

COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA MATÉRIA SECA E PARÂMETROS FERMENTATIVOS DE RAÇÕES COM NÍVEIS CRESCENTES DE CONCENTRADO

LUIZ JULIANO VALÉRIO GERON¹, RAQUEL JOANA TRAUTAMM-MACHADO²,
JOCILAINE GARCIA³, RODRIGO PACHECO⁴, MATHEUS GONÇALVES RIBEIRO⁴,
SANDRA APARECIDA TAVARES⁵, MARIA ISABEL DA SILVA⁶, RENATO LIMA CRISTO⁶,
EDIMAR BARBOSA DE OLIVEIRA⁶

Recebido em 13.08.2013 e aceito em 03.06.2014.

¹Doutor em Zootecnia, Professor do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Rod. Br 174, cx. Postal 181, CEP:78250-000, Pontes e Lacerda, e-mail: ljgeron@unemat.br; ²Mestre em Ciências Agro-Ambientais, Professora do DZO/UNEMAT, e-mail: Raquel_trautmann@hotmail.com; ³Doutora em Zootecnia, professora do DZO/UNEMAT, e-mail: Jo@unemat.br; ⁴Bachareis em Zootecnia, UNEMAT, e-mail: Matheus.ribeiro@zootecnista.com.br; ⁵Doutora em Zootecnia, professora do Instituto Federal, e-mail: sandratavzoo@yahoo.com.br; ⁶Acadêmicos de Zootecnia/UNEMAT, bolsista de Iniciação Científica (IC), e-mail: mariaisabelmt@hotmail.com

RESUMO: Avaliou-se o coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS) e os parâmetros da fermentação *in vitro* (pH e nitrogênio amoniacal) de rações para ruminantes com níveis crescentes de concentrado (20%; 40%; 60% e 80% na MS) de acordo com a técnica de 24 horas de fermentação. As variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância e regressão a 5% de probabilidade. Os níveis de concentrado nas rações não alteraram ($P>0,05$) o CDIV da MS e o valor de pH do conteúdo fermentado. Os níveis de concentrado nas rações alteraram de maneira quadrática ($P<0,05$) a concentração do N-NH₃ do conteúdo fermentado. Conclui-se que até 80% de concentrado nas rações de ruminantes não altera o coeficiente de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e o valor de pH do conteúdo fermentado e o nível de 37% de concentrado propicia a maior concentração de nitrogênio amoniacal na fermentação *in vitro*.

Palavras-chave: fermentação, nitrogênio amoniacal, pH.

DIGESTIBILITY COEFFICIENT IN VITRO OF THE DRY MATTER AND PARAMETERS OF THE FERMENTATION OF DIETS WITH INCREASING LEVELS OF CONCENTRATE

ABSTRACT: It was evaluated the digestibility coefficient the *in vitro* (DCIV) of dry matter (DM) and fermentation parameters *in vitro* (pH and ammonia nitrogen) of diets to ruminants with increasing of concentrate levels (20%, 40%, 60% and 80% DM) by technique of 24 hours incubation. The variables were subjected to analysis of variance and regression at 5% of probability. The Concentrate levels in the diet did not affect ($P>0.05$) DCIV the DM and pH value of the fermented content. The concentrate levels in rations changed of quadratic form ($P<0.05$) the concentration of N-NH₃ of the content fermented. It was concluded that up to 80% of concentrate in the rations of the ruminant does not alter the digestibility coefficient *in vitro* of dry matter and the value pH of the fermented contents and the level of 37% concentrate provides the highest concentration of ammonia nitrogen *in vitro* fermentation.

Key words: fermentation, ammonia nitrogen, pH.

INTRODUÇÃO

A avaliação do valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos animais é um desafio constante para os profissionais na área

de nutrição animal (Alves et al., 2003). De acordo com Cardoso et al. (2000), o principal objetivo é ajustar a quantidade e qualidade da dieta baseando-se nas exigências dos animais. Uma forma de se avaliar a qualidade do alimento é através da determinação de sua digestibilidade.

Segundo Van Soest (1994), a digestão pode ser definida como um processo de conversão de macromoléculas contida nos nutrientes dos alimentos em compostos mais simples, que podem ser absorvidos a partir do trato gastrointestinal. Assim, a digestibilidade serve para qualificar o quanto dos alimentos pode ser aproveitado pelo animal e quantificar o seu valor nutritivo, o qual é expresso pelo coeficiente de digestibilidade, que indica a quantidade percentual de cada nutriente do alimento que o animal tem condição de assimilar.

Atualmente, existem várias técnicas laboratoriais para a avaliação da digestibilidade de alimentos destinadas a animais ruminantes, sendo utilizadas principalmente para estimar o seu valor nutritivo. Dentre essas pode-se destacar a técnica de digestibilidade *in vitro* (método de um estágio segundo Smith et al., 2010), por ser uma técnica simples, de baixo custo e com alta confiabilidade, sendo assim de grande importância para a nutrição animal.

Além das qualidades citadas, esta técnica de digestibilidade *in vitro* pode ser proposta como uma ferramenta para prever o desempenho dos ruminantes em geral, pois isso implica em uma grande importância econômica, podendo ser utilizada por uma ampla quantidade de espécies vegetais ou cultivares de plantas forrageiras, além de grãos de cereais e suplementos (Marchesin, 2010).

Segundo Van Soest (1994), os mamíferos não produzem a enzima celulase (que é necessária para quebrar ligações β 1-4 e β 1-6, que são ligações químicas exclusivas da celulose), no entanto, o rúmen fornece ambiente propício para o crescimento de bactérias, protozoários e fungos que produzem essa enzima.

Os estômagos dos ruminantes são compostos por quatro câmaras, sendo que as três primeiras (rúmen, retículo e omaso) são conhecidas como estômago anterior e possuem a função de câmara de fermentação dos alimentos ingeridos pelo animal hospedeiro pelos microrganismos e o quarto compartimento é denominado de abomaso, o qual produz secreções e enzimas. Para os pequenos ruminantes as proporções dos diferentes

compartimentos da câmara de fermentação são de 75% para o rúmen, 8% para o retículo, 4% para o omaso e de 13% para o abomaso (Dyce et al., 2004).

De modo geral, as bactérias presentes no rúmen são microrganismos que variam de 1 a 5 μ m de tamanho. Sabe-se que essa população de microrganismos é a mais diversa no rúmen, tanto em termo populacional quanto em capacidade metabólica. As bactérias ruminais têm uma densidade populacional no rúmen maior do que qualquer outro ecossistema conhecido. Normalmente são observados valores próximos de 10¹⁰ células g⁻¹ de conteúdo ruminal (Stewart & Bryant, 1997 e Prado et al., 2010).

Para manter uma população microbiana ruminal ativa deve-se levar em consideração algumas características ruminais que são mantidas pelo próprio hospedeiro ou que devem ser mantidas no ambiente artificial para a utilização da técnica *in vitro*, tendo como principais características a manutenção do pH, temperatura, anaerobiose, umidade ideais ao crescimento microbiano e substrato para fermentação (Valadares Filho & Pina, 2011).

Segundo Maeda et al. (2007) e Maeda et al. (2011) por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* relataram que pH do líquido ruminal abaixo de 6,0 podem inibir as bactérias fermentadoras de celulose e diminuir de forma significativa a eficiência de síntese de proteína bruta (PB), sabendo que o pH ruminal ideal é próximo de 7,0 podendo ocorrer uma variação entre 5,5 a 7,2 ao longo do dia.

A temperatura do ambiente ruminal apresenta uma oscilação de 39 e 41 °C, tendo uma média em torno de 39 °C, e essa característica auxilia na manutenção de uma população microbiana ruminal ativa (Valadares Filho & Pina, 2011).

Nos animais ruminantes os carboidratos correspondem em torno de 70 a 80% da ração, sendo considerados uma das principais fontes de energia para a síntese de proteína microbiana, formação dos constituintes do leite e para a manutenção da saúde do animal (Nussio et al., 2011). Os carboidratos podem ser divididos em estruturais e não-estruturais, de acordo com sua degradabilidade ruminal (Van Soest, 1994). Os teores de carboidratos fibrosos (estruturais) e não fibrosos (amido) nas rações de animais ruminantes apresentam flutuações conforme aumenta a quantidade de

concentrado na dieta dos animais (Geron et al., 2011; Costa et al., 2013).

A digestibilidade *in vivo* parece ser uma das técnicas mais adequadas para a avaliação dos alimentos porque fornece os resultados mais próximos dos que realmente ocorrem dentro do organismo animal e consequentemente aproxima-se mais dos resultados obtidos na aplicação prática (Geron et al., 2008 e Geron et al., 2013).

Como todas as técnicas e medidas utilizadas para experimentos, a técnica *in vivo* esbarra em alto custo e também, na necessidade de infra estrutura (gaiolas metabólicas, animais, grande quantidade de alimento, etc), e consequente mão de obra qualificada, além de ser um processo demorado e, portanto, de difícil aplicação em rotina (Berchielli et al., 2006). O mesmo autor relatou que as metodologias *in situ* e *in vitro* procuram obter resultados parecidos com a técnica acima citada, porém é uma técnica de menor custo, mais rápida e menos trabalhosa.

Redução na relação volumoso e concentrado na dieta de animais ruminantes impõe condições aos animais que implicam na modificação de seu comportamento, bem como do ambiente ruminal (Gonçalves et al., 2001; e Zeoula et al., 2011). Segundo Mertens (1997), os ruminantes requerem teor mínimo de fibra em sua dieta, para que possa oferecer estímulo para a ruminação, onde o bolo alimentar sofre a ruminação e estimula a liberação de saliva, que apresenta ação tamponante no rúmen, necessária para manutenção do pH ruminal próximo de 7,0. Assim, torna-se necessário a utilização de saliva artificial para o desenvolvimento da técnica *in vitro* de digestibilidade dos alimentos, bem como nível adequado de nitrogênio para não alterar a fermentação microbiana (Maeda et al., 2011; Zeoula et al. 2011), e simular de maneira adequada o ambiente ruminal.

Devido aos avanços das leis de bem estar animal e campanhas contrárias a utilização de animais em experimentos, a técnica *in vitro* vem sendo uma das técnicas que ganha espaço na avaliação da digestibilidade dos alimentos (Givens & Gill, 1998; Prado et al., 2010).

O método de digestibilidade *in vitro* consiste em deixar as amostras (alimentos) em contato com o líquido ruminal em recipientes fechados em banho-maria por cerca de 24 a 48 horas (Geron et al., 2013), visando repetir o que ocorre *in vivo*, tentando-se com este método reproduzir as condições predominante do rúmen-

retículo (presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura, poder tampão, e pH), isso no interior de um tubo de ensaio (Silva & Queiroz, 2002; e Smith et al., 2010).

Salman et al. (2010) realizaram revisão sobre os estudos com o método *in vitro* para a produção de gás e relataram que apesar de conseguir demonstrar a ocorrência de resultados associativos em algumas amostras essa técnica ainda requer maiores estudos.

Desta maneira objetivou-se com este trabalho avaliar o coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS) e parâmetros de fermentação (pH e concentração de nitrogênio amoniacal) do conteúdo fermentado *in vitro* de rações com níveis crescentes de concentrado (20%; 40%; 60% e 80% na MS) por meio da técnica de um estágio de fermentação (24 horas de incubação *in vitro*).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Metabolismo Animal (SeMA) e no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LAANA), pertencentes ao *Campus* Universitário de Pontes e Lacerda da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT.

Os alimentos utilizados para a confecção das rações experimentais com níveis crescentes de concentrado foram a silagem de milho, grão de milho moído e farelo de soja. As rações apresentaram os seguintes níveis de 20%; 40%; 60% e 80% de concentrado.

Foram realizadas três repetições de campo, ou seja, baterias de fermentação, onde em cada bateria foram colocados três tubos de cada ração experimental (20%; 40%, 60% e 80% de concentrado) totalizando 12 amostras (tubos) por bateria (repetição de campo) para o desenvolvimento do método de digestibilidade *in vitro*.

A composição bromatológica dos alimentos utilizados no ensaio de digestão *in vitro* está demonstrada na Tabela 1.

Foram utilizados no experimento dois cordeiros sem raça definida (SRD), não castrados, mantidos em gaiola de metabolismo, com peso corporal médio de $25,5 \pm 2,0$ kg, como doadores de inóculo (bactérias ruminais), as coletas de líquido

ruminal foram realizadas por meio de sonda esofágica e bomba de vácuo conforme Zeoula et al. (2003).

As rações experimentais utilizadas no ensaio de digestão *in vitro* foram balanceadas para apresentar 12,8% de proteína bruta (isoprotéica – NRC, 2007) e o valor de nutrientes digestíveis totais foi linear crescente conforme ocorreu a inclusão do concentrado nas rações

experimentais (Tabela 2).

A ração fornecida aos cordeiros doadores de inóculo foi denominada de ração basal, a qual foi utilizada 70% de volumoso (silagem de milho) e 30% de concentrado. A composição percentual e bromatológica da ração basal fornecida aos cordeiros doadores de inóculo estão demonstradas na Tabela 3.

Tabela 1. Composição bromatológica dos alimentos utilizados na formulação das diferentes rações experimentais com níveis crescentes de concentrado avaliadas no processo de determinação do coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS).

Alimentos	% de nutrientes expressos na MS						
	% MS	MO	PB	EE	FDN	FDA	NDT
SM	24,26	93,24	7,30	2,25	57,43	38,48	63,13
GM	89,98	98,45	9,10	4,20	15,57	5,88	86,44
FS	88,62	92,71	50,00	1,16	14,44	10,41	88,73

SM: silagem de milho; GM: grão de milho moído; FS: farelo de soja; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido e NDT: nutrientes digestíveis totais.

Tabela 2. Composição percentual e bromatológica das rações experimentais avaliadas para a obtenção do coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS).

Alimentos	Níveis crescentes de concentrado nas rações experimentais			
	20%	40%	60%	80%
Silagem de milho	80,0	60,0	40,0	20,0
Grão de milho moído	8,0	28,5	49,0	69,5
Farelo de soja	12,0	11,5	11,0	10,5
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Composição bromatológica das rações experimentais avaliada na digestão in vitro</i>				
Matéria seca (MS)	37,24	50,39	63,54	76,69
Materia orgânica (MO) %	93,59	94,66	95,73	96,81
Proteína bruta (PB) %	12,57	12,72	12,88	13,03
Extrato etéreo (EE) %	2,28	2,68	3,09	3,49
Fibra em detergente neutro (FDN) %	48,92	40,56	32,19	23,82
Fibra em detergente neutro (FDA) %	32,50	25,96	19,42	12,88
Nutrientes digestíveis totais (NDT) ¹ %	68,07	72,72	77,37	82,02

Tabela 3. Composição percentual e bromatológica da ração basal utilizada na alimentação dos cordeiros doadores de inóculo.

Alimentos	Ração basal
	<i>Composição percentual da ração basal utilizada na alimentação dos cordeiros doadores de inóculo</i>
SM	70,0
GM	18,0
FS	12,0
Total	100

Alimentos	<i>Composição bromatológica da ração basal utilizada na alimentação dos cordeiros doadores de inóculo</i>					
	% de nutrientes na MS da ração basal					
	% MS	MO	PB	EE	FDN	FDA
SM	16,98	65,26	5,11	1,57	40,20	26,94
GM	16,19	17,72	1,63	0,76	2,80	1,06
FS	10,63	11,12	6	0,14	1,73	1,25
Total na ração basal	43,81	94,11	12,75	2,47	44,74	29,24

SM: silagem de milho, MG: grão de milho moído; FS: farelo de soja; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro e FDA: Fibra em detergente ácido.

O consumo da ração basal dos cordeiros foi de *ad libitum* de maneira a permitir 10% de sobras e foi fornecida em duas refeições diárias, às 7 horas e às 17 horas, respectivamente. Os cordeiros foram adaptados com a ração basal durante 15 dias, para que a microbiota ruminal dos mesmos estivesse adaptada à fonte de carboidrato.

Os cordeiros tiveram acesso à água por meio de bebedouros individuais. Diariamente, foram fornecidos 10 g de mistura mineral por animal, a qual foi adicionada diretamente sobre os concentrados experimentais no momento da oferta das dietas, ou seja, duas vezes ao dia (5 g de sal refeição⁻¹ animal⁻¹).

No dia da coleta do inóculo (líquido ruminal) os cordeiros foram alimentados às 7 horas, e após duas horas do fornecimento da dieta foi realizada a coleta de líquido ruminal. Foram coletados aproximadamente 0,6 L de líquido ruminal de cada cordeiro, para formar uma mistura composta. O líquido ruminal após a coleta foi filtrado em quatro camadas de gazes e acondicionado em uma garrafa térmica contendo CO₂. Foram utilizados 0,5 L do líquido ruminal filtrado por animal para formar o inóculo que foi utilizado no processo de incubação *in vitro* das rações experimentais.

O ensaio de determinação do coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS) das rações contendo níveis crescentes de concentrado (20%, 40%, 60% e 80%) foi conduzido de acordo com a técnica de um estágio por um período de 24 horas de fermentação *in vitro*, adaptada de Smith et al. (2010).

As rações foram analisadas com três repetições de campo (baterias) onde cada bateria apresentou uma triplicata para cada nível de concentrado avaliado. Em cada incubação (bateria), foram adicionados três tubos brancos (sem amostras) e três tubos com forragem índice, para avaliar a interferência de efeitos durante o processo de fermentação ruminal.

A saliva artificial utilizada na determinação do CDIV da MS das rações foi preparada inicialmente com a solução tampão de McDougall (NaHCO₃, Na₂HPO₄ 7H₂O, KCl, NaCl, MgSO₄ 7H₂O, CaCl₂) e mais duas soluções, sendo uma de uréia (5,5 g 100 mL⁻¹ de H₂O destilada) e outra de glicose (5,5 g 100 mL⁻¹ H₂O destilada). No dia anterior à incubação *in vitro*, foram adicionados a cada 300 mL da solução de McDougall, 5 mL da solução tampão de uréia e 5 mL da solução tampão de glicose, permanecendo

em uma estufa a 39°C até a sua utilização. Antes da utilização da saliva artificial procedeu-se a mensuração do valor de pH da mesma e com a adição de CO₂ o pH da saliva artificial foi estabilizado próximo de 6,8 a 7,0.

Nos tubos foram adicionados 0,5 g das rações experimentais (20%; 40%; 60% e 80% de concentrado), e no momento da incubação foram adicionados 37,5 mL de solução de saliva artificial de McDougall (McDougall, 1948) e 12,5 mL de inóculo (líquido ruminal) segundo Smith et al. (2010). Em seguida foi acrescentado CO₂ sobre a superfície dos tubos e fechados imediatamente com rolhas de borracha equipadas com válvula de Bünsen.

Após este procedimento os tubos foram alocados por um período de 24 horas no banho-maria tipo Dubnoff (digital microprocessado, com aquecedor automático, mod. Q226 M1 – Quimis®), com água a uma temperatura de 39,2 °C, com agitação constante.

Após 24 horas de incubação, a fermentação foi interrompida, colocando os tubos em recipiente contendo gelo moído durante 10 minutos. O conteúdo dos tubos foi filtrado em papel filtro quantitativo (faixa preta, com diâmetro 15 cm para filtração rápida para precipitados grossos e gelatinosos) e o conteúdo fermentado *in vitro* retido nos filtros foi colocado em estufa a 105°C, onde permaneceram por 24 horas. Após este período os filtros foram colocados em um dessecador para posterior pesagem e o líquido que passou pelo filtro (material filtrante) foi armazenado para posterior análise do teor de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

O coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS) das rações com diferentes níveis de concentrado foi determinada pela seguinte fórmula: CDIV da MS = peso amostra (g MS) – [peso resíduo (g MS) – peso branco (g MS)] / peso amostra (g MS) X 100 (Silva & Queiroz, 2002).

Logo após a filtragem do conteúdo dos tubos foi mensurado o valor de pH do conteúdo fermentado, após 24 horas de incubação *in vitro*, utilizando-se um pHmetro digital de bancada.

Uma alíquota (20 mL) do conteúdo fermentado após a filtragem recebeu uma quantidade de 0,2 mL de ácido sulfúrico 1:1 para acidificação do meio e, conseqüentemente, cessar a fermentação.

Estas amostras foram utilizadas para determinar a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do conteúdo fermentado após 24 horas de incubação *in vitro*. As concentrações de N-NH₃ nas amostras do conteúdo fermentado (filtrado) foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio KOH 2 mol L⁻¹, conforme técnica descrita por Preston (1995).

As amostras do alimento volumoso (silagem de milho) foram secas em estufa a 55 °C por 72 horas. Após este período foram processadas em moinho de facas utilizando-se peneira de crivos de 1 mm.

Para as amostras dos alimentos avaliados e as rações experimentais foram determinados os teores de nitrogênio pelo método semi-micro Kjeldahl, usando 6,25 como fator de conversão para PB, a matéria mineral (MM) e matéria orgânica (MO) foram realizadas pelo método por incineração em mufla a 600 °C e o teor de extrato etéreo (EE) foi determinado pela extração por lavagem com éter de petróleo, segundo citações de Silva & Queiroz (2002).

A determinação da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos foi realizada de acordo com Van Soest et al. (1991), sem a utilização de sulfito e sem corrigir os valores de FDN e FDA com relação ao teor de matéria mineral da fibra.

As variáveis estudadas, CD/IV da MS, valor de pH e concentração do N-NH₃ do conteúdo fermentado após 24 horas de incubação *in vitro* das rações com níveis crescentes de concentrado foram submetidas à análise de variância por intermédio do software SAEG (UFV, 1997), considerando valor de “p” de 0,05. Quando verificada significância dos níveis de concentrados sobre as variáveis estudadas, procedeu-se análise de regressão, considerando os efeitos linear e quadrático, sendo a escolha do modelo realizada a partir dos valores de “p” e “r²”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes níveis de concentrado nas rações experimentais não alteraram (P<0,05) o CD/IV da MS. Foi observado um valor médio para o CD/IV da MS de 59,74% (Tabela 4). Verificou-se uma variação de 4,9% a mais para a ração contendo 40% de concentrado sobre o valor do CD/IV da MS (62,77%) em relação à ração com 20% de concentrado (57,87%). Este dados corroboram com Santos et al. (2012), os quais avaliaram os mesmos níveis de concentrado do presente estudo na alimentação de cordeiros e

observaram que não houve (P>0,05) diferença no valor do coeficiente de digestibilidade total (CDT) da MS (58,41%) para os diferentes níveis de concentrado. Os mesmos autores observaram uma variação de 5,8% a mais no CDT da MS para os cordeiros alimentados com o nível de 40% de concentrado em relação aos alimentados com 20% de concentrado.

Os valores observados para o CD/IV da MS para as rações com diferentes níveis de concentrado podem ter sido influenciados pelo tempo de incubação (24 horas). Além disso, o valor de pH do conteúdo fermentado (Figura 1) durante o processo de incubação *in vitro* ficou acima da faixa ideal 6,2 a 6,8 recomendada para a máxima eficiência fermentativa, o que pode ter interferido na digestão da MS das diferentes rações avaliadas (Maeda et al., 2007 e Maeda et al., 2011). De acordo com Smith et al. (1972) e Zeoula et al. (2011), no rúmen a atividade máxima de organismos celulolíticos ocorreria em um pH variando de 6,0 e 6,8 e estes mesmos valores deverão ser considerados para a fermentação *in vitro*.

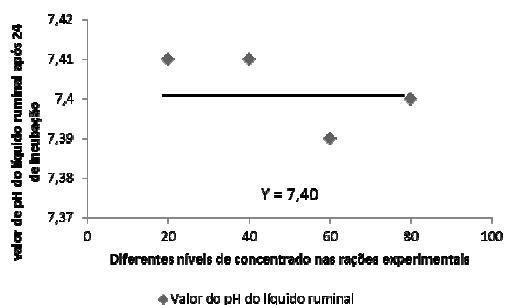


Figura 1. Valor de pH do material fermentado após 24 horas de incubação *in vitro* das rações com diferentes níveis de concentrado.

O valor médio observado para o pH do conteúdo fermentado após 24 horas de incubação *in vitro* para as rações com os diferentes níveis de concentrado foi de 7,40. Estudo *in vivo* conduzido por Silva et al. (2012) com os mesmos níveis de concentrados fornecidos na alimentação de cordeiros demonstrou um valor mínimo médio estimado para o pH do líquido ruminal de 6,64 duas horas após a alimentação e o valor médio observado de 6,80. Desta maneira, no estudo *in vivo* sobre os parâmetros ruminiais demonstrou um valor menor de pH do líquido

ruminal em relação ao estudo *in vitro*. Este fato pode ser devido à dinâmica de absorção de ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal no rúmen, o que não ocorre nos estudos *in vitro*.

Outro fator que pode ter interferido nos valores de CDIV da MS para as rações com os diferentes níveis de concentrado está relacionado ao valor de nitrogênio amoniacal do conteúdo fermentado. Os microrganismos do rúmen degradam as fontes protéicas, produzindo o nitrogênio amoniacal (N-NH₃), que é utilizado para incorporação e crescimento. O crescimento da flora e fauna ruminal, por sua vez, tem o papel fundamental na degradação da matéria seca e demais nutrientes, sendo maior à medida que ocorre maior concentração de microrganismos no rúmen (Zeoula et al., 2003 e Zeoula et al., 2011).

Os diferentes níveis de concentrado nas rações experimentais alteraram (P<0,05) de maneira quadrática a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do conteúdo fermentado após a incubação *in vitro* por 24 horas (Tabela 4). O comportamento quadrático e o ponto de máxima concentração do N-NH₃ do conteúdo fermentado *in vitro* para as diferentes rações experimentais após 24 horas de incubação podem ser observados na Figura 2.

concentração média do N-NH₃ do conteúdo fermentado após 24 horas de incubação *in vitro* manteve-se abaixo da concentração obtida por Satter & Roffler (1975) e Geron et al., (2008) de 5 mg 100 mL⁻¹ de líquido ruminal, para que a mesma não limitasse o crescimento microbiano.

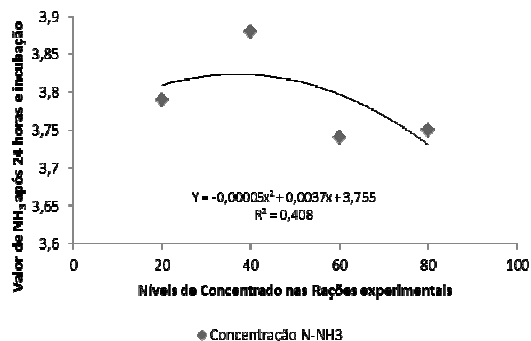


Figura 2. Valor da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do conteúdo fermentado em função das rações com diferentes níveis de concentrado após 24 horas de incubação *in vitro*.

Tabela 4. Valores de coeficiente de digestibilidade *in vitro* (CDIV) da matéria seca (MS) e valor de pH e concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) mg 100 mL⁻¹ do conteúdo fermentado após 24 horas de incubação *in vitro* de rações contendo níveis crescentes de concentrado.

Variável	Níveis de concentrado nas rações experimentais				Regressão	%CV
	20%	40%	60%	80%		
CDIV da MS (%)	59,98	62,77	59,29	58,79	$\bar{Y} = 59,74$	7,34
pH	7,41	7,41	7,39	7,40	$\bar{Y} = 7,40$	4,00
N-NH ₃ mg 100 mL ⁻¹	3,79	3,88	3,74	3,75	¹	5,11

¹Y = 3,755 + 0,0037X - 0,00005X² (r² = 40,80%)

O ponto de máximo para a concentração de N-NH₃ obtido pela equação demonstrada na Figura 2, foi de 3,82 mg de N-NH₃ 100 mL⁻¹ de conteúdo fermentado estimado para o nível de 37% de concentrado.

Verificou-se que os valores médios para a concentração do N-NH₃ do conteúdo fermentado após a incubação *in vitro* de 24 horas (3,79 mg 100 mL⁻¹ de conteúdo fermentado) das rações experimentais mantiveram-se abaixo da faixa proposta por Mehrez & Orskov (1977) e Geron et al. (2006), os quais afirmaram que a máxima atividade fermentativa ruminal é obtida quando o N-NH₃ alcança valores entre 19 e 23 mg 100 mL⁻¹ de líquido ruminal. Da mesma maneira, a

Estudo realizado por Silva et al. (2012), em cordeiros alimentados com 20%; 40%; 60% e 80% de concentrado, demonstrou valor médio de N-NH₃ do líquido ruminal de 17,61 mg 100 mL⁻¹ para os tempo de 0, 2; 4; 6 e 8 horas após a alimentação da manhã. Esta diferença observada entre os estudos *in vivo* e *in vitro*, pode ser devida ao fato que o sistema *in vitro* ser fechado e conseqüentemente a saturação do ambiente possa interferir na atividade microbiana.

CONCLUSÃO

Conclui-se que até o nível de 80% de concentrado nas rações balanceadas para ruminantes constituídas de silagem de milho, grão de milho moído e farelo de soja não altera o coeficiente de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e o valor de pH do conteúdo fermentado *in vitro* após 24 horas de incubação. O nível de 37% de concentrado nas rações de ruminantes propicia maior concentração de nitrogênio amoniacal no conteúdo fermentado após 24 de incubação *in vitro*.

Novos estudos avaliando os valores de pH e concentração do nitrogênio amoniacal do conteúdo fermentado *in vitro* obtidos após 24 horas de incubação devem ser realizados para melhor compreensão destas variáveis em relação aos estudos *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.K.; CARVALHO, F.F.R.; VÉRAS, A. S.C. FERREIRA, M.A.; COSTA, R.G.; SANTOS, E.P.; FREITAS, C.R.G.; SANTOS JUNIOR, C.M. Níveis de energia em dietas para ovinos santa inês: digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p.1962-1968. 2003.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583 p.
- CARDOSO, R.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DASILVA, J.F.; PAULINO, M.F.; VALADARES, F.D.; CECON, P.R.; COSTA, M.A.L.; OLIVEIRA, R.V. Consumo e digestibilidade aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin X Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.1832-1843, 2000.
- COSTA, F.G.; GERON, L.J.V.; SILVA, M.I.L.; CRISTO, R.L.; OLIVEIRA, E.B.; RIBEIRO, C.A.; TRAUTMANN-MACHADO, R.J.; SOUZA, O.M. Avaliação do balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 23., 2013, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013, CD-Rom.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 668p.
- GERON, L.J.V. PACHECO, R.; RIBEIRO, M.G.; TRAUTMANN-MACHADO, R.J.; TAVARES, S.A.; OLIVEIRA, E.B.; CRISTO, R.L.; SILVA, M.I.L. Coeficiente de digestibilidade *in vitro* da material seca de rações com níveis crescentes de concentrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 23, 2013. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013, CD-Rom.
- GERON, L.J.V.; ZEOULA, L.M.; ERKEL, J.A.; PRADO, I.N.; JONKER, R.C.; GUIMARÃES, K.C. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.9, p.1685-1695, 2008.
- GERON, L.J.V. ZEOULA, L.M.; PAULA, E.J.H.; RUPPIN, R.F.; RODRIGUES, D.N.; MOURA, D.C. Inclusão do caroço de algodão em rações de alto concentrado constituído de co-produtos agroindustriais sobre o desempenho animal em tourinhos confinados. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.16, n.3, p.14-24, 2011.
- GERON, L.J.V.; ZEOULA, L.M.; VIDOTTI, R.M.; GUIMARÃES, K.C.; KAZAMA, R.; OLIVEIRA, F.C.L. Digestibilidade e parâmetros ruminais de rações contendo silagens de resíduo da filetagem de tilápia. **Acta Scientiarum. Animal Science**, Maringá, v.28, n.4, p.437-445, 2006.
- GIVENS, D. I; GILL, M. Current and future potential of alternative techniques. **British Society of Animal Science**. Lothian, v.22, p. 161-171, 1998.
- GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; RODRIGUES, M.T.; VIEIRA, R.A.M.; QUEIROZ, A.C.; HENRIQUE, D.S. Padrão Nictemeral do pH Ruminal e Comportamento Alimentar de Cabras Leiteiras Alimentadas com Dietas Contendo Diferentes Relações Volumoso: Concentrado1. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.30, n.6, p.1886-1892, 2001.
- MARCHESIN, W.A. **Estudo da produção de gases pela digestibilidade *in vitro* do capim-marandu [*Brachiaria brizantha***

(Hochst ex A. RICH) STAPFJ, submetido a intensidades de pastejo. 2010. 60F. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade de São Paulo, Departamento de Qualidade e Produtividade Animal, São Paulo.

MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; GERON, L.J.V.; BEST, J.; PRADO, I.N.; MARTINS, E.N.; KAZAMA, R. Digestibilidade e características ruminais de dietas com diferentes níveis de concentrado para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.3, p.716-726, 2007.

MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; JOBIM, C.C.; BERTAGLIA, F.; JONKER, R.C.; GERON, L.J.V.; HENRIQUE, D.S. Chemical composition, fermentation, *in vitro* digestibility and *in situ* degradability of sugar cane silages with lactobacillus, urea and agricultural byproduct. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.40, n.12, p.2866-2877, 2011.

McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, Nashville, v.43, n.1, p.99-109, 1948.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R.I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, Shannon, v.38, n.3, p.437-443, 1977.

MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.80. n.5. p1463-1481. 1997.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids**. 1.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 384p.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: In: BERCHIELLI.T.T.; PIRES.A.V.; OLIVEIRA de.S.G. (Eds). **Nutrição de ruminantes** 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011, 193-234p.

PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; PONTARA, L.P.M.; FRANCO, S.L.; NOVELLO, R.C.; GERON, L.J.V. Adição de própolis ou monensina sódica sobre a digestibilidade *in vitro* da material

seca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.11, n.4, p.1023-1032, 2010.

PRESTON, T.R. Biological and chemical analytical methods. In: PRESTON, T.R. (Ed.) **Tropical animal feeding: a manual for research workers**. Rome: FAO, p.191- 64, 1995.

SALMAN, A.K.D.; FERREIRA, A.C.D.; SOARES, J.P.G.; SOUZA, J.P.S. **Metodologia para avaliação de ruminantes**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2010. 21p.

SANTOS, R.H.E.; FERREIRA, E.S.; ROCCHA, J.O.F.G.; SANTANA, D.M.; GARCIA, J. MORAES, K.B. GOMES, R.S.; GERON, L.J.V. Digestibilidade total dos nutrientes em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado na região sudoeste de Mato Grosso. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 22, 2012. **Anais...** Cuiabá. Universidade Federal de Mato Grosso, 2012, CD-Rom.

SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Relationship between ruminal ammonia and nonprotein nitrogen utilization by ruminants. 1. Development of a model for predicting nonprotein nitrogen utilization by cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.58, n.12, p.1880-1888, 1975.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ed. Viçosa Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SILVA, M.I.L.; SANTOS, R.H.E.; GERON, L.J.V.; ROCHA, J.O.F.G.; FERREIRA, E.S.; GRELA, H.F.; SANTANA, D.M.; OLIVEIRA, E.M. Parâmetros ruminais de cordeiros alimentados com rações contendo diferentes teores de concentrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 22, 2012. Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2012, CD-Rom.

SMITH, L.W.; GOERING, M.K.; GORDON, C.H. Relationship of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.55, n.8, p.1140-1148, 1972.

SMITH, D. R., DILORENZO, N., LEIBOVICH, J.; QUINN, M.J.; HOMM, J.W.; GALYEAN, M.L. Effects of sulfur and monensin concentrations on in vitro dry matter disappearance, hydrogen sulfide production, and volatile fatty acid concentrations in batch culture ruminal fermentations. **Journal of Animal Science**. Champaign, 88, 1503–1512, 2010.

STEWART, C.S.; BRYANT, M.P. The rumen bacteria. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Blackie Academic, v.2, 1997. p.10-72.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética)** Viçosa: Universidade Estadual de Viçosa, 1997.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In. BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de ruminantes** 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011, 616 p. 161-189.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 1994, 476 p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.74, n.12, p.3583-3597, 1991.

ZEOULA, L.M.; CALDAS NETO, S.F.; GERON, L.J.V.; MAEDA, E.M. PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. Substituição do milho pela farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) em rações de ovinos: consumo, digestibilidade, balanços de nitrogênio e energia e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.2, p.491-502, 2003.

ZEOULA, L.M.; BELEZE, J.R.F.; MAEDA, E.M.; SIMIONI, F.L.; GERON, L.J.V.; RIGOLON, L.P. Levedura ou monensina na dieta de bovinos e bubalinos sobre a fermentação ruminal e eficiência microbiana. **Acta Scientiarum. Animal Science**, Maringá, v.33, n.4, p.379-386, 2011.

★★★★★