09
polpa de citrus	86,80	6,60	12,50	23,10	20,80	1,94	8,03
conc. Vialac	88,50	21,50	3,52	14,50	4,70	3,06	8,15
sil. de milho	30,30	7,40	22,76	50,90	30,60	2,26	7,14
milho triturado	88,45	9,30	2,12	16,30	2,90	3,61	1,42

3.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino incompleto. Foram realizados 5 períodos experimentais, avaliados 5 tratamentos e utilizadas 4 vacas providas de fístula ruminal.

A análise estatística dos dados foi realizada com uso do pacote estatístico Statistical Analyses System (S.A.S., 1986), utilizando o Procedimento GLM. Os dados foram analisados dentro de cada tempo de amostragem para os parâmetros avaliados.

O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = u + l_i + c_j + t_k + e_{ijk},$$

onde

Y_{ijk} é o valor da parcela que recebeu o tratamento k, na linha i e coluna j;

u é a média geral;

l_i é o efeito da linha i;

c_j é o efeito da coluna j;

t_k é o efeito do tratamento k;

e_{ijk} é o erro da parcela que recebeu o tratamento k, na linha i e coluna j.

Para comparação de médias dos parâmetros avaliados foi utilizado o Teste Tukey. A comparação de médias foi feita dentro de cada período experimental e com as médias gerais de cada tratamento. O estudo da interação entre tratamentos e tempos de amostragem foi realizado com o uso do comando Repeated do Procedimento GLM (SAS, 1986).

3.6 Parâmetros avaliados

3.6.1 Parâmetros ruminiais

a) Coletas de fluido ruminal

Foram coletadas amostras de líquido ruminal às 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas após o fornecimento das dietas experimentais. As amostras foram utilizadas para determinação de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis.

O fluido ruminal foi coletado com o auxílio de uma bomba de vácuo simplificada, ligada a uma mangueira cuja extremidade, protegida por uma sacola de "dacron", era introduzida no rúmen para coleta. O fluido foi cuidadosamente coletado de diversas áreas do rúmen, numa quantidade total aproximada de 200 ml

A partir do material coletado, uma fração de aproximadamente 30 ml foi transferida para um béquer, para determinação do pH.

Para determinação de ácidos graxos voláteis, uma fração de fluido ruminal de aproximadamente 50 ml foi centrifugada a 5000 G, durante 20 min. Foi transferida em duplicata uma alíquota de 1 ml do sobrenadante para um frasco de vidro tipo "Snap Cap", adicionados 0,2 ml de ácido fórmico e armazenado em congelador a -14°C.

Para determinação de N-NH₃ no rúmen, uma terceira fração de 2 ml do fluido coletado, em duplicata, foi transferida para um tubo de centrífuga contendo 1 ml de tungstato de sódio a 10% e, em seguida, adicionado 1 ml de ácido sulfúrico 1 N. Após centrifugação por 20 min o sobrenadante foi transferido em duplicata para os vidros de cultura de 15 ml e armazenados em freezer a -14 °C.

b) Ácidos Graxos Voláteis

As determinações quantitativas e qualitativas dos AGV's foram feitas segundo o método de ERWIN et al. (1961), com o uso de cromatografia gasosa. Foi utilizado um cromatógrafo a gás, modelo CG/37 D da Instrumentos Científicos CG LTDA, equipado com coluna de vidro de 4 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro, empacotada com carbopack e com detetor de ionização de chamas. (Os gases utilizados foram: nitrogênio - gás de arraste - na vazão de 30 mililitros por minuto; oxigênio - comburente - na vazão 400 mililitros por minuto; e hidrogênio - combustível - na vazão de 40 mililitros por

minuto.) As temperaturas de operação do vaporizador, coluna de separação e detetor foram, respectivamente, de 195, 120 e 205 °C.

Foram determinadas as concentrações dos AGV's a partir da injeção de 1 microlitro de amostra e os resultados obtidos através de um integrador que utilizou a solução padrão como base para determinação das concentrações. Foi utilizado um número de repetições por amostra necessário para que a diferença entre as leituras fosse inferior a 5%. A cada 10 injeções sucessivas de amostras de líquido ruminal foi feita uma injeção de solução padrão, para evitar distorções nas leituras devido a contaminação da coluna.

Os cálculos das concentrações dos AGV's foram feitos com uso de microcomputadores tipo pc, com placa e software desenvolvidos pela Anacom Software (programa INTEGRA). Para realização dos cálculos, as amostras foram comparadas a uma solução padrão contendo 63,5% de ácido acético, 21% de ácido propiônico, 9% de ácido butírico. e o restante de isoácidos (isobutírico, isovalérico, 2 metil butírico e valérico). Os resultados foram obtidos através do uso de um software que fazia o papel de integrador.

c) pH ruminal

O pH das amostras de líquido ruminal foram medidos com potenciômetro digital da Digimed, modelo TE-902, imediatamente após a coleta.

d) Nitrogênio amoniacal

Para a determinação da concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal foi utilizada a metodologia proposta por CHANEY & MARBACH (1962).

Após o processamento e/ou descongelamento, foram pipetados 25 microlitros do sobrenadante da amostra e transferidos para os tubos de

ensaio. Pipetou-se 5 ml de solução de fenol e em seguida 5 ml de solução de hipoclorito, arrolhou-se os tubos, colocando-os em banho maria a 37 graus centígrados (previamente estabilizado) por 15 min.

As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro Coleman, modelo 6/20 JUNIOR II, regulado em 640 nanômetros (nm). Os valores de absorbância foram utilizados em equação de regressão do tipo $y = ax + b$, obtidos a partir da calibração do aparelho com solução padrão, e transformados em mg N-NH₃/100 ml.

e) Degradação efetiva de amostra padrão de feno

Para determinação dos valores de degradação efetiva de amostra de feno de gramínea (amostra padrão) foi utilizada como parâmetro para monitoramento das condições de fermentação no rúmen. Foi adotada a metodologia de degradação *in situ* com uso de sacolas de nylon, de acordo com o proposto por MEHREZ & ORSKOV (1977).

Foram utilizadas sacolas confeccionadas com tecido tipo “dacron”, porosidade de 50 x 50 micra, com medidas externas de 6 x 12 cm. Foram utilizadas amostras em duplicata para coletas de 0 a 24 h e triplicata para coletas de 36 a 72

h, contendo 3,0 g de feno. As amostras foram moídas em moinho do tipo Willey, com peneira de 2mm. As amostras foram incubadas no rúmen por 0, 4, 6, 10, 12, 24, 36, 48 e 72 horas.

As sacolas foram protegidas por sacos de nylon em forma de rede e suspensas por um fio de nylon amarrado em um peso de aço de 0,5 kg, para manter as sacolinhas na região do saco ventral do rúmen.

Após completar o período de incubação, as sacolinhas foram retiradas e imersas em água com gelo, a fim de diminuir o processo fermentativo. Em seguida foram enxaguadas em água corrente, colocadas em sacos de nylon poroso e lavadas em máquina de lavar, marca “KARINA”, com

renovação contínua de água, por um período de 40 min. Após a retirada foram novamente enxaguadas em água corrente. Em seguida foram colocadas em estufa de ventilação forçada (55-60 °C) por um período de 48 h e pesadas em balança de precisão eletrônica.

Durante o processo de lavagem das sacolinhas com os alimentos há perdas de frações solúveis e de frações não solúveis que têm dimensões inferiores aos poros da sacola. Para eliminar este erro do método, faz-se a lavagem das sacolas contendo os alimentos não incubados (controle zero), a fim de se calcular as perdas por lavagem do alimento.

A partir dos resultados de incubação foi calculada a degradação efetiva das amostras de feno para cada tratamento, de acordo com o modelo proposto por McDONALD (1981).

3.6.2 Uréia sanguínea

Foram coletadas amostras de sangue através de punção na veia jugular e determinadas as concentrações de uréia sanguínea utilizando-se um kit laboratorial da Labtest. As coletas foram feitas duas e quatro horas após o fornecimento da alimentação nos dias 20 e 21 de cada sub-período experimental.

A amostra coletada em tubo de ensaio foi submetida a centrifugação. Uma fração de 0,02 ml do plasma foi adicionada aos reagentes e submetida a aquecimento em banho de água fervente por 10 min e, após, banho de água fria por 3 minutos. Foram determinadas as absorbâncias do teste e do padrão em 520 nm.

Foi utilizada a seguinte fórmula para determinação da uréia sanguínea (mg/dl) = [(absorbância do teste / absorbância do padrão) x 70] / 2,143 (fator de calibração do método)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O padrão de fermentação ruminal decorrente da presença de diferentes substratos nesta porção do trato digestivo tem sido objeto de estudos de diversos autores. Segundo ORSKOV (1994), é bem conhecido que a presença de forragens ricas em celulose aumentam a proporção de ácido acético no rúmen, porém, é muito difícil prever precisamente o tipo de fermentação à partir da composição química em nutrientes de um alimento.

As proporções relativas de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen são resultados de vários fatores, entre eles o ambiente ruminal, em especial o pH, a composição do substrato, sua disponibilidade e taxa de despolimerização e as espécies microbianas presentes (DIJKSTRA, 1994; ORSKOV, 1994; TAMMINGA et al., 1990). DIJKSTRA (1994) afirma que a taxa de despolimerização controla a proporção a qual o substrato fermentável torna-se disponível para assimilação pelos microorganismos afetando, conseqüentemente, a formação dos produtos de fermentação.

No presente trabalho são estudados os efeitos da polpa de citrus e do milho sobre parâmetros ruminiais, quando substituem parte do volumoso da dieta. Salienta-se a influência dos diferentes conteúdos em carboidratos destes alimentos, em especial a pectina da polpa de citrus e o amido do milho. Segundo Van Soest, citado por BEN-GHEDALIA et al. (1989), a pectina é, invariavelmente, o carboidrato complexo de mais rápida fermentação. O amido, no entanto, dependendo de sua origem, apresenta diferentes taxas de digestão (ORSKOV, 1986). A aveia, cevada ou trigo tem no mínimo 90% do amido fermentado no ambiente ruminal, enquanto o milho pode ter, em certos casos, somente em torno de 40% do amido escapando a fermentação ruminal. Devido

as diferenças nas taxas de degradação, deve-se esperar alterações no padrão de fermentação ruminal e composição do leite de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes de amido (NOCEK & TAMMINGA, 1991; VISSER et al., 1990).

4.1 Ácidos graxos voláteis

4.1.1 Ácido acético

Comparando-se as médias dos tratamentos estudados, observa-se que o tratamento I apresentou produção de ácido acético ruminal estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao tratamento V (Tabela 5). Apesar de também apresentar médias superiores ao restante dos tratamentos, as diferenças não foram significativas estatisticamente ($p > 0,05$). Observa-se que o tratamento V, que possui maior proporção de milho em sua composição, apresentou produção de acetato numericamente inferior a todos os demais tratamentos, porém, as diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Quando comparadas as médias em cada tempo de amostragem, não foram observados efeitos significativos de tratamentos ($p > 0,05$) na produção de acetato ruminal. No entanto, observa-se que os dados nos diferentes tempos de amostragem apresentam tendência semelhante ao observado para as médias dos tratamentos. A Figura 1 ilustra graficamente os resultados de ácido acético produzidos por cada tratamento nos diferentes tempos de amostragem.

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) para a interação tratamento x tempo de amostragem. Para a produção de ácido acético no rúmen, os tempos de amostragem tiveram efeitos iguais ($p > 0,05$) sobre os tratamentos.

Tabela 5 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido acético ruminal (mM/dl).

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	4,775	3,933	4,095	4,218	3,660
2 h	5,480	5,298	5,228	5,298	4,935
4 h	5,288	5,195	4,938	5,348	4,990
6 h	6,027	5,635	5,000	5,535	5,090
8 h	5,738	5,690	5,638	5,857	5,235
24 h	5,295	5,518	5,508	5,303	4,690
média	5,434 ^a	5,211 ^{ab}	5,067 ^{ab}	5,260 ^{ab}	4,767 ^b

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

O resultado para porcentagem de ácido acético presente no fluido ruminal foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) para o tratamento II, quando comparado com os resultados obtidos para os tratamentos IV e V (Tabela 6). De maneira semelhante, o tratamento III também ocasionou maior ($p < 0,05$) porcentagem de acetato ruminal que o tratamento IV. Salienta-se que os tratamentos II e III são aqueles que possuem menores proporções de concentrados e que os tratamentos IV e V são aqueles que contêm milho em suas composições.

Figura 1 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido acético ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.

Observa-se que as médias dos tratamentos I e V para porcentagem de ácido acético no fluido ruminal não diferiram estatisticamente ($p>0,05$), ou seja, o resultado para o tratamento com maior nível de polpa de citrus foi igual ao observado para o tratamento com maior proporção de milho em sua composição. Também não houve diferença ($p>0,05$) quando comparado o tratamento I com o tratamento III, que possui maior proporção de silagem de milho em sua composição.

Tabela 6 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido acético ruminal.

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	65,00	66,00	68,00	63,00	63,00
2 h	63,50 ^{ab}	67,50 ^a	66,25 ^{ab}	62,75 ^b	64,25 ^{ab}
4 h	64,75	67,75	65,25	63,25	63,75
6 h	64,25	65,00	65,50	63,00	63,25
8 h	64,50	65,75	68,25	61,75	64,00
24 h	67,50	69,00	64,75	64,75	66,75
média	64,92 ^{abc}	66,83 ^a	66,33 ^{ab}	63,17 ^c	64,17 ^{bc}

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

Quando comparados os resultados dentro de cada tempo de amostragem, observa-se para o tempo de 2h que o tratamento II apresentou uma maior ($p < 0,05$) porcentagem de ácido acético no fluido ruminal que o tratamento IV. A Figura 2 ilustra graficamente os resultados em cada tempo de amostragem. Observa-se também que a tendência dos resultados em cada tempo de amostragem é semelhante ao observado para as médias dos tratamentos.

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da interação tratamento x tempo de amostragem para o parâmetro porcentagem de acetato ruminal. Os tratamentos foram igualmente influenciados pelos tempos de amostragem.

Figura 2 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido acético ruminal nos diferentes tempos de amostragem.

Os resultados mostram que o tratamento com maior proporção de polpa cítrica, em torno de 23% da dieta, apresentou maior ($p < 0,05$) produção de acetato, em Mm/dl de fluido ruminal, que a dieta com maior proporção de milho. No entanto, quando a produção de ácido acético foi expressa em porcentagem a dieta com maior proporção de milho apresentou valor igual ($p > 0,05$) ao observado quando utilizada a polpa cítrica nas mesmas proporções. Quando a adição de polpa foi feita em uma proporção intermediária, em torno de 11% da dieta, a produção de acetato expressa em porcentagem foi superior ($p < 0,05$) ao

tratamento IV, que continha milho e polpa cítrica em proporções iguais, e ao tratamento V, com milho substituindo em 23% a silagem. Salienta-se que apenas o tratamento onde a polpa cítrica e o milho foram utilizados associados apresentou porcentagem de ácido acético inferior ($p < 0,05$) a dieta com maior proporção de silagem de milho.

A produção de acetato é frequentemente associada a condições ruminais mais estáveis. Em geral, quando a proporção de acetato é alta as condições gerais do rúmen, como pH, motilidade e poder tampão, estão concorrendo para um bom desempenho do animal hospedeiro. As proporções em que os principais ácidos graxos voláteis (AGV) são formados no rúmen estão em torno de 63% de ácido acético, 21% de ácido propiônico e 16% de ácido butírico e ácidos superiores (HUNGATE, 1988). Segundo TAMMINGA et al. (1990), carboidratos estruturais estimulam ruminação, salivação e motilidade ruminal devido a sua forma longa, contribuindo para maior estabilidade na fermentação ruminal. No entanto, carboidratos não estruturais, em especial aqueles facilmente degradáveis, podem ter influência negativa no ambiente do rúmen, resultando em modificações na composição do leite.

Vários autores têm associado a presença de polpa de citrus na dieta com maiores concentrações de acetato ruminal, seja em experimentos com bovinos (HENTGES et al., 1966; HIGHFILL et al., 1987; SUTTON et al., 1987) ou ovinos (LOGGINS et al., 1964; SHAILBY & WING, 1974;).

Os resultados aqui discutidos sugerem que a polpa cítrica favoreceu uma maior produção de acetato (mM/dl) que o milho, quando utilizados em substituição a parte do volumoso da dieta. No entanto, estas diferenças não são evidenciadas quando a produção de ácido acético é expressa em porcentagem dos ácidos graxos voláteis presentes no fluido ruminal. Resultados semelhantes foram encontrados por PINZÓN & WING (1976), quando substituíram gradativamente o milho das dietas experimentais de carneiros por polpa cítrica, onde não foram detectadas diferenças na porcentagem molar de acetato entre tratamentos. Porém, todos os tratamentos

que continham polpa de citrus favoreceram uma maior relação acetato/propionato.

4.1.2 Ácido propiônico

Para a produção de ácido propiônico no fluido ruminal, o tratamento IV apresentou resultado estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao tratamento III. Apesar de também apresentar resultado numericamente superior ao restante dos tratamentos, as diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Salienta-se também o resultado obtido para o tratamento V, numericamente superior aos tratamentos I, II e III, porém, sem que as diferenças sejam estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Os resultados estão dispostos na Tabela 7.

De maneira semelhante ao comentado sobre porcentagem de acetato, o tratamento II, com 11% de polpa cítrica em substituição ao volumoso, e o tratamento III, com maior proporção de volumoso em sua composição, foram aqueles que apresentaram menores valores para produção de propionato ruminal. O tratamento IV, com milho e polpa de citrus na proporção 23%, e o tratamento V, com 23% de milho, foram os que apresentaram resultados numéricos superiores para produção de ácido propiônico. Quando feita a substituição de 23% de volumoso por polpa cítrica (tratamento I), houve um aumento no propionato produzido, porém não significativo estatisticamente ($p > 0,05$). Estes resultados sugerem que as dietas onde o milho substitui parte da silagem favoreceu uma maior produção de ácido propiônico no ambiente ruminal quando comparadas com as dietas onde esta substituição foi feita com polpa cítrica isoladamente.

Tabela 7 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido propiônico ruminal (mM/dl).

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	1,480	1,337	1,245	1,650	1,550
2 h	2,000	1,645	1,743	2,010	2,062
4 h	1,815	1,595	1,708	1,948	2,150
6 h	2,010	1,898	1,630	2,115	2,240
8 h	1,920 ^{ab}	1,988 ^{ab}	1,550 ^b	2,380 ^a	2,108 ^{ab}
24 h	1,618	1,705	1,933	1,905	1,655
média	1,807 ^{ab}	1,695 ^{ab}	1,635 ^b	2,001 ^a	1,961 ^{ab}

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Quando comparadas as médias em cada tempo de amostragem, observam-se tendências semelhantes às das médias dos tratamentos. No tempo de amostragem 8 h o tratamento IV apresentou produção de propionato superior ($p < 0,05$) ao tratamento III. Em todos os tempos de amostragem, com exceção de 24 h, os tratamentos IV e V apresentaram resultados superiores aos obtidos com as outras dietas experimentais, porém, as diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Os resultados de produção de ácido propiônico obtidos para os tratamentos em cada tempo de amostragem estão representados graficamente na Figura 3.

Para o parâmetro produção de propionato, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da interação tratamento x tempo de amostragem. Os tempos de amostragem tiveram efeitos iguais sobre os diferentes tratamentos.

Figura 3 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido propiônico ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.

Quando os resultados de ácido propiônico no ambiente ruminal são expressos em porcentagem observa-se que o tratamento V apresentou resultado superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos, com exceção ao tratamento IV (Tabela 8). O tratamento IV apresentou resultado numericamente superior aos tratamentos I, II e III, porém, as diferenças não são estatisticamente significativas ($p > 0,05$). No entanto, os tratamentos I e II, com respectivamente 23% e 11% de polpa de citrus em suas composições,

apresentaram resultados iguais ($p < 0,05$) ao tratamento com maior proporção de silagem de milho. Estes resultados reforçam a proposição de que as dietas onde o milho substituiu parte da silagem favoreceram uma maior produção de ácido propiônico quando comparadas com as dietas onde a polpa de citrus estava presente em suas composições.

Tabela 8 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido propiônico ruminal.

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	20,00 ^b	22,50 ^{ab}	20,75 ^{ab}	25,00 ^{ab}	26,50 ^a
2 h	23,25	21,00	21,75	23,50	25,75
4 h	22,50	20,25	22,50	23,00	27,00
6 h	21,50	21,75	21,50	23,75	26,50
8 h	21,75 ^{ab}	23,00 ^{ab}	19,25 ^b	24,75 ^{ab}	25,75 ^a
24 h	21,00	21,50	22,75	23,25	23,00
média	21,67 ^b	21,67 ^b	21,42 ^b	23,88 ^{ab}	25,75 ^a

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

Quando comparadas as médias em cada tempo de amostragem observa-se que as tendências dos resultados obtidos para as médias dos tratamentos se mantêm. O tratamento V apresentou maior ($p < 0,05$) produção de propionato que o tratamento I, no tempo de amostragem 0 h, e que o tratamento III, no tempo de amostragem 8 h. As demais diferenças não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$), porém observa-se que os tratamentos IV e V apresentam, para porcentagem de propionato no fluido ruminal, valores numericamente superiores as demais dietas em todos os tempos de

amostragem. A Figura 4 representa graficamente os resultados obtidos para porcentagem de ácido propiônico.

Figura 4 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido propiônico ruminal nos diferentes tempos de amostragem.

A interação tratamento x tempo de amostragem não foi significativa ($p>0,05$). Para porcentagem de ácido propiônico, os tempos de amostragem tiveram influência igual sobre os diferentes tratamentos.

Rações com alto teores de concentrados, ricos principalmente em amido, são frequentemente relacionadas com alta produção de ácido propiônico e baixa produção de ácido acético no ambiente ruminal (STERN & ZIEMER, 1993). ORSKOV (1986) afirma que a fermentação bacteriana do amido produz, em geral, maiores proporções de ácido propiônico (35 a 45 mol/100mol de AGV) do que a fermentação bacteriana de celulose ou hemicelulose (15 a 20 mol/100mol de AGV).

Vários fatores concorrem para o aumento da produção de ácido propiônico no fluido ruminal à partir de substratos ricos em amido, em detrimento da produção dos ácidos acético e butírico (VAN SOEST, 1994). A diminuição do pH ruminal, em função da maior produção de ácido láctico, gera uma diminuição da atividade celulolítica e uma consequente diminuição na produção de acetato. Baixo pH, entre outros fatores, também diminui a atividade de bactérias metanogênicas, promovendo a produção de hidrogênio, o que conduz o balanço de carbono para a produção de ácido propiônico, que requer menos transporte de hidrogênio que o acético. Outro fator é a diminuição da população de protozoários que também pode ocorrer em grandes concentrações de amido e açúcares, eliminando sua ação na moderação da acidose ruminal.

A polpa de citrus tem sido citada como um concentrado fibroso, com bom valor energético (HARRIS & STAPLES, 1992), passível de utilização sem problemas frequentemente associados ao uso de concentrados amiláceos (HIGHFILL, et al., 1987). Diversos autores salientam os menores valores de ácido propiônico produzidos no rúmen quando a polpa de citrus substituiu o milho na dieta (VIJCHULATA et al., 1980; SHAILBY & WING, 1974; LOGGINS et al., 1964). Em resultados de técnicas *in vitro*, subprodutos de cereais também produziram maiores proporções de ácido propiônico que a polpa de citrus (DURAND et al., 1988). Os resultados também estão de acordo com aqueles obtidos por SUTTON et al. (1987), onde dietas ricas em concentrados fibrosos (polpas de citrus e beterraba e farelo de trigo) ocasionaram maiores

proporções de ácido acético e menores proporções de ácido propiônico que dietas ricas em concentrados amiláceos (trigo, cevada e mandioca).

4.1.3 Ácido butírico

Para produção de ácido butírico no ambiente ruminal, o tratamento I apresentou resultado superior ($p < 0,05$) ao observado para os tratamentos II e V. A utilização de 23% de polpa de citrus em substituição ao volumoso favoreceu uma maior produção de butirato no rúmen quando comparada com as dietas onde o milho foi utilizado em mesma proporção ou quando a polpa de citrus foi utilizada em uma proporção inferior na dieta. O tratamento II, com 11% de polpa de citrus, manteve a produção de butirato igual ($p > 0,05$) a dieta com maior proporção de silagem de milho em sua composição. Os resultados estão relacionados na Tabela 9.

O tratamento IV também apresentou resultado estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao tratamento V, ou seja, quando o milho foi utilizado associado a polpa cítrica houve uma maior produção de butirato, comparada com a dieta onde a substituição foi feita com o milho isoladamente. Os resultados da presença de polpa de citrus ou polpa de citrus associada com o milho nas proporções máximas favoreceram uma produção de butirato superior ao observado quando o milho foi utilizado isoladamente.

Nas comparações de médias feitas dentro de cada tempo amostral, apenas para 4 h observou-se efeito significativo ($p < 0,05$) de tratamento, quando os tratamentos I e IV apresentaram maior produção de butirato que o tratamento V. Esta tendência de menor produção de butirato para o tratamento V foi observada em todos os tempos de amostragem. A Figura 5 representa graficamente os resultados de produção de ácido butírico observados para cada tratamento.

Não foi observado efeito significativo ($p>0,05$) para a interação tratamento x tempo de amostragem. Para produção de butirato os tratamentos foram igualmente influenciados pelos diferentes tempos de amostragem.

Tabela 9 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido butírico ruminal (mM/dl).

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	1,078	0,700	0,670	0,750	0,623
2 h	1,175	0,905	0,968	1,143	0,905
4 h	1,055 ^a	0,920 ^{ab}	0,920 ^{ab}	1,175 ^a	0,710 ^b
6 h	1,425	1,125	1,018	1,137	0,760
8 h	1,255	0,983	1,023	1,282	0,830
24 h	0,925	0,767	1,062	0,978	0,755
média	1,152 ^a	0,900 ^{bc}	0,943 ^{abc}	1,077 ^{ab}	0,740 ^c

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Quando a produção de butirato é expressa em porcentagem, confirma-se o desempenho do tratamento V para este parâmetro (Tabela 10). Todos os tratamentos, exceto o tratamento II, apresentaram resultados estatisticamente superiores ($p<0,05$) ao tratamento V. A substituição em maior proporção do volumoso da dieta por milho ocasionou uma menor porcentagem de butirato no fluido ruminal, quando comparada com as dietas onde havia maior proporção de silagem de milho ou onde foi feita substituição em mesmas proporções por polpa de citrus ou por polpa de citrus associada com milho. Apenas quando a polpa cítrica foi utilizada em menores proporções o resultado

não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) daquele obtido para a dieta com maior proporção de milho.

Figura 5 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de ácido butírico ruminal (mM/dl) nos diferentes tempos de amostragem.

Quando a comparação de médias foi feita em cada tempo de amostragem, o tratamento V apresentou resultado estatisticamente inferior ($p<0,05$) ao tratamento IV no tempo de amostragem 4 h. No entanto,

apresentou resultados numericamente inferiores a todos os outros tratamentos e em todos os tempos de amostragem, exceto o tratamento II no tempo de 2 h. Estes resultados seguem a mesma tendência observada para as médias dos tratamentos. A Figura 6 representa graficamente os resultados de porcentagem de ácido butírico no fluido ruminal.

A interação tratamento x tempo de amostragem não apresentou significância ($p>0,05$). Os diferentes tratamentos foram influenciados igualmente pelos tempos de amostragem, quando avaliada a porcentagem de ácido butírico no fluido ruminal.

Tabela 10 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido butírico ruminal.

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	15,00	11,75	11,00	11,25	10,75
2 h	13,50	11,75	12,25	13,50	10,00
4 h	12,75 ^{ab}	12,25 ^{ab}	12,25 ^{ab}	14,00 ^a	9,00 ^b
6 h	14,25	13,00	13,00	13,25	9,75
8 h	13,50	11,25	12,50	13,75	10,00
24 h	11,25	9,75	12,00	12,00	10,25
média	13,37 ^a	11,62 ^{ab}	12,17 ^a	12,96 ^a	9,96 ^b

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

A maior produção de ácido butírico apresentada pelo tratamento I e as maiores porcentagens apresentadas pelos tratamentos I, III e IV, quando comparadas com o tratamento V, podem estar relacionadas com a influência destas dietas sobre a população de protozoários presentes no rúmen. Os protozoários têm importante função na manutenção do ambiente ruminal,

especialmente moderando a acidose através do engolfamento de grãos de amido. No entanto, dietas com altos níveis de amido podem causar lise de protozoários, reduzindo drasticamente sua população. A ausência de protozoários ciliados têm sido relacionada com um possível aumento na proporção de propionato enquanto as proporções de butirato e acetato podem declinar. Assim, a redução na população de protozoários é provavelmente um fator promotor de depressão da gordura do leite (VAN SOEST, 1994; ORSKOV & RYLE, 1990).

Figura 6 - Efeito das rações experimentais sobre a porcentagem de ácido butírico ruminal nos diferentes tempos de amostragem.

A polpa de citrus, incluída em maior proporção no tratamento I, parece não ter afetado a população de protozoários, promovendo um padrão de fermentação favorável a produção de gordura no leite. A influência benéfica de ácidos graxos não glucogênicos (ácido acético e ácido butírico) sobre a produção e composição do leite é relatada por DIJKSTRA (1994) e discutida no presente trabalho no subtítulo referente a relação acetato/propionato. Salientam-se os resultados obtidos quando a polpa de citrus foi associada com o milho, superiores aos apresentados quando o milho foi incluído isoladamente, sugerindo o efeito positivo da polpa sobre a produção de butirato.

4.1.4. Ácidos graxos voláteis totais

Não foram observados efeitos significativos ($p>0,05$) de tratamentos sobre a produção total de ácidos graxos voláteis (Tabela 11). No entanto, observa-se que os tratamentos I e IV foram os que apresentaram maiores valores numéricos para este parâmetro, acima de 8,3 mM/dl. Estas dietas são as que contém maior nível de concentrado onde a polpa de citrus está presente em suas composições. Esta tendência foi observada em todos os tempos de amostragem, com exceção ao tempo 24 h. Os resultados de produção de ácidos graxos voláteis total estão representados graficamente na Figura 7.

Resultados semelhantes foram encontrados por DURAND et al. (1988). Maiores produções de ácidos graxos voláteis foram observadas, em experimentação *in vitro*, quando a polpa de citrus e polpa de beterraba foram comparadas com o farelo de trigo e o farelo de glúten de milho. Os autores também salientam a alta taxa de fermentação da polpa de citrus e seu potencial de produção de biomassa microbiana.

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) da interação tratamento x tempo de amostragem. Para o parâmetro produção total de ácidos graxos

voláteis, os tempos de amostragem tiveram efeitos iguais sobre os diferentes tratamentos.

Tabela 11 - Efeito das rações experimentais sobre a produção total de ácidos graxos voláteis (mM/dl).

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	7,331	5,969	6,010	6,619	5,969
2 h	8,654	7,847	7,935	8,451	7,761
4 h	8,159	7,712	7,566	8,464	7,849
6 h	9,457	8,653	7,640	8,789	8,089
8 h	9,910	8,660	8,212	9,519	8,166
24 h	7,838	7,986	8,498	8,187	7,103
média	8,391 ^a	7,805 ^a	7,643 ^a	8,338 ^a	7,467 ^a

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^a Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Os valores superiores de ácidos graxos voláteis totais, apesar de não significativos ($p>0,05$), apresentados quando a polpa de citrus estava presente na dieta, é um indicativo de aumento da atividade microbiana ruminal. Os ácidos graxos voláteis são produzidos pela fermentação da matéria orgânica presente no rúmen (DIJKSTRA, 1994) e representam a principal fonte de energia para os ruminantes (HUNGATE, 1988). Segundo OBARA et al. (1991), suplementos baseados em cereais ou açúcares são rapidamente fermentáveis no rúmen e aumentam a produção de célula microbiana e ácidos graxos voláteis; no entanto, podem aumentar a produção de propionato e/ou butirato em relação a produção de acetato. A maior produção de ácidos graxos voláteis apresentada pelo tratamento I, com maior proporção de polpa de citrus, é

indicativo da alta disponibilidade de substrato para degradação ruminal e consequente aumento no fornecimento de energia para o animal hospedeiro. Além disso, sugere que a polpa propiciou um ambiente ruminal mais favorável a atividade microbiana. Salienta-se o resultado obtido quando a polpa foi associada ao milho, superior ao resultado quando apenas o milho foi incluído na dieta, indicando o possível efeito da polpa em estimular o processo de fermentação ruminal.

Figura 7 - Efeito das rações experimentais sobre a produção total de ácidos graxos voláteis nos diferentes tempos de amostragem.

Os resultados obtidos por HIGHFILL et al. (1987) estão de acordo com estas considerações, quando a polpa de citrus aumentou a produção ruminal de ácidos graxos voláteis total, indicando um aumento na atividade microbiana. Houve também um aumento na síntese de proteína bruta microbiana provavelmente, segundo os autores, resultado da presença do carboidrato de rápida e alta fermentação da polpa de citrus e do nitrogênio prontamente disponível da proteína solúvel da soja contida na dieta.

4.1.5 Relação acetato/propionato

Quando comparadas as médias para a relação acetato/propionato no fluido ruminal, observa-se que o tratamento II apresentou resultado estatisticamente superior ($p < 0,05$) aos observados para os tratamentos IV e V, no entanto, não diferindo dos tratamentos I e III (Tabela 12). Salienta-se que o tratamento V apresentou relação acetato/propionato inferior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos, com exceção do tratamento IV.

Observa-se que o tratamento V, que apresentou menor relação acetato/propionato, é aquele com maior proporção de milho em sua composição. No entanto, quando o milho foi associado com a polpa de citrus houve uma tendência de aumento na relação acetato propionato, sendo o resultado obtido estatisticamente igual ($p > 0,05$) aos tratamentos I e III. Os tratamentos I e II, onde a polpa de citrus substituiu parte da silagem de milho, não diferiram ($p > 0,05$) do tratamento III, com proporção mais alta de volumoso, sendo que estes tratamentos foram os que apresentaram as maiores relações acetato/propionato. Estes resultados enfatizam a tendência de alta produção de acetato e baixa produção de propionato quando a polpa de citrus está presente, comparado com dietas onde houve inclusão de milho.

Tabela 12 - Efeito das rações experimentais sobre a relação acetato/propionato ruminal.

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	3,275	3,065	3,315	2,550	2,433
2 h	2,755	3,31	3,135	2,703	2,603
4 h	2,940	3,55	2,925	3,138	2,420
6 h	3,018	3,285	3,078	2,77	2,525
8 h	2,988 ^{ab}	3,025 ^{ab}	3,615 ^a	2,643 ^{ab}	2,252 ^b
24 h	3,265	3,240	2,878	2,798	3,038
média	3,040 ^{ab}	3,247 ^a	3,158 ^{ab}	2,767 ^{bc}	2,59 ^c

¹ Tempo de amostragem após a alimentação.

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Para os diferentes tempos de amostragem, a relação acetato/propionato segue tendência semelhante ao observado para as médias dos tratamentos. Para o tempo de amostragem 0 h, o tratamento III apresentou tendência ($p<0,1$) de maior relação acetato/propionato que o tratamento V. No tempo de amostragem 8 h o tratamento III apresentou maior ($p<0,05$) relação acetato/propionato que o tratamento V e tendência ($p<0,1$) de resultado superior ao tratamento IV. As demais diferenças não foram estatisticamente significativas ($p>0,05$). A Figura 8 representa graficamente as relações acetato/propionato obtidas para cada tratamento.

Não houve efeito significativo da interação tratamento x tempo de amostragem sobre a relação acetato/propionato. Os tempos de amostragem tiveram efeitos iguais sobre os diferentes tratamentos.

Resultados semelhantes têm sido relatados, mostrando que a polpa de citrus promoveu maiores relações acetato/propionato quando substituiu a silagem de milho (SCHAIBLY & WING, 1974) e o milho (HENTGES

et al., 1966; LOGGINS et al., 1964; PINZÓN & WING, 1976). Maior relação acetato/propionato também foi observada quando os efeitos da polpa de citrus foram comparados com a cevada (BEN-GHEDALIA et al., 1989).

Figura 8 - Efeito das rações experimentais sobre a relação acetato/propionato ruminal.

Segundo DIJKSTRA (1994), existe uma justificativa para a associação frequente entre a composição e a produção de leite e a relação entre AGV's não glucogênicos (principalmente ácido acético e butírico) e AGV

glucogênicos (ácido propiônico). Thomas & Martin, citados por DIJKSTRA (1994), afirmam a partir de estudos de infusão com gado leiteiro, que o aumento no suprimento de ácido acético aumentou a produção de leite e o conteúdo de gordura do leite. O aumento no suprimento de ácido butírico também apresentou efeitos positivos no conteúdo de gordura do leite. No entanto, o suprimento de ácido propiônico causou efeitos negativos no conteúdo de gordura, mas efeitos positivos no conteúdo protéico do leite. Segundo os autores, estes resultados seriam explicados pela natureza glucogênica ou cetogênica dos ácidos graxos voláteis. Os resultados de VISSER et al. (1990) estão de acordo com estas afirmativas. Os autores relacionaram maior produção de precursores glucogênicos, a partir de um concentrado à base de milho, com teores mais baixos de gordura no leite, quando comparado com um concentrado à base de cevada.

TAMMINGA & VAN VUUREN (1988) também comentam a importância das proporções que os nutrientes cetogênicos, aminogênicos e glucogênicos estão disponíveis para a produção de leite. Salientam que o excesso ou a deficiência de algum destes nutrientes influenciará a partição de nutrientes entre os tecidos corporais e a glândula mamária ou influenciará a composição do leite. Segundo ORSKOV & RYLE (1990), a rápida produção e absorção de ácido propiônico aumenta a produção de insulina, estimulando a captação de nutrientes do sangue para síntese de tecidos. Em animais em lactação isto pode privar a glândula mamária de um aporte satisfatório de nutrientes, levando a uma diminuição da gordura do leite e eventual redução na produção.

4.2 pH ruminal

Quando comparadas as médias dos tratamentos, observa-se que não houve efeito significativo ($p > 0,05$) de tratamentos sobre o pH ruminal

(Tabela 13). Salienta-se que o tratamento V, apesar de não apresentar diferenças significativas ($p>0,05$) para os demais, foi o que ocasionou valores de pH abaixo de 6,0 por um período maior, observado nos tempos de amostragem 4, 6 e 8 h. Os tratamentos I e IV apresentaram valores abaixo de 6,0 apenas nos tempos de amostragem 6 e 8 h.

Tabela 13 - Efeito das rações experimentais sobre pH ruminal.

Tempo ¹	Tratamento				
	I	II	III	IV	V
0 h	6,663	7,010	6,988	6,605	6,910
2 h	6,183	6,515	6,470	6,238	6,375
4 h	6,213	6,300	6,285	6,098	5,985
6 h	5,950	6,310	6,105	5,897	5,883
8 h	5,890 ^{ab}	6,272 ^a	6,230 ^a	5,645 ^b	5,893 ^{ab}
24 h	6,535	6,858	6,955	6,825	6,843
média	6,239 ^a	6,544 ^a	6,505 ^a	6,218 ^a	6,315 ^a

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^{a,b} Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$)

Quando comparadas as médias dentro dos tempos de amostragem, observa-se para o tempo de 2 h uma tendência significativa ($p<0,1$) de maior valor de pH para o tratamento II, quando comparado com o tratamento I. No tempo de amostragem 8 horas os tratamentos II e III apresentaram valores de pH no fluido ruminal superiores ($p<0,05$) aos observados para o tratamento IV. Nos demais tempos de amostragem os tratamentos II e III também apresentaram tendência de pH superior aos demais; no entanto, as diferenças não são estatisticamente significativas ($p>0,05$). Salienta-se que os tratamentos II e III são os que possuem menores proporções

de concentrados em suas composições, sendo que a polpa de citrus está presente na composição do tratamento II. Os resultados de pH do fluido ruminal estão representados graficamente na Figura 9.

Não houve efeito significativo ($p < 0.05$) para a interação tempo de amostragem x tratamento para pH ruminal. Os tratamentos foram influenciados de maneira igual pelos diferentes tempos de amostragem.

Figura 9 - Efeito das rações experimentais sobre pH ruminal nos diferentes tempos de amostragem.

Os dados de literatura sobre pH de fluido ruminal observado para dietas contendo polpa de citrus são conflitantes. PINZÓN & WING (1974) observaram que a polpa de citrus diminuiu o pH ruminal quando substituiu o milho da dieta de carneiros em até 55% da composição da dieta. Quando a polpa de citrus substituiu a silagem de milho da dieta de carneiros em até 100%, SHAILBY & WING (1974) também observaram redução de pH do fluido ruminal. No entanto, nesses dois trabalhos, os valores de pH foram superiores a 6,5, mesmo quando a polpa de citrus foi incluída em maior proporção da dieta.

BEN-GHEDALIA et al. (1989), trabalhando com carneiros, estudaram os efeitos de dietas ricas em pectina, fornecida através da polpa de citrus, e amido, fornecido através de cevada, encontraram valores médios de 6,42 e 6,18 de pH ruminal para as dietas ricas em polpa de citrus e cevada, respectivamente. Salientam que enquanto a glucose foi o componente mais fermentável na dieta com cevada, os resíduos de ácido péctico urônico compreendem a maioria dos carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta rica em polpa de citrus.

Segundo MALESTEIN et al. (1984), concentrados com alta proporção de carboidratos rapidamente fermentáveis aumentam o risco de disfunções ruminais e acidose por produção de ácido láctico, decorrente de uma diminuição do pH e um aumento da concentração de ácido láctico no líquido ruminal. CULLEN et al. (1986) relatam que a polpa de citrus apresentou um maior potencial para produção de ácido láctico que a polpa de beterraba, milho e sorgo em grão, sendo menos problemática que a cevada e o trigo.

4.3 Degradação “*in situ*” da matéria seca de amostra de feno de padrão forrageiro

Foi estimada, a partir do modelo proposto por McDONALD (1981), a degradação efetiva da matéria seca de amostra de feno de padrão forrageiro,

considerando-se uma taxa de passagem de 5%/h. Os resultados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Degradação efetiva (%), considerando taxa de passagem de 5%/h, da matéria seca de amostra de feno de padrão forrageiro.

	Trat I	Trat II	Trat III	Trat IV	Trat V
Degradação efetiva (%)	38,2	40,3	40,8	36,6	40,2

Considerando a degradação efetiva da MS da amostra de feno padrão, observa-se que os tratamentos apresentaram valores sem variações que possam ser consideradas expressivas. No entanto, por ser a amostra de feno um material com alto teor de fibra, era esperado que as dietas com polpa de citrus ou com maior proporção de silagem apresentassem resultados superiores de degradação efetiva da MS. Esta expectativa justifica-se pelos padrões de fermentação característicos de ambientes favoráveis a ação de organismos que degradam componentes da parede celular, em especial as produções de acetato e propionato, associados a estas dietas experimentais, relatados anteriormente.

Os valores de pH associados aos tratamentos também sugerem que diferenças expressivas de degradação efetiva da MS deveriam existir entre os tratamentos. Apesar de ter havido diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre os tratamentos III e IV no tempo de amostragem 8h, o tratamento V apresentou valores de pH abaixo de 6,0 nos tempos 4, 6 e 8h e os tratamentos I e IV nos tempos de amostragem 6 e 8h. Os tratamentos II e III apresentaram em todos os tempos de amostragem valores de pH superiores a 6,0. Segundo VAN SOEST (1994), a atividade celulolítica é reduzida em pH menores que 6,0.

Devem-se considerar as afirmações de HOOVER (1985), que baseado em vários autores, relata que os efeitos negativos de carboidratos fermentáveis sobre a digestão da fibra baseiam-se em algumas teorias, entre elas: a preferência dos microorganismos ruminais pelos carboidratos prontamente fermentáveis em detrimento dos componentes da fibra; a diminuição no pH ruminal causada por uma rápida fermentação destes carboidratos, inibindo a degradação da fibra e competição por nutrientes essenciais, resultando preferencialmente em uma proliferação de microorganismos digerindo carboidratos prontamente fermentáveis.

O alto conteúdo de alimentos concentrados em todas as dietas experimentais pode justificar a ausência de diferenças expressivas nos valores de degradação efetiva da MS. As proporções de volumosos variaram entre 50% (tratamento III), 40% (tratamento II) e 28,4% (tratamentos I, IV e V).

4.4 Amônia ruminal e nitrogênio uréico sanguíneo

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) de tratamentos sobre os níveis de amônia no fluido ruminal. Os resultados estão dispostos na Tabela 15. A Figura 10 representa graficamente os resultados obtidos para cada tempo de amostragem.

Não foi observada interação significativa ($p>0,05$) entre tratamento x tempo de amostragem para níveis de amônia no fluido ruminal. Os diferentes tempos de amostragem tiveram efeitos iguais sobre os tratamentos.

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) de tratamento sobre o nível de uréia sanguínea. Os resultados estão relacionados na Tabela 16.

A interação tratamento x tempo de amostragem não apresentou significância estatística ($p>0,05$). Os diferentes tempos de amostragem tiveram efeito igual sobre os tratamentos.

Tabela 15 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de amônia ruminal (mg/dl).

Tempo	Tratamentos				
	I	II	III	IV	V
0 h	8,145	4,740	7,928	8,510	9,105
2 h	19,208	19,685	19,895	24,070	19,913
4 h	11,505	13,430	15,640	14,605	13,858
6 h	8,283	13,228	12,180	13,330	8,278
8 h	7,872	9,728	11,093	12,070	6,898
24 h	9,070	6,160	7,907	9,082	9,125
média	10,680 ^a	11,162 ^a	12,440 ^a	13,590 ^a	11,201 ^a

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^a Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 16 - Efeito das rações experimentais sobre os níveis de uréia sanguínea (mg/dl)

Tempo ¹	Tratamentos				
	I	II	III	IV	V
2 h	15,570	14,215	16,703	15,033	15,040
4 h	14,572	15,900	16,873	15,207	17,258
média	15,071	15,058	16,788	15,120	16,49

¹ Tempo de amostragem, em horas, após a alimentação.

^A Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

PINZÓN & WING (1976) comentam que, segundo o conceito que altas concentrações de amônia ruminal resultam em maior absorção líquida de nitrogênio, conversão em uréia e consequente perda via urinária, dietas que

contenham níveis adequados de nitrogênio e resultem em baixo nitrogênio uréico no sangue proporcionam maior retenção deste elemento. Os resultados apresentados para concentrações de amônia ruminal e uréia sanguínea no presente trabalho sugerem que os tratamentos promoveram aproveitamento igual do nitrogênio da dieta.

Figura 10 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de amônia ruminal (mg/dl) nos diferentes tempos de amostragem.

5 CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que pode-se utilizar a polpa de citrus em substituição ao volumoso da dieta, dentro dos níveis estudados neste trabalho, ocasionando alterações desejáveis no padrão de fermentação ruminal de animais destinados a produção de leite.

Aparentemente o uso da polpa de citrus estimulou a atividade microbiana ruminal e, conseqüentemente, a produção de ácidos graxos voláteis total. Assim, é possível que a polpa tenha propiciado um aumento na disponibilidade de energia para o animal hospedeiro à partir da fermentação ruminal.

A inclusão do milho em substituição ao volumoso, nas condições deste estudo, foi suficiente para ocasionar alterações nem sempre desejáveis no padrão de fermentação ruminal, especialmente para vacas leiteiras. A inclusão do milho deve objetivar o incremento do conteúdo energético da dieta, porém, sem o intuito de mantenedor de condições ruminais características da presença de alimentos volumosos.

Os resultados também sugerem que a associação da polpa de citrus com o milho constitui uma alternativa para minimizar os efeitos indesejáveis de altos níveis de alimentos concentrados na dieta sobre o padrão de fermentação ruminal.

O universo deste estudo é limitado. Outros trabalhos, inclusive estudos econômicos e análises de resultados de produção e composição do leite, são necessários para uma determinação mais precisa dos efeitos do uso destes alimentos para vacas leiteiras.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMMERMAN, C. B.; HENDRICKSON, R.; HALL, G. M.; EASLEY, J. F. & LOGGINS, P. E. The nutritive value of various fractions of citrus pulp and the effect of drying temperature on the nutritive value of citrus pulp. In: **PROCEEDINGS OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY**, Miami, november 2-5, v. 78, 1965, p.307-311.
- AMMERMAN, C. B.; EASLEY, J. F.; ARRINGTON, L. R. & MARTIN, F. G. Factors affecting the physical and nutrient composition of dried citrus pulp. In: **PROCEEDINGS OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY**, Miami, october 24-27, v.79, 1966, p.233-238.
- AMMERMAN, C. B.; MARTIN, F.G. & ARRINGTON, L.R. Nutrient and mineral composition of citrus pulp as related to production source. In: **PROCEEDINGS OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY**, Miami, november 5-8, v. 81, 1968, p.301-306.
- AMMERMAN, C. B.; HANSEN, D. A.; MARTIN, F. G. & ARRINGTON L. R. Nutrient composition of dried citrus pulp as influenced by season of production and production source. In: **PROCEEDINGS OF THE FLORIDA STATE HORTICULTURAL SOCIETY**, Miami, v.89, 1976, p.168-170.

- AMMERMAN, C. B. & HENRY, P. R. Citrus and vegetable products for ruminant animals. In: **PROCEEDINGS, ALTERNATIVE FEEDS FOR DAIRY AND BEEF CATTLE**, St. Louis, MO, 1991, p.103-110.
- A.O.A.C. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis. 12.ed., Washington, D. C., 1975.
- ASHBELL, G. Bio conservation of citrus peels by ensiling for ruminant feed. In: **VI SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL**, Campinas, 1994, p.133-142.
- ASHBELL, G.; LISKER, N. Chemical and microbiological changes occurring in orange peels and in the seepage during ensiling. **Biological Wastes**, v.21, p.213-220, 1987.
- BAIRD, D. M.; ALLISON, J. R.; HEATON, E. K. The energy value for and influence of citrus pulp in finishing diets for swine. **Journal of Animal Science**. V.38, p.545-553, 1974.
- BELYEA, R. L.; STEVENS, B. J.; RESTREPO, R. J.; CLUBB, A. P. Variation in composition of by-product feeds. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.2339-2345, 1989.
- BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J.; EST, Y. The effects of starch- and pectin- rich diets on quantitative aspects of digestion on sheeps. **Animal Feed Science and Technology**, v.24, p.289-298, 1989.
- BHATTACHARYA, A. N. & HARB, M. Dried citrus pulp as a grain replacement for awasi lambs. **Journal of Animal Science**. v.36, p.1175-1180, 1973.

- CERVERA, C.; FERNANDES-CARMONA, J.; MARTI, J. Effect of urea on the ensiling process of orange pulp. **Animal Feed Science and Technology**, v.12, p.233-238, 1985.
- CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Journal of Clinical Chemistry**, v.8, p.130-132, 1962.
- CHESSON, A.; FORSBERG, C. W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: P.N. HOBSON (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**, London: Elsevier Applied Science, 1988, cap.8, p.251-284.
- CULLEN, A. J.; HARMON, D. L.; NAGARAJA, T. J. In vitro fermentation of sugars, and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2616-2621, 1986.
- DEAVILLE, E. R.; MOSS, A. R. & GIVENS, D. I. The nutritive value and chemical composition of energy-rich by-products for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, p.261-276, 1994.
- DIJKSTRA, J. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. **Livestock Production Science**, v.39, p.61-69, 1994.
- DRUDE, R. E.; ESCANO, J. R.; RUSOFF, L. L. Value of complete feeds containing combinations of corn silage, alfalfa pellets, citrus pulp, and cottonseed hulls for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.54, p. 773, 1971.
- DURAND, M.; DUMAY, C.; BEAUMATIN, P.; MOREL, M. T. Use of the rumen simulation technique (RUSITEC) to compare microbial digestion of various

by-products. **Animal Feed Science and Technology**, v.21, p.197-204, 1988.

ERWIN, W. S.; MARCO, G. J.; MERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, p.1768-1771, 1961.

FEGEROS, K.; ZERVAS, G.; STAMOULI, S.; APOSTOLAKI, E. Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. **Journal of Dairy Science**. v.78, p.1116-1121, 1995.

GUESSOUS, F.; RIHANI, N.; KABBALI, A.; JOHNSON, W. L. Improving feeding systems for sheep in a Mediterranean rain-fed cereals/livestock area of Marroco. **Journal of Animal Science**. v.67, p.3080-3086, 1989.

HARMS, R. H.; SIMPSON, C. F.; WALDROUP P. W.; AMMERMAN, C. B. Citrus pulp for poultry litter and its subsequent feeding value for ruminants. **Florida Agricultural Experimental Station**, Bulletin 724, 1968, 12p.

HARRIS, B, Jr. & STAPLES, C. R. Using citrus pulp in dairy cattle rations. **Dairy Science Department, University of Florida**, Gainesville, FL 32611-0920, 1992

HENTGES, J. F. Jr.; MORE, J. E.; PALMER, A. Z.; CARPENTER, J. W. Replacement value of dried citrus meal for corn meal in beef cattle diets. **Florida Agricultural Experimental Station**, Bulletin 708, 1966, 22p.

HIGHFILL, B. D.; BOGS, D. L., AMOS, H. E.; CRICKMAN J. G. Effects of high fiber energy supplements on fermentation characteristics and in vivo and in

situ digestibilities of low quality fescue hay. **Journal of Animal Science**, v.65, p.224-234, 1987.

HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2755-2766, 1986.

HUNGATE, R. E. Introduction: the ruminant and the rumen. In: P.N. HOBSON (Ed.) **The Rumen Microbial Ecosystem**, London: Elsevier Applied Science, 1988, cap.1, p.1-19.

LOGGINS, P. E.; AMMERMAN, C. B.; ARRINGTON, L. R.; MOORE, J. E.; SIMPSON C. F. Pelleted rations high in citrus by-products and corn for fattening lambs. **Journal of Animal Science**, v.23, p.305, 1964.

LOGGINS, P. E.; AMMERMAN, C. B.; MOORE, J. E.; SIMPSON, C. F. Effect of feeding long hay or sodium bicarbonate with ground or pelleted diets high in citrus pulp on lamb performance. **Journal of Animal Science**, v.27, p.745, 1968.

LUCCI, C. S.; VELLOSO, L.; MASOTTI, N.; RENNÓ, F. P.; BECKER, M. Polpa seca de laranja versus milho desintegrado, em misturas concentradas para vacas em lactação. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. V.12, p.163-168, 1975.

MALENSTEIN, A.; VAN'T KLOOSTER, A. Th.; PRINS, R. A.; COUNOTTE, G. H. M. Concentrate feeding and ruminal fermentation. 3. Influence of concentrate ingredients on pH, on DL-lactic acid concentration in rumen fluid of dairy cows and on dry matter intake. **Netherlands Journal of Agricultural Science**. v.32, p.9-21, 1984.

MARTINEZ PASCUAL, J.; FERNANDEZ CARMONA, J. Citrus pulp in diets for fattening lambs. **Animal Feed Science and Technology**. v.5, p.11-22, 1980a.

MARTINEZ PASCUAL, J.; FERNANDEZ CARMONA, J. Citrus pulp in diets for fattening rabbits. **Animal Feed Science and Technology**. v.5, p.23-31, 1980b.

MARTINEZ PASCUAL, J.; FERNANDEZ CARMONA, J. Composition of citrus pulp. **Animal Feed Science and Technology**. v.5, p.1-10, 1980c.

MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R. A study of the artificial fibre bag technique to determine the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.88, p.645-650, 1977.

McDONALD, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agricultural Science Cambridge**, v.96, p251-252, 1981.

MIRON, J.; BEN-GHEDALIA, D. Monosaccharide digestibility by dairy cows fed diets high in concentrates and containing alfalfa silages. **Journal of Dairy Science**. v.77, p.3624-3630, 1994.

NOCEK, J. E. AND TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3598-3629, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**, 6.ed. Washington D.C.: National Academy Press, 1989, 157p.

- OBARA, Y.; DELLOW. D. W.; NOLAN, J. V. The influence of energy-rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 7th, Sendai, Japan, 1989. **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. California: Academic Press, Inc., 1991.
- ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1624-1633, 1986.
- ORSKOV, E. R. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. **Livestock Production Science**. v.39, p.53-60, 1994.
- ORSKOV, E. R.; RYLE, M. **Energy nutrition in ruminants**. Elsevier Applied Science, 1990, 149p.
- OTT, E. A.; FEASTER, J. B. & LIEB, S. Acceptability and digestibility of dried citrus pulp by horses. **Journal of Animal Science**, v.49, p.983-987, 1979.
- PINZON, F. J. & WING, J. M. Effects of citrus pulp in high urea rations for steers. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.1100-1103, 1976.
- RIHANI, N.; GARRET, W. N.; ZINN, R. A. Effect of source of supplemental nitrogen on the utilization of citrus pulp-based diets by sheep. **Journal of Animal Science**. v.71, p.2310-2321, 1993.
- S.A.S. **Statistical Analysis System**, S.A.S. Users Guide : Statistics. Ed Cary, NC, 1986.

- SCHAIBLY, G. E. & WING, J.M. Effects of roughage concentrate ratio on digestibility and rumen fermentation of corn silage-citrus pulp rations. **Journal of Animal Science**, v.38, p.697-701, 1974.
- STERN, M. D.; ZIEMER, C. J. Consider value, cost when selecting nonforage fibre. **Feedstuffs**, january, 11, 1993, p.14-17.
- STROBEL, H. J. & RUSSEL, J. B. Effect on pH and energy spilling on bacterial protein syntesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2941-2947, 1986.
- SUTTON, J. D.; BINES, J. A.; MORANTI, S. V. & NAPPER, D. J. A comparison of starchy and fibrous concentrates for milk production, energy utilization and hay intake by Friesian cows. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.375-386, 1987.
- TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A. M.; Formation and utilization of end products of lignocellulose degradation in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.21, p.141-159, 1988.
- TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A. M.; VAN DER KOELEN, C. J.; KETELAAR, R. S. & VAN DER TOGT, P. L. Ruminal behaviour of structural carbohydrates, non-structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.38, p.513-526, 1990.
- VALK, H; KLEIN POELHUIS, H. W. & WENTINK, H. J. Effect of fibrous and starchy carbohydrates in concentrates as supplements in a herbage-based diet for high-yielding dairy cows. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.38, p.475-486, 1990.

VAN HORN, H. S.; MARSHALL, S. P.; WILCOX, J. C.; RANDEL, P. F. & WING, J. M. Complete rations for dairy cattle. III. Evaluation of protein percent and quality and citrus pulp-corn substitutions. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1101-1108, 1975.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Cornell University Press, 1994, 476p.

VIJCHULATA, P.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; POTTER, S. G.; BECKER, H. N. & PALMER, A. Z. Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. **Journal of Animal Science**, v.50, p.1022-1030, 1980.

VISSER, H. de; VAN DER TOGT, P. L. AND TAMMINGA, S. Structural and non-structural carbohydrates in concentrate supplements of silage-based dairy cow rations. 1. Feed intake and milk production. **Netherlands Journal of Agricultural Science**. v.38, p.487-498, 1990.

WELCH, J. G. & SMITH, A. M. Effect of beet pulp and citrus pulp on rumination activity. **Journal of Animal Science**, v.33, p.472-475, 1971.

WING, J. M. Effect of physical form and amount of citrus pulp on utilization of complete feeds for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.63-66, 1975.

WING, J. M. Citrus feedstuffs for dairy cattle. **Florida Agricultural Experimental Station**, Bulletin 829, 1982, 25p.

ZUCKER, H. The utilization of wastes in domestic animal rearing. **Animal Research and Development**. v.7, p.131-142, 1978.