

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA

LEILIANE CRISTINE DE SOUZA

**VALOR NUTRICIONAL DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA *IN NATURA*
CONSERVADO SOB CONDIÇÕES AERÓBIAS OU ANAERÓBIAS**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA

LEILIANE CRISTINE DE SOUZA

**VALOR NUTRICIONAL DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA *IN NATURA*
CONSERVADO SOB CONDIÇÕES AERÓBIAS OU ANAERÓBIAS**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Área de Concentração: Nutrição e Alimentação Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maximiliane Alavarse Zambom
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia Barcellos Costa

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2010

Aos meus pais, Antônio Julio de Souza e Leila Maria da Silveira e Souza, por estarem sempre ao meu lado apoiando, incentivando e depositando confiança, pelo carinho e amor, por serem perseverantes, companheiros, batalhadores e exemplos de honestidade, dignidade e humildade.

Aos irmãos, Leandra, Alessandro e Alexandre, pelo amor, amizade, companheirismo e por estarem presentes em todos os instantes.

A eles dedico, por serem motivo do meu viver, como sinal do amor, carinho e cumplicidade que nos une.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos alcançadas em mais uma jornada e por permitir que eu desfrute com grande felicidade a companhia da família e amigos.

À família pelo carinho, amor e confiança depositada para a concretização de mais um objetivo, sonho mútuo, obrigada pela força e apoio nos momentos difíceis em que voltar correndo para casa me parecia uma solução acertada, porém infundada.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, como entidade difusora do conhecimento científico, por possibilitar a realização deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Maximiliane Alavarse Zambom, pela orientação e dedicação dispensada à realização desse trabalho.

À Prof^a Dr^a Marcela Abbado Neres, Prof^a Dr^a Magali Soares dos Santos Pozza, Prof^a Dr^a Patrícia Costa Barcellos e ao Prof^o Dr^o Paulo Sérgio Rabello de Oliveira pelas contribuições e colaborações no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UNIOESTE que participaram desta jornada, meus sinceros agradecimentos.

Ao Paulo Henrique Morsch, secretário do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UNIOESTE, pela dedicação, responsabilidade e disponibilidade em todos os instantes.

Aos funcionários da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa da UNIOESTE, pela colaboração nos trabalhos.

À Ana Cláudia Radis (Aninha), Raphael Pagliarini (Rafa) e Vinícius Radis Pagliarini (Vini), família que pude escolher por força do destino ou das circunstâncias, obrigada pelos momentos compartilhados.

Aninha, obrigada por ser uma amiga tão especial e principalmente paciente, obrigada por estar presente em um momento delicado, sempre apoiando, discutindo e divagando altas horas da madrugada.

Ao Rafa, “quem disse que seria fácil”, obrigada por todos os instantes compartilhados.

Vini, razão de crença em dias melhores e mais felizes, obrigada por ter chegado à minha vida e iluminado meus dias.

Aos amigos André Krapp, Anésio Moraes, Kely Melchiotti, Kenia Frasson, Liliane Cristina Dalla Valle, Natália Tsuzuki, Pricila Baldessar, Renata Cavalcante, Taiane Golfetto Machinsky e Vaneila Daniele Lenhardt Savaris, que mesmo distantes estiveram presentes compartilhando as alegrias e vitórias.

A todos os amigos e colegas que participaram no desenvolvimento deste trabalho ou compartilhando a fase “mestrado”, momento este único e inigualável. Andressa de Andrade, Deise Dalazen Castagnara, Eduardo Luiz Heinzen (Dudu), Fábio Luiz Trento, Fernando Henrique Souza (Nego), Fernando Sales, Karine Zachow, Keli Adriana Vidarenko da Rosa, Leonardo F. Bordignon (Seco), Liliane Borsatti, Maikel Possamai, Marisa Maria Pletsch Schneider Vivian, Mayara Andressa Sabedot, Michele Pasqualoto, Priscilla Barros, Raimundo Rafael Parzianello, Simoni Gundt, Stefanie Scottini (Ste), Thiago Reisdorfer, Wagner Mozer, obrigada pela atenção e carinho dedicados em todos os instantes.

Ao Eduardo Fernando Weimann, eterno respeito e gratidão.

“Se és capaz de manter a calma quando,
Todo o mundo ao teu redor já a perdeu e te culpa,
De crer em ti quando estão todos duvidando,
E para esses, no entanto achar uma desculpa,
Se és capaz de esperar sem te desesperares,
Ou, enganado, não mentir ao mentiroso,
Ou, sendo odiado, sempre ao ódio te esquivares,
E não parecer bom demais, nem pretensioso,

Se és capaz de pensar – sem que a isso só te atires,
De sonhar – sem fazer dos sonhos teus senhores,
Se encontrando a desgraça e o triunfo conseguires,
Tratar da mesma forma a esses dois impostores,
Se és capaz de sofrer a dor de ver mudadas,
Em armadilhas as verdades que disseste,
E as coisas, por que deste a vida, estraçalhadas,
E refazê-las com o bem pouco que te reste,

Se és capaz de arriscar numa única parada,
Tudo quanto ganhaste em toda a tua vida,
E perder e, ao perder, sem nunca dizer nada,
Resignado, tornar ao ponto de partida,
De forçar coração, nervos, músculos, tudo,
A dar seja o que for que neles ainda existe,
E a persistir assim quando, exaustos, contudo,
Resta a vontade em ti que ainda ordena: “Persiste!”

Se és capaz de, entre a plebe, não te corromperes,
E, entre reis, não perder a naturalidade,
E de amigos, quer bons, quer maus, te defenderes,
Se a todos podes ser de alguma utilidade,
E se és capaz de dar, segundo por segundo,
Ao minuto fatal todo o valor e brilho,
Tua é a terra com tudo o que existe no mundo,
E - o que ainda é muito mais - és um homem, meu filho!”

(Rudyard Kipling)

RESUMO

Os elevados custos com a alimentação dos ruminantes é um dos fatores limitantes para o aumento da produtividade, impulsionando a busca por fontes alternativas de alimentos a fim de minimizar os custos de produção. O resíduo úmido de cervejaria (RUC) merece destaque neste cenário, pois apresenta elevada qualidade nutricional e grande potencial para a produção animal. O RUC é resultante do processamento inicial da fabricação de cervejas. As limitações encontradas para o uso efetivo do RUC na alimentação animal estão relacionadas principalmente com o armazenamento e elevada umidade do material, dificultando o transporte e a conservação. A ensilagem do RUC apresenta-se como uma alternativa eficiente no processo de conservação do material, atentando-se para a qualidade do material após o processo de fermentação anaeróbia. A avaliação da qualidade nutricional do RUC é de fundamental importância para se obter uma eficiência nas dietas, otimizar o desempenho produtivo e reduzir custos. O objetivo do presente estudo foi avaliar métodos de conservação aeróbios e anaeróbios do resíduo úmido de cervejaria, realizando análises microbiológicas e avaliar a qualidade fermentativa da silagem, a composição química, bem como a digestibilidade *in vitro* e a degradabilidade *in situ* do resíduo úmido de cervejaria *in natura* e ensilado. A conservação do resíduo úmido de cervejaria acondicionado sob condições aeróbias não foi adequada devido ao pronunciado desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras, entretanto o armazenamento sob condições anaeróbias demonstrou ser um eficiente processo de conservação. A ensilagem do resíduo úmido de cervejaria (RUC) preservou qualidade nutricional do material. A avaliação da composição química, digestibilidade *in vitro* e degradabilidade *in situ* do RUC *in natura* e ensilado demonstraram que o material pode ser caracterizado como alimento volumoso com potencial de uso na alimentação de ruminantes.

Palavras-chave: caracterização química, degradabilidade, digestibilidade, microbiologia, silagem

ABSTRACT

NUTRITIONAL VALUE OF BREWERY'S WASTE *IN NATURA* STORED UNDER AEROBIC OR ANAEROBIC CONDITIONS

The high cost of feed for ruminants is a limiting factor for increasing productivity, boosting the search for alternative sources of food in order to minimize production costs. The brewery's waste (BW) deserves prominence in this situation, because it has high nutritional quality and great potential for livestock production. The BW is the result of the initial processing of the manufacture of beers, however the limitations to effective use of the RUC in animal feed are mainly related with storage and high humidity of the material, hindering the transport and storage. The ensiling of the BW is presented as an efficient alternative in the preservation of the material, paying attention to the quality of the material after the process of anaerobic fermentation. The nutritional evaluation of the BW is of fundamental importance for achieving efficiency in the diets, optimize productive performance and reduce costs. The aim of this study was to evaluate methods of conservation aerobic and anaerobic of brewery's waste, performing microbiological testing and evaluating the quality of silage fermentation, chemical composition, as well the digestibility *in vitro* and degradability *in situ* brewery's waste *in natura* and ensiled. The conservation of the brewery's waste packaged under aerobic conditions was not appropriate because the strong development of filamentous fungi and yeasts; however the storage under anaerobic conditions proved to be an efficient conservation process. The ensilage brewery's waste preserved nutritional quality of the material. The evaluation of chemical composition, *in vitro* digestibility and *in situ* degradability of *in natura* and ensiled BW showed that the material can be characterized as roughage feed with potential use in ruminant feed.

Key-words: characterization chemical, digestibility, degradability, microbiology, silage

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), temperatura (T°C), pH e desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras (log/g de resíduo) observados no resíduo úmido de cervejaria.	32
Tabela 2. Médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), temperatura (T°C), pH e desenvolvimento de fungos filamentosos, leveduras e bactéria ácido-lática (BAL) (log/g de resíduo) observados no resíduo úmido de cervejaria <i>in natura</i> e nas silagens de resíduo úmido de cervejaria.	34
Tabela 3. Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose e lignina, pH, T°C, capacidade tampão (CT) e perdas de matéria seca (PMS) do resíduo de cervejaria úmido <i>in natura</i> e nas silagens de resíduo úmido de cervejaria.....	50
Tabela 4. Parâmetros de degradação do resíduo úmido <i>in natura</i> (RUCIN) e da silagem de RUC pré seca ao sol (SilRUCSS), silagem de RUC com drenagem (SilRUCCD) e silagem de RUC sem drenagem (SilRUCSD).....	54
Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS) e da parede celular (DIVPC) do resíduo úmido de cervejaria <i>in natura</i> (RUCIN) e da silagem do resíduo úmido de cervejaria pré seco ao sol (SilRUCSS), silagem de RUC com drenagem de efluentes (SilRUCCD), silagem de RUC sem drenagem de efluentes (SilRUCSD).	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Resíduo Úmido de Cervejaria	12
1.2 Métodos de Conservação do RUC.....	13
1.3 Silagem de Resíduo Úmido de Cervejaria	13
1.4 Desenvolvimento de Microrganismos	15
1.5 Fatores Envolvidos na Qualidade Fermentativa da Silagem.....	16
1.6 Degradabilidade <i>in situ</i> do Resíduo Úmido de Cervejaria.....	18
1.7 Digestibilidade <i>in vitro</i> do Resíduo Úmido de Cervejaria	21
1.8 Referências.....	22
2 DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS DURANTE A CONSERVAÇÃO DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM CONDIÇÕES AERÓBIAS E ANAERÓBIAS	26
Resumo.....	26
Abstract.....	27
2.1 Introdução.....	28
2.2 Material e Métodos.....	29
2.3 Resultados e Discussão.....	32
2.4 Conclusões	37
2.5 Referências.....	37
3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, DEGRADABILIDADE <i>IN SITU</i> E DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA <i>IN NATURA</i> E ENSILADO.....	41
Resumo.....	41
Abstract.....	42
3.1 Introdução	43
3.2 Material e Métodos.....	44
3.3 Resultados e Discussão.....	49
3.4 Conclusões	59
3.5 Referências.....	59
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63

1 INTRODUÇÃO

Na região Oeste do Paraná, a bovinocultura leiteira tem grande destaque, sendo desenvolvida principalmente em pequenas propriedades e apresentando grande potencial de crescimento, entretanto, os elevados custos de produção, principalmente com a alimentação do rebanho, representam um dos fatores limitantes para o aumento da produtividade. Assim, a necessidade de produção de alimentos impulsiona a busca de fontes alternativas, objetivando reduzir os custos e maximizar a lucratividade da atividade.

Os principais alimentos utilizados para a formulação de concentrados para a alimentação animal são o milho e o farelo de soja, que apresentam elevada qualidade nutricional, mas são os ingredientes mais onerosos das rações. A soja é considerada uma “*commodity*” e seu preço é estabelecido pelo mercado internacional, portanto mesmo o mercado interno apresentando boa oferta deste produto, seu preço varia de acordo com cotações internacionais, não permitindo grandes margens para negociações. A alimentação dos animais monogástricos é constituída basicamente por milho e farelo de soja, competindo com a alimentação humana.

A incorporação de fontes alternativas de nutrientes passa a ser vantajosa na exploração animal, principalmente para ruminantes, os quais possuem capacidade de aproveitar resíduos vegetais pela ação dos microrganismos do rúmen, onde ocorre a fermentação da matéria prima bruta consumida e a síntese de nutrientes assimiláveis pelo organismo. Dentre estas fontes alternativas de nutrientes podem ser citados alguns resíduos agroindustriais como o resíduo úmido de cervejaria, polpa de citrus, caroço de algodão, resíduo de cana de açúcar, entre outros (CABRAL FILHO, 1999). Estes alimentos apresentam características nutricionais de interesse à produção de ruminantes, além de apresentar elevada e freqüente disponibilidade durante o ano.

Para as indústrias, o escoamento dos resíduos industriais representa um dos maiores problemas encontrados, corroborando para a contaminação ambiental, visto a elevada quantidade acumulada sem uma destinação adequada (SILVEIRA et al. (2002). O descarte de forma incorreta pode causar transtornos ambientais, sanitários

e econômicos. Desta forma, a utilização destes resíduos na produção animal, além de suas características positivas relacionadas à nutrição também colaboram para a diminuição da deposição de materiais no meio ambiente, minimizando os impactos ambientais.

Imaizumi (2005) destaca duas importantes vantagens no fornecimento de subprodutos para os ruminantes, a diminuição da dependência por cereais utilizados na alimentação humana e a eliminação de práticas onerosas de manejo de resíduos.

A utilização de resíduos na alimentação animal depende basicamente do conhecimento sobre sua composição bromatológica, dos seus fatores limitantes, do desempenho animal, da disponibilidade durante o ano e principalmente da segurança alimentar.

Segundo Belyea et al. (1989), a variabilidade dos componentes nutricionais é maior para subprodutos do que para alimentos convencionais, sendo consideradas significativas e podendo causar distúrbios nutricionais, se análises freqüentes não forem realizadas e as dietas não forem adequadamente balanceadas. Entretanto, são necessários maiores esclarecimentos sobre os efeitos diretos decorrentes da utilização de diferentes tipos de resíduos agroindustriais na alimentação animal, principalmente quanto à qualidade do produto final e seus derivados, considerando-se a composição química e propriedades físico-químicas.

A utilização de subprodutos que apresentem altos teores de fibra em detergente neutro (FDN) em substituição ao uso de concentrados na alimentação de ruminantes é também considerada vantajosa, pois, podem atender parte da exigência em fibra da ração total, principalmente quando a disponibilidade e/ou a qualidade da forragem limitam sua inclusão na dieta. No entanto, as diferenças na composição química, nas características físicas e taxas de digestão e passagem devem ser consideradas antes da substituição.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar métodos de conservação aeróbios e anaeróbios do resíduo úmido de cervejaria, realizando-se análises microbiológicas, bem como avaliar a qualidade fermentativa da silagem, a composição química, a digestibilidade *in vitro* e a degradabilidade *in situ* do resíduo úmido de cervejaria *in natura* e ensilado.

1.1 Resíduo Úmido de Cervejaria

Atualmente merece destaque neste cenário o uso do resíduo úmido de cervejaria (RUC), com elevada qualidade nutricional e grande potencial para a produção animal. O RUC é resultante do processamento inicial da fabricação de cervejas, sendo gerado em grande volume durante o ano todo, podendo ser obtido a baixo custo em indústrias cervejeiras.

As indústrias cervejeiras utilizam como matéria prima o malte de cevada adicionando-se uma mistura de cereais ou maltose. A fabricação do malte envolve um processo denominado de maltagem, controlando-se o umedecimento dos grãos de cevada com água e posterior germinação sob condições controladas objetivando mudanças químicas e físicas com perda mínima de energia pelo processo de respiração (CABRAL FILHO, 1999).

A mistura do malte moído com água e a adição de seus complementos é um processo conhecido como mosturação, que objetiva promover a liquefação e posterior hidrólise do amido e açúcares, obtendo-se 65% de extração de sólidos totais do malte e de 80% a 90% quando se utiliza misturas de cereais como o arroz e o milho. Posteriormente, os grãos são desidratados por aquecimento (50°C a 80°C), interrompendo a atividade enzimática e separando-os em três frações: malte, gérmen e raiz de malte. O grão maltado é então prensado e embebido em água para formar o mosto de cerveja como produto final, a parte sólida é separada e constitui o RUC (CABRAL FILHO, 1999).

Desta forma, o RUC compõe-se de glumas de malte prensado e compostos que não solubilizaram no processamento da cerveja, quantidades variáveis de amido, pentosanas e proteínas que não coagularam durante o processamento, além de raízes de malte em quantidades variadas (PEREIRA et al., 1999). Clark et al. (1987) descreve o RUC como uma massa resultante da aglutinação da casca com resíduos do processo de mosturação, podendo apresentar maiores concentrações de proteínas e carboidratos do que as encontradas em seus cereais de origem.

Segundo Fischer (1996), para cada 100 Kg de malte de cevada utilizado na fabricação de cerveja, é obtido de 110 a 120 Kg de RUC. Brochier e Carvalho (2009) avaliando a geração de resíduo em uma indústria cervejeira observaram que a quantidade de resíduo gerado foi 32,02% superior à quantidade de cevada utilizada como matéria prima inicial para produção de cerveja, para cada 100 Kg de matéria

prima utilizada, foi gerado 132,02 Kg de resíduo, demonstrando um grande potencial gerador de resíduo das indústrias cervejeiras.

1.2 Métodos de Conservação do RUC

As principais limitações encontradas para o uso efetivo do RUC na alimentação animal estão relacionadas principalmente com a elevada umidade do material, dificultando o transporte, bem como o seu armazenamento e a sua conservação nas propriedades rurais.

Um dos métodos utilizados para a conservação do material seria a desidratação, entretanto, as elevadas temperaturas empregadas no processo de secagem ocasionam decréscimo na proteína do resíduo de cervejaria desidratado em comparação à forma úmida (ARMENTANO et al., 1986; GOERING; WALDO, 1974; PEREIRA et al., 1999), além de ser um processo que pode elevar custos.

O baixo teor de matéria seca e a armazenagem em condições aeróbias, comumente utilizado em propriedades rurais, propiciam o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, diminuindo a qualidade do produto e promovendo riscos a saúde dos animais quando ocorre a produção de toxinas por fungos e bactérias, por exemplo, as do gênero *Clostridium*.

1.3 Silagem de Resíduo Úmido de Cervejaria

A ensilagem (fermentação anaeróbia) do RUC apresenta-se como uma alternativa eficiente no processo de conservação do material. A fermentação pelas bactérias anaeróbias produz ácidos orgânicos, os quais promovem a queda do pH, preservando a qualidade do material ensilado, entretanto, é necessário conhecer a qualidade do resíduo após o processo de fermentação (GERON, 2007).

A ensilagem além de garantir a fermentação láctica inibe o crescimento de microrganismos tais como clostrídeos, enterobactérias, leveduras e fungos filamentosos. No entanto, a ensilagem de materiais com elevado teor de umidade pode propiciar o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, como as bactérias do gênero *Clostridium* que normalmente se desenvolvem em pH 7,0 e em

materiais com excesso de umidade; mas podem se desenvolver em pH 4,0 produzindo fermentações secundárias indesejáveis e a formação de ácido butírico caracterizando silagens de baixa qualidade, devido à ocorrência da degradação de proteína e de ácido lático (McDONALD et al., 1991).

No processo de fermentação ocorre a conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos pela ação dos microrganismos inerentes da matéria prima, os quais ao encontrar condições adequadas prevalecem no meio. Inicialmente a fase aeróbia, considerada o primeiro estágio do processo, promove a perda de matéria seca e de nutrientes, entretanto, proporciona um ambiente anaeróbio favorecendo a produção de algumas toxinas que ajudam a estender a estabilidade aeróbia da silagem durante a posterior utilização (WOOLFORD, 1984).

Nessa fase os carboidratos solúveis são convertidos em CO₂ e água nas células, com liberação de calor; em condições ideais de tamanho de partículas, compactação e umidade a atividade aeróbia poderá durar poucas horas sendo o oxigênio, contido na massa ensilada, rapidamente consumido após o fechamento do silo (McDONALD et al., 1991).

A desvantagem de uma fase aeróbia prolongada é a excessiva perda de matéria seca e temperaturas elevadas no interior do silo com aumento nos produtos de Maillard e queda na qualidade da silagem. No entanto, estas reações não afetam a qualidade da silagem quando a temperatura no interior do silo for inferior a 38°C, quando for superior a este valor poderá reduzir a digestibilidade da silagem (MUCK, 1996), uma vez que se podem constatar aumentos consideráveis nos teores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido, indisponível para os microrganismos do rúmen (VAN SOEST, 1994).

O oxigênio é quase todo consumido durante a fase inicial aeróbia e posteriormente inicia-se a segunda fase, a fermentação. Esta depende, principalmente, do teor de carboidratos solúveis, da capacidade tampão (CT) e do teor de umidade do material, situando-se normalmente entre 10 e 14 dias (VAN SOEST, 1994). Nesta fase ocorre a proliferação de bactérias anaeróbias facultativas (enterobactérias) seguidas pelas bactérias lácticas heterofermentativas, que fermentam glicose, frutose, ribose e xilose, produzindo etanol, ácido acético, ácido lático e CO₂. A produção desses ácidos, principalmente de ácido lático reduz o pH (abaixo de 5,0) criando um ambiente favorável para as bactérias homofermentativas consideradas mais eficientes, cujo produto principal é o ácido lático, levando a

redução mais rápida do pH (HRISTOV e MCALLISTER, 2002). No final desta fase, quando o pH situar-se entre 3,8 e 4,2, a população de bactérias é inibida pela acidez e os processos de produção de ácidos são interrompidos iniciando-se a fase de estabilidade da silagem.

O momento exato em que as bactérias homofermentativas, produtoras de ácido lático, tornam-se predominantes é muito variável, dependendo da microbiota epifítica, da quantidade de carboidratos solúveis e do teor de matéria seca do material. Se o desenvolvimento destas bactérias ocorrerem rapidamente, mais acentuada será a queda do pH e conseqüentemente mais rápida a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis, como as enterobactérias, leveduras e fungos filamentosos.

As enterobactérias competem com as bactérias produtoras de ácido lático quanto ao substrato, de modo geral não degradam as proteínas, mas são capazes de produzir elevada quantidade de acetato, além de deaminar e descarboxilar aminoácidos, a deaminação aumenta o percentual de amônia, porém não resulta em perdas de matéria seca, entretanto a descarboxilação promove perdas de matéria seca pela liberação de CO₂ e produz aminas que podem prejudicar a ingestão da silagem (RUIZ, 1992).

1.4 Desenvolvimento de Microrganismos

Em forragens conservadas pode ocorrer a contaminação por diversas espécies de fungos, dependendo do material utilizado para ensilagem e do processamento a que este material foi submetido. Os fungos filamentosos e as leveduras são os principais microrganismos responsáveis pela degradação do resíduo em condições de aerobiose (ALLEN, 1975).

Os fungos têm importante papel na deterioração das silagens, estando, este fato está mais relacionado à ação fúngica do que à composição química da silagem (WOOLFORD et al., 1984). Estes microrganismos são heterotróficos, se desenvolvem em matéria orgânica em geral, produzem enzimas digestivas que digerem a matéria orgânica, causando a deterioração do substrato, desta forma, alterando a qualidade do material. Os fungos filamentosos podem não ser significativos durante a fermentação, no entanto, quando presentes, podem

promover perdas na superfície dos silos (RODRIGUES et al., 1997). Segundo Muck et al., (1992) algumas espécies de fungos filamentosos, como as dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* podem desenvolver-se em silagens na presença de ar, produzindo micotoxinas que oferecem riscos aos animais.

As leveduras, principais agentes responsáveis pela deterioração aeróbia das silagens (WOOLFORD, 1990), podem utilizar o ácido láctico e açúcares competindo com as bactérias ácido-láticas no início do processo fermentativo formando etanol, o qual ocasiona perdas de matéria seca e não apresenta propriedades de preservação para a silagem (ROTZ e MUCK, 1994).

O baixo pH encontrado nas silagens pode não inibir o crescimento de leveduras, pois estas sobrevivem sob limites de pH variando de 3,5 a 6,5 e algumas espécies podem sobreviver sob pH inferior a 2,0 (McDONALD et al., 1991). As medidas de pH são muito utilizadas nas determinações da qualidade do material ensilado, mas não como único valor, pois podem ser dependentes da percentagem da matéria seca e do teor de açúcar (CABRAL FILHO, 1999).

Sanderson (1993) relata que a deterioração aeróbia necessita de fatores químicos, físicos e microbiológicos. Além disso, a entrada de ar no material ensilado poderá favorecer o desenvolvimento de microrganismos aeróbios, influenciando a qualidade final da silagem (McDONALD et al., 1991). A ação direta na degradação dos açúcares e ácido láctico pelo processo de respiração, além da hidrólise e metabolização da celulose e demais constituintes da parede celular indicam a indesejável presença de fungos nas silagens, promovendo a perda de nutrientes comprometendo o valor nutricional da silagem (McDONALD et al., 1991 e MUCK et al., 1992).

1.5 Fatores Envolvidos na Qualidade Fermentativa da Silagem

Os teores de matéria seca são de extrema importância na ensilagem, pois a atividade da água poderá proporcionar fermentações secundárias indesejáveis, visto que a menor pressão osmótica favorece o desenvolvimento de bactérias do gênero *Clostridium*, enquanto o elevado teor de MS (acima de 60%) dificulta ou impede a expulsão do oxigênio pela dificuldade de compactação. O teor de MS ideal para ensilagem é estimado entre 30 e 35%, para evitar perdas pela formação de efluentes

e processos biológicos que produzam gases, água e calor, bem como proporcionar fermentação láctica adequada para a manutenção do valor nutritivo da silagem (VAN SOEST, 1994). Entretanto, estes valores de MS considerados padrões, vão ser dependentes do material ensilado.

Segundo McDonald (1991) as maiores perdas de MS em silagens são promovidas pela atuação de *Clostridium*, que tem seu crescimento estimulado por altas temperaturas na estocagem, baixos teores de MS e alta capacidade tampão.

A capacidade tampão pode ser definida como a resistência que a massa a ser ensilada apresenta ao abaixamento do pH (JOBIM et al., 2007), e representa importante função no processo de acidificação da silagem. O conhecimento da capacidade tampão é de extrema importância, pois fornece dados pertinentes à velocidade de abaixamento do pH; quando o material a ser ensilado apresenta alta capacidade tampão, a velocidade de abaixamento é lenta e as perdas serão maiores, reduzindo a qualidade da silagem. Caso a queda de pH for muito lenta os clostrídeos podem se desenvolver, provocando perdas de MS e promovendo a produção de ácido butírico, inibindo o consumo da silagem (MUCK, 1988).

Outra forma de perdas na qualidade nutricional da silagem é a produção de efluentes, influenciada pelo teor de MS do material ensilado, tipo de silo e compactação. A perda de nutrientes por efluente é um dos fatores observados por Oliveira et al. (2009) no processo de ensilagem de forrageiras com alto teor de umidade. As perdas pelo efluente, segundo Woolford (1984), envolvem valores de 5% a 10% de MS.

O efluente contém grande quantidade de compostos orgânicos como açúcares, ácidos orgânicos, proteínas e outros componentes provenientes do material ensilado, constituindo uma fonte nutricional para os diferentes microrganismos saprófitos que vivem em córregos e rios (McDONALD et al. 1991), sendo considerado um grande poluente do meio.

Segundo Nussio et al. (2002) as perdas ocorridas pela produção de efluente na ensilagem de forrageiras, promovem perdas no valor nutricional da silagem e riscos de poluição ambiental, podendo ser evitadas utilizando forragens mais secas, misturando culturas mais secas às úmidas no momento da ensilagem, utilizando aditivos absorventes ou realizando o pré-emurhecimento.

A avaliação da qualidade nutricional do RUC, passível de utilização na alimentação animal, é de fundamental importância para se obter uma eficiência nas

dietas, otimizar o desempenho produtivo e reduzir custos com as dietas. As análises químico-bromatológicas são consideradas o ponto de partida para a avaliação de um alimento, determinando-se a composição química e a qualidade do mesmo, entretanto, esta composição não determina o aproveitamento destes nutrientes pelo animal.

A capacidade de utilização dos diferentes alimentos disponíveis para a alimentação animal varia em função das diferenças anatômicas e fisiológicas existentes entre as espécies animais. Os ruminantes apresentam uma grande vantagem em relação às outras espécies pela capacidade de digestão de grande quantidade de alimentos fibrosos, ocupando um lugar de destaque no aproveitamento de subprodutos e/ou resíduos agroindustriais.

Trabalhos realizados por diversos autores relatam certa variabilidade na composição do resíduo de cervejaria, sendo observados teores de matéria seca variando de 9% a 30% (LÓPEZ; PASCUAL, 1981; CARDOSO et al., 1982; LIMA, 1993; GERON et al., 2007) No Brasil, Cardoso et al. (1982) constataram valores de 23,5% de MS e 32,3% de PB, Geron et al. (2007) observaram, respectivamente, para o resíduo *in natura* e para o resíduo fermentado, 29,2% e 31,69% de PB.

Avaliando o uso do RUC na alimentação de vacas leiteiras, West et al. (1994) observaram a seguinte composição química: 24,40% de MS, 29,60% de PB, 6,80% de EE, 65,50% de FDN e 22,70% de FDA na MS. Por ser um subproduto agroindustrial, a composição química do RUC sofre influência tanto da matéria prima utilizada como do processo utilizado na fabricação pela indústria cervejeira (LIMA, 1993).

Os maiores atrativos observados na composição bromatológica do RUC são os elevados teores de proteína. Dados sugerem que 50% ou mais da proteína bruta, escape da degradação microbiana no rúmen e passe para o intestino delgado (CLARK et al., 1987).

1.6 Degradabilidade *in situ* do Resíduo Úmido de Cervejaria

Atualmente, os sistemas aplicados ao balanceamento de dietas necessitam de avaliações para conhecer as características de degradação ruminal do alimento

utilizado, com o intuito de promover melhorias no desempenho animal (BERCHIELLI et al., 2006).

Na literatura há citações de diversos métodos que podem ser utilizados para quantificar ou estimar a degradação dos nutrientes no rúmen. O método *in situ*, com a incubação de amostras de alimentos em sacos confeccionados em material sintético, permite estimativas simples e rápidas da degradação dos nutrientes no rúmen. O método tem sido empregado com obtenção de bons resultados para calcular a velocidade e a magnitude da degradação do material contido nos sacos, em função do seu tempo de incubação (ORSKOV, 1988).

A técnica da degradabilidade *in situ* consiste basicamente na suspensão de amostras contidas em sacos de náilon incubados no rúmen, presos através de cordas ou correntes ficando completamente imersos no líquido ruminal. Esta técnica permite um contato da amostra com o ambiente ruminal, permitindo maior similaridade com os eventos ocorridos com o animal, mesmo que o alimento não esteja sujeito à mastigação, ruminação e passagem pelo trato (VAN SOEST, 1994), este método possibilita condições ótimas para degradação tais como temperatura, pH, substratos e enzimas.

A técnica de degradabilidade *in situ* é apropriada para a obtenção de informações importantes na avaliação de alimentos, como a taxa e o potencial de degradação ruminal inerente a cada alimento, bem como os efeitos do ambiente ruminal sobre eles (MEHREZ; ORSKOV, 1977; ORSKOV; McDONALD, 1979).

As curvas de desaparecimento de cada fração dos alimentos retratam a cinética de degradação ruminal. Dessa forma, a descrição da taxa e da extensão da digestão é importante para explicar as relações existentes entre a ingestão, a digestão e o desempenho dos ruminantes (ORSKOV, 1982). A degradação dos alimentos nos compartimentos do trato gastro intestinal é resultante de dois parâmetros competitivos que atuam simultaneamente, a taxa de passagem e a taxa de degradação. Segundo Allen (1996) o conceito de degradabilidade efetiva é utilizado quando se inclui a taxa de passagem do alimento no cálculo da degradabilidade.

A mensuração quantitativa desses parâmetros, segundo Mertens (1993), depende do ajuste de alguns modelos para descrição de processos biológicos reais da digestão, como a adaptação de alguns métodos, delineamentos experimentais,

acurácia para a coleta de dados e estimativas dos parâmetros resultantes da cinética ruminal.

Orskov e McDonald (1979), propuseram um modelo exponencial, com a finalidade de auxiliar o estudo da degradação de nutrientes de forrageiras no rúmen em função do tempo, a partir de uma equação sugerida com base no princípio de desaparecimento do material durante a incubação. Este modelo tem sido amplamente utilizado, e permite a obtenção de valores de degradabilidades potenciais, efetivas e taxa de degradação.

A disponibilidade de nitrogênio para o crescimento dos microrganismos e a porcentagem de proteína que chega aos compartimentos do trato gastrointestinal responsáveis pela digestão e absorção, são dependentes da quantidade de proteína efetivamente digerida no rúmen (GERON et al., 2007). Segundo Orskov (1988) a degradabilidade efetiva da proteína no rúmen é dependente de características inerentes ao alimento, do nível de ingestão e das formas de processamento a que foram submetidos os alimentos, bem como de prováveis limitações que possam existir nos processos de fermentação no rúmen.

Segundo Armentano et al. (1986), o RUC é uma excelente fonte de proteína para vacas leiteiras e essa é considerada resistente à degradação ruminal. Santos et al. (1984) mensurando a fermentação ruminal e a absorção de aminoácidos no intestino de vacas leiteiras, compararam farelo de glúten de milho, resíduo de cervejaria e resíduo de destilaria, e observaram que estes forneceram maiores quantidades de aminoácidos para o intestino do que o farelo de soja, caracterizando o RUC com uma fonte de proteína “bypass” (parte da fração protéica insolúvel no rúmen).

Pereira et al. (1999) avaliando a cinética de degradação do RUC submetido a diversos processamentos com diferentes temperaturas de secagem, observaram que a matéria prima ou o processo industrial pode promover importantes efeitos na fração da PB do resíduo, apresentando variações nos valores de degradabilidade da PB. Estes autores constataram variações de 27,8% e 77,4% para taxa de passagem de 5%/hora, para o processo de desidratação da amostra do resíduo por meio de secagem em estufa a 174°C e pelo processo de liofilização, respectivamente. O processo de secagem promovendo o aquecimento do material poderá reduzir a degradação da proteína no rúmen, disponibilizando maiores quantidades no intestino (STERN et al., 1994; PEREIRA et al., 1999).

1.7 Digestibilidade *in vitro* do Resíduo Úmido de Cervejaria

É importante ressaltar que mesmo quando um determinado alimento apresenta excelente degradabilidade, este pode não ser bem aceito pelo animal e não apresentar boa digestibilidade. A digestibilidade de um alimento é dependente do tempo em que a partícula permanece no trato gastrointestinal. A simulação da digestão no rúmen pode ser realizada por uma variedade de procedimentos laboratoriais, sendo o mais utilizado a digestibilidade *in vitro* (ZAMBOM et al. 2001).

A técnica para determinação da digestibilidade *in vitro*, descrita por Tilley e Terry (1963) e modificada por Holden (1999), é considerada mais simples e econômica, pois é realizada em laboratório utilizando o fermentador artificial, onde a amostra é incubada em líquido ruminal e solução tampão, visando simular as condições de anaerobiose da fermentação ruminal (GOERING; VAN SOEST, 1975), pH, poder tampão, temperatura e microrganismos (GOMIDE, 1974).

O Fermentador Ruminal permite a incubação de diferentes alimentos (volumosos e grãos) em filtros no mesmo recipiente (HOLDEN 1999), considerando que o material desaparecido é digestivo (MABJEESH et al., 2000).

As vantagens da utilização da técnica *in vitro* para determinação da digestibilidade dos alimentos estão na rapidez na avaliação, na uniformidade físico-química do local de fermentação e na conveniência de se manter poucos animais canulados, bem como a maior parte dos procedimentos ser desenvolvida em laboratório (ALCALDE et al., 2001), além do baixo custo e curto prazo justificarem a sua utilização.

Desde sua introdução por Tilley e Terry (1963), o método de digestibilidade *in vitro* da matéria seca tem sido amplamente utilizado para analisar alimentos e está sendo aperfeiçoado com práticas laboratoriais, avaliando o processo digestivo em ruminantes (MABJEESH et al., 2000).

Sabe-se que no estudo da digestibilidade *in vitro* existem fontes de variação que podem interferir na metodologia, tais como as variações na população microbiana, processamento das amostras, diferenças atribuídas ao meio e variações de procedimentos (JONHSON, 1966), além de não envolver experimentação com animais e não simular o rúmen quanto à absorção de produtos da fermentação (LANA, 2005). Em virtude destes fatores, os sistemas *in vitro* não reproduzem perfeitamente o processo de digestão *in vivo*. No entanto, a capacidade preditiva e a

aplicabilidade de técnicas *in vitro* podem resultar do grau de similaridade entre a técnica e o processo digestivo do ruminante, desde que cada etapa da operação seja representativa do processo digestivo para que os resultados sejam confiáveis (ZAMBOM et al., 2001).

1.8 Referências

ALCALDE, C. R.; MACHADO, R. M.; SANTOS, G. T. et al. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001.

ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.

ALLEN, W.R.; STEVENSON, K.W.; BUCHANAN-SMITH, J. Influence of additives on short-term preservation of wet brewers grains stored in uncovered piles. **Canadian Journal of Animal Science**, v.55, n.2, p.609-618, 1975.

ARMENTANO, L.E.; HERRINGTON, T.A.; POLAN, C.E. et al. Ruminant degradation of dried brewers grains, wet brewers grains, and soybean meal. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2124-33, 1986.

BELYEA, R. L.; STEVENS, B. J.; RESTREPO, R. J. et al. Variation in composition of by-products feeds. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.9, p. 2339-2345, 1989.

BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição. In: Telma Teresinha Berchielli; Alexandre Vaz Pires; Simone Gisele de Oliveira. (Org.). **Nutrição de Ruminantes**. 1ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006, v.1, p.397-421.

BROCHIER, M.A.; CARVALHO, S. Aspectos ambientais, produtivos e econômicos do aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros em sistema de confinamento. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.33, n.5, p.1392-1399, 2009.

CABRAL FILHO, S.L.S. **Avaliação do resíduo de cervejaria em dietas de ruminantes através de técnicas nucleares e correlatas**. Piracicaba, 1999. Dissertação (Mestrado)—Universidade de São Paulo.

CARDOSO, R.M.; SILVA, J.F.C.; MOTTA, V.A. et al. Produção de leite de vacas alimentadas com silagem de sorgo suplementada com polpa úmida de cevada. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.11, n.1, p.38-45, 1982.

CLARK, J.H.; MURPHY, M.R.; CROOKER, B.A. Supplying the protein needs of dairy cattle from by-product feeds. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1092-1109, 1987.

GERON, L.J.; ZEOULA, L.M.; BRANCO, A.F. et al. Caracterização, fracionamento protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado, **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 29, n. 3, p. 291-299, 2007.

GOERING, H.K., WALDO, D.R. Processing effects on protein utilization by ruminants. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, Buffalo, 1974, **Proceedings**. Buffalo: University Cornell, 1974.

GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**, Agriculture Handbook 379. United States Department of Agriculture. 20p., 1975.

GOMIDE, J. A. A técnica de fermentação ruminal *in vitro* na avaliação de forragens. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 3, n. 2, p. 210-224, 1974.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 2, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

HRISTOV, A.N.; McALLISTER, T.A. Effect of inoculants on wholecrop barley silage fermentation and dry matter disappearance *in situ*. **Journal of Animal Science**, v.80, p.510-516, 2002.

IMAIZUMI, H. **Suplementação protéica, uso de subprodutos agroindustriais e processamento de milho em dietas para vacas leiteiras em confinamento**. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2005.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, *suplemento especial*, p.101-119, 2007.

JOHNSON, P. J. Techniques and procedures for *in vitro* and in vivo rumen studies. **Journal of Animal Science**, v. 25, p. 855-875, 1966.

LANA, R. P. **Nutrição e Alimentação Animal: Mitos e Realidades**. Viçosa: UFV, 344p. 2005.

LIMA, M.LM. **Resíduo de cervejaria úmido: formas de conservação e efeitos sobre parâmetros ruminais**. Piracicaba, 1993. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens)–Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

LÓPEZ, J.D.; PASCUAL, J.L.M. Influence of the drying process on the composition of brewers dried grains. **Animal Feed Science and Technology**, v.6, p.163-168, 1981.

MABJEESH, S. J.; COHEN, M.; ARIELLI, A. *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 10, p. 2289-2294, 2000.

McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Bucks: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v.88, n.3, p.645-650, 1977.

MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: ORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminants digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International, p. 13 – 51, 1993.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal Dairy Science**, v.71, p.2992-3002, 1988.

MUCK, R. E., SPOETRA, S. F., WIKESLAAR, P. G. Effects of carbon dioxide on fermentation and aerobic stability of maize silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 59, p. 405 – 412, 1992.

NUSSIO, L.G.; PAZIANI, S.F.; NUSSIO, C.M.B. Ensilagem de capins tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. p.60-99.

OLIVEIRA, H.C.; PIRES, A.J.V.; OLIVEIRA, A.C. et al. Perdas e valor nutritivo da silagem de capim-tanzânia amonizado com uréia. **Archivos de Zootecnia**. v.58, n.222, p.195-202. 2009.

ORSKOV, E.R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178p.

ORSKOV, E.R. **Protein nutrition in ruminants**. London: Academic Press, 1982. 160p.

ORSKOV, E.R., McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.499-503, 1979.

PEREIRA, J.C.; GONXÁLEZ, J.; OLIVEIRA, R.L. et al. Cinética de Degradação Ruminal do Bagaço de Cevada Submetido a Diferentes Temperaturas de Secagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.1125-1132, 1999.

RODRIGUES, A.A.; PRIMAVESE, O.; ESTEVES, E.S.N. Efeito da qualidade de variedades de cana-de-açúcar sobre o seu valor como alimento para bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.1333-1338, 1997.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forages quality during harvest and storage. In: National Conference on **Forage Quality, Evaluation, and Utilization** Held at The University of Nebraska, 1994, Lincoln, p.828 - 868, 1994.

RUIZ, R.L. **Microbiología Zootécnica**. Ed. Roca. 314 p. 1992.

SANDERSON, M. Aerobic stability and *in vitro* digestibility of microbiology inoculated corn and sorghum silages. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 501 – 514, 1993.

SANTOS, K.A.; STERN, M.D.; SATTER, L.D. Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactation dairy cattle fed various protein sources. **Journal of Animal Science**, v.51, n.1, p.244-255, 1984.

SILVEIRA, R. N.; BERCHIELLI, T. T.; FREITAS, D. et al. Fermentação e degradabilidade ruminal em bovinos alimentados com resíduos de mandioca e cana-deaçúcar ensilados com polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.2, p. 793-801, 2002.

STERN, M. D.; CALSAMIGLIA, S.; ENDRES, M.I. Dynamics of ruminal nitrogen metabolism and their impact on intestinal protein supply. IN: PROCEEDINGS CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES., **Anais...** Cornell University, Ithaca, NY., 1994. p.105-116.

TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**. Hurley, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed., London: Comstock Publishing Associates. 1994. 476p.

WEST, J.W.; ELY, L.O.; MARTIN, S.A. Wet brewers grain for lactating dairy cows during hot, humid weather. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.196-204, 1994.

WOOLFORD, M.K. A Review. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, n. 1, p.101-116, 1990.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.

ZAMBOM, M.A.; SANTOS, G.T.; MODESTO, E.C. et al. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. **Acta Animal Science Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 937-943, 2001.

2 DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS DURANTE A CONSERVAÇÃO DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM CONDIÇÕES AERÓBIAS E ANAERÓBIAS

Resumo: O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar por meio de análises microbiológicas, a conservação do resíduo úmido de cervejaria (RUC) armazenado sob condições aeróbias e anaeróbias. Foi avaliado o desenvolvimento de fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido lácticas, para tal os tratamentos utilizados foram: RUC *in natura* (RUCIN); silagem de RUC pré seco ao sol (SilRUCSS); silagem de RUC com drenagem de efluentes (SilRUCCD) e silagem de RUC sem drenagem de efluentes (SilRUCSD). Na ensilagem foram utilizados silos de laboratório constituídos de PVC, dotados de válvulas do tipo Bunsen para o livre escape dos gases. As análises de MS, PB, determinações de T°C e pH no material *in natura* foram realizadas antes da armazenagem e nas silagens de RUC no momento da abertura dos silos aos 60 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. A conservação do resíduo úmido de cervejaria acondicionado sob condições aeróbias não foi adequada devido ao pronunciado desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras, entretanto o armazenamento sob condições anaeróbias demonstrou ser um eficiente processo de conservação.

Palavras-chave: bactérias ácido-láticas, fungos filamentosos, leveduras, silagem

DEVELOPMENT OF MICROORGANISMS DURING THE CONSERVATION OF BREWERY'S WASTE IN AEROBIC AND ANAEROBIC CONDITIONS

Abstract: This study was conducted with the aim to evaluate by means of microbiological analysis, the conservation of the brewery's waste (BW) stored under aerobic and anaerobic conditions ensiled material. It was evaluated the growth of filamentous fungi, yeasts and lactic acid bacteria, for such treatments, it was used: *in natura* BW; pre dry silage BW in the sun, silage BW with effluent drainage and silage BW without drainage effluent. It was used laboratory silos made of PVC, equipped with Bunsen valves for the free escape of gases. Analyses of DM, CP, determinations of T°C and pH *in natura* material were carried out before storage and silage BW at the opening of the silos on day 60. The data obtained were subjected to analysis of variance, completely randomized design, and averages were compared by Tukey test at 5% probability. The conservation of the brewery's waste packaged under aerobic conditions was not appropriate because to the strong development of filamentous fungi and yeasts, however the storage under anaerobic conditions proved to be an efficient conservation process.

Key-words: fungi, lactic acid bacteria, yeasts, silage

2.1 Introdução

O resíduo úmido de cervejaria (RUC) é uma fonte alternativa de alimento que tem sido bastante utilizado na alimentação de bovinos leiteiros em propriedades rurais na região Oeste do Paraná. Este resíduo é obtido no processamento de fabricação de cerveja, sendo gerado em grande volume durante o ano todo, podendo ser obtido a baixo custo, minimizando os custos na produção animal.

O fator limitante para o uso efetivo do RUC está relacionado ao elevado teor de umidade que este apresenta. Na literatura disponível são observados teores de matéria seca variando de 9% a 30% (LÓPEZ; PASCUAL, 1981; CARDOSO et al., 1982; LIMA, 1993). O baixo teor de matéria seca dificulta o transporte, armazenamento e conservação deste resíduo nas propriedades rurais.

O alto teor de umidade e a conservação do resíduo em condições aeróbias podem propiciar o desenvolvimento de microrganismos, tais como fungos e leveduras que podem ser citados como os principais microrganismos relacionados com a degradação do material mantido em condições aeróbias (ALLEN, 1975).

Uma das alternativas para o armazenamento do resíduo seria a ensilagem do material (POLAN, 1985). A ensilagem garante a fermentação anaeróbia, produzindo ácidos orgânicos, promovendo a queda do pH e, conseqüentemente preservando a qualidade do material ensilado. Entretanto a ensilagem de materiais com elevado teor de umidade propicia o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, como as bactérias do gênero *Clostridium*, produzindo fermentações secundárias indesejáveis e a formação de ácido butírico caracterizando silagens de baixa qualidade, ocorrendo, concomitantemente degradação de proteína e de ácido láctico (McDONALD et al., 1991).

Silagens com elevado teor de umidade, no momento de abertura do silo, propiciam o rápido desenvolvimento de microrganismos, diminuindo a digestibilidade do produto e aumentando o risco de produção de micotoxinas.

Um dos problemas que podem interferir na qualidade nutricional de um alimento, fornecido na forma *in natura* ou silagens, é a susceptibilidade ao desenvolvimento de microrganismos. A identificação dos microrganismos presentes no alimento pode auxiliar na avaliação da qualidade do material. A avaliação no Brasil da população de microrganismos presentes em forragens conservadas e o

seu impacto sobre a qualidade nutricional do alimento, ainda são pouco discutidos, talvez em função da escassez de laboratórios especializados nessa área (JOBIM et al. 2005). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar métodos de conservação aeróbios e anaeróbios do resíduo úmido de cervejaria, realizando análises microbiológicas.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, Linha Guará, nos Laboratório de Análises de Alimentos, Nutrição Animal, Microbiologia e Bioquímica da Universidade Estadual do Oeste do Paraná *campus* de Marechal Cândido Rondon – PR, no primeiro trimestre de 2009.

O resíduo úmido de cervejaria (RUC) utilizado foi obtido em indústria cervejeira no município de Marechal Cândido Rondon. Foram realizadas análises microbiológicas com a finalidade de avaliar a conservação do material, avaliando no primeiro ensaio o armazenamento do RUC em condições aeróbias visando reproduzir as condições comumente utilizadas em propriedades rurais da região, e posteriormente, no segundo ensaio, o armazenamento do RUC em condições anaeróbias, na qual foi realizada a ensilagem do material.

No primeiro ensaio, para reproduzir as condições aeróbias, o RUC foi acondicionado em baldes plásticos com capacidade de aproximadamente 10 Kg. As análises microbiológicas foram realizadas por meio da contagem de fungos filamentosos e leveduras, periodicamente; para tanto foram utilizados os seguintes tratamentos:

- RUC *in natura* realizando-se a contagem microbiana no momento da chegada do material (RUCIN);
- RUC acondicionado em baldes sem tampa e a contagem microbiana realizada aos sete dias (BST7);
- RUC acondicionado em baldes com tampa e a contagem microbiana realizada aos sete dias (BCT7);
- RUC acondicionado em baldes com tampa e a contagem microbiana realizada aos 14 dias (BCT14);

- RUC acondicionado em baldes com tampa e a contagem microbiana realizada aos 21 dias (BCT21);
- RUC acondicionado em baldes com tampa e a contagem microbiana realizada aos 28 dias (BCT28).

Totalizando seis tratamentos com três repetições distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Para o tratamento BST foi realizada a contagem apenas aos sete dias, pois se tornou inviável a avaliação nos períodos seguintes em função da extensa deterioração do material inviabilizando a utilização deste para as análises.

No segundo ensaio de conservação, o RUC foi ensilado mantendo-se as condições anaeróbias, e para a avaliação do desenvolvimento dos microrganismos foi realizada a contagem de fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido-láticas, para tal os tratamentos utilizados foram:

- RUC *in natura* realizando-se a contagem microbiana no momento da chegada do material (RUCIN);
- Silagem de RUC pré seco ao sol (SilRUCSS);
- Silagem de RUC com drenagem de efluentes (SilRUCCD);
- Silagem de RUC sem drenagem de efluentes (SilRUCSD).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições.

Foram utilizados silos de laboratório constituídos de PVC com 50 cm de altura e 10 cm de diâmetro, com capacidade de aproximadamente 3 kg de RUC. O material foi compactado e os silos tampados com *caps* dotados de válvulas do tipo *Bunsen* para o livre escape dos gases (SCHEFER de ROJAS, 1976).

Para a SilRUCSS o material a ser ensilado foi disposto sobre uma lona e pré seco ao sol a fim de que atingisse aproximadamente 35% de MS para posterior ensilagem. A determinação dos teores de matéria seca foi realizada concomitantemente utilizando um forno de micro-ondas segundo a metodologia proposta por Pastorini et al. (2002). Para a SilRUCCD e SilRUCSD o material foi ensilado *in natura*. Com o intuito de promover a drenagem do efluente, na SilRUCCD, foram colocadas telas no fundo dos silos, adaptando-se uma tubulação (8 mm) na parte inferior do silo para escoamento do exudado, o qual foi coletado em

garrafas de plástico por um período de 10 dias para posteriores avaliações de perdas por efluentes. Após este período o fundo do silo foi vedado com fita adesiva.

Após 60 dias de armazenamento os silos foram abertos, o conteúdo retirado e colocado em bandejas para homogeneização do material. Para a coleta das amostras do material ensilado foram descartadas as extremidades dos silos, considerando apenas a porção central da massa ensilada, com o intuito de se evitar que a porção inicial mais deteriorada influenciasse nos resultados das análises.

Tanto no primeiro ensaio, quanto no segundo, foram realizadas amostragens para determinação de pH, temperatura, proteína bruta e análises microbiológicas, no material *in natura* antes da armazenagem, no RUC acondicionado em baldes e nas silagens de RUC no momento da abertura dos silos aos 60 dias.

O pH e a temperatura das amostras foram mensurados com o uso de um peagâmetro digital e termômetro portátil. Para a determinação do pH foi utilizada a metodologia descrita por Cherney e Cherney (2003) adicionando-se 100 mL de água destilada em 10 g de amostra, permanecendo em repouso por 1 hora antes da leitura.

Para a determinação da proteína bruta as amostras foram pesadas, colocadas em estufa de ventilação forçada de ar à 55°C por 72 horas e processadas em moinho tipo “Willey”, em peneira com crivos de 1mm para posterior análise, utilizando a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002)

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon. Adicionou-se 450 mL de água destilada estéril aos 50 g de amostra, mantendo-se este material em agitação e a partir da solução obtida pipetou-se 1 mL ou 0,1 mL, em sucessivas diluições de 10^{-1} a 10^{-7} , utilizando-se tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada. Posteriormente a partir dos extratos diluídos foi realizada a semeadura nas placas utilizando 0,1 mL por placa. Para cada diluição e meio de cultura, a semeadura foi efetuada em triplicata e a contagem microbiana e os resultados obtidos foram analisados segundo a descrição de González e Rodriguez (2003).

As populações microbianas, tanto no material original como nos processos de armazenamento aeróbio e anaeróbio, foram determinadas por meio de técnicas de cultura segundo Silva et al. (1997), utilizando-se os seguintes meios:

- Ágar BDA (ágar batata dextrose) acidificado com solução de ácido tartárico a 10%, para a contagem de leveduras e fungos filamentosos, mantendo-se

as placas em temperatura ambiente por 5 a 7 dias. A diferenciação entre fungos filamentosos e leveduras foi realizada pelas características físicas das colônias;

- Ágar MRS (De Man, Rogosa e Sharpe), para a contagem de bactérias ácido-láticas (BAL), após incubação por 48 horas em estufa à temperatura de 37°C.

Após o período de incubação as colônias foram contadas, utilizando-se um contador de colônias “Quebec”, sendo consideradas passíveis de contagem as placas que apresentaram entre 25 e 250 UFC (Unidade Formadora de Colônias) por placa de Petri e os resultados foram obtidos por meio de média das placas, na diluição selecionada, sendo expressos em Log.

Os dados obtidos foram transformados em logaritmo e submetidos à análise de variância, e para a comparação das médias empregou-se o teste Tukey a 5% de probabilidade.

2.3 Resultados e Discussão

As médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), temperatura, pH e população de fungos filamentosos e leveduras estão apresentadas na Tabela 1.

Observou-se aumento da temperatura ($P < 0,05$) no BST7 em relação aos demais e o BCT28 não diferiu do RUCIN e dos demais.

Tabela 1. Médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), temperatura (T°C), pH e desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras (log/g de resíduo) observados no resíduo úmido de cervejaria.

Variáveis	RUCIN ¹	BST7	BCT7	BCT14	BCT21	BCT28	CV%
MS %	23,85	22,45	23,12	20,98	19,64	20,82	-
PB %	24,79	26,91	25,06	24,04	26,54	26,57	-
T°C	27,00b	32,00a	29,00b	28,00b	28,00b	29,50ab	3,46
pH	6,03a	5,42b	4,45c	4,02d	3,69de	3,48e	3,46
Fungos	0,00d	6,92a	0,00d	0,00d	1,38c	2,84b	3,77
Leveduras	0,00e	7,79a	2,36d	2,72c	2,66c	3,67b	2,32

¹RUCIN: resíduo úmido de cervejaria *in natura*, avaliado no momento da aquisição do material;
 BST7: RUC acondicionado em baldes sem tampa, avaliado aos sete dias de armazenamento;
 BCT: RUC acondicionado em baldes com tampa, avaliado periodicamente aos sete, 14, 21 e 28 dias de armazenamento;
 CV: Coeficiente de variação;
 Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Tukey.

Observou-se diferença significativa ($P < 0,05$) para a variável pH, de forma que o RUCIN foi superior ao BCT28, enquanto o BCT21 não diferiu do BCT14 e BCT28.

A queda do pH no BST7 não impediu o acentuado desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras (FIGURA 1).

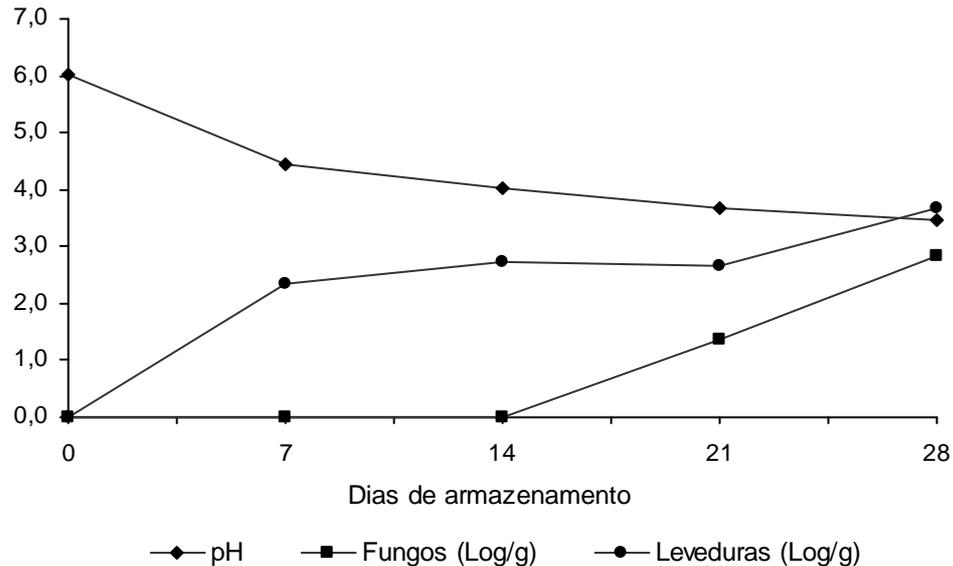


Figura 1. Valores médios de pH e desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras (log/g de resíduo) observados no resíduo úmido de cervejaria avaliado periodicamente.

A elevada temperatura e a não redução do pH, segundo McDonald (1991) estimulam o crescimento de microrganismos indesejáveis, por exemplo, os clostrídeos, que podem promover a degradação da proteína.

Com relação ao desenvolvimento dos fungos filamentosos (log/g de resíduo), sua presença não foi detectada nos tratamentos RUCIN, BCT7 e BCT14 que não diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) entre si. Esse resultado possivelmente está relacionado com o curto período de armazenamento e com o menor contato com o ar. Entretanto, constatou-se um acentuado crescimento dos fungos filamentosos ($P < 0,05$) pela maior exposição ao ar no BST7 (6,92 log/g de resíduo) e pelo maior tempo de armazenagem nos BCT21 (1,38 log/g de resíduo) e BCT28 (2,84 log/g de resíduo) e possível entrada de ar nos baldes, visto que estes não foram vedados.

Segundo Arcuri et al. (2003) a presença de fungos filamentosos tem pronunciado efeito no valor nutritivo do material, pois degradam o mesmo e podem produzir toxinas que afetam o metabolismo animal.

Quanto ao número de leveduras (log/g de resíduo) houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos, de forma que o tratamento BST7 foi superior ao

RUCIN, enquanto os tratamentos BCT14 e BCT21 não diferiram entre si. A inferioridade do tratamento RUCIN se deve a não constatação da presença de leveduras, porém, o seu aumento apresentou o mesmo padrão de desenvolvimento de fungos filamentosos.

A predominância da presença de leveduras no tratamento BST7 (7,79 log/g de resíduo) em relação aos demais tratamentos possivelmente está relacionada com a maior exposição ao ar no período de armazenagem. Esse resultado é preocupante, pois a elevada população de leveduras na ordem de 7,79 log/g de resíduo encontrado no BST7, poderá provocar a deterioração do material e promover perdas de matéria seca (MS).

O material armazenado em condições aeróbias por um período de sete dias apresentou alterações visíveis, odor desagradável, além de ter a sua superfície tomada pelo desenvolvimento de fungos filamentosos, promovendo perdas na superfície do material acondicionado e riscos para alimentação animal pela provável produção de toxinas. A temperatura e pH elevados e as condições aeróbias possivelmente propiciaram o desenvolvimento destes microrganismos indesejáveis.

Os valores médios de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), T°C, pH e desenvolvimento de fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido lácticas podem ser observados na Tabela 2. Os valores de T°C do RUCIN e das silagens de RUC não diferiram entre si ($P>0,05$).

Tabela 2. Médias de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), temperatura (T°C), pH e desenvolvimento de fungos filamentosos, leveduras e bactéria ácido-láctica (BAL) (log/g de resíduo) observados no resíduo úmido de cervejaria *in natura* e nas silagens de resíduo úmido de cervejaria.

Variáveis	RUCIN ¹	SiRUCSS	SiRUCCD	SiRUCSD	CV%
MS	23,85	49,62a	24,13b	20,41c	5,94
PB%	24,79	23,73ab	23,24b	25,40a	3,82
T°C	27,00a	30,00a	30,00a	30,00a	6,24
pH	6,03a	4,05b	2,86c	3,57b	6,69
Fungos	0,00b	2,89a	2,33a	2,45a	22,29
Leveduras	0,00b	1,71a	0,43b	0,00b	80,00
BAL	6,21ab	6,62ab	5,78b	7,26a	8,64

¹RUCIN: resíduo úmido de cervejaria *in natura*, avaliado no momento da aquisição do material;

SiRUCSS: silagem de RUC pré seco ao sol;

SiRUCCD: silagem de RUC com drenagem de efluentes;

SiRUCSD: silagem de RUC sem drenagem de efluentes;

CV: Coeficiente de variação;

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si ($P>0,05$) pelo teste Tukey.

Observou-se diferença significativa nos valores de pH ($P < 0,05$), o RUCIN apresentou o maior valor médio de pH (6,03). Após a abertura dos silos, as SilRUCSS, SilRUCCD e SilRUCSD apresentaram valores médios de pH 4,05, 2,86 e 3,57 respectivamente, evidenciando padrão de fermentação adequado. Os valores de pH apresentaram-se menor que 4,2, sendo considerados ideais, pois é indicativo de possível inibição de microrganismos indesejáveis responsáveis por fermentações secundárias (McDONALD, 1991).

O pH final nas silagens não pode ser considerado isoladamente como critério de avaliação das silagens, pois a inibição de fermentações secundárias depende também da velocidade da queda do pH, da concentração iônica e da umidade do material ensilado (WOOLFORD, 1984). Deste modo a observação somente do pH final, não garante que a atividade dos microrganismos indesejáveis foi prevenida durante o processo de fermentação, devendo-se avaliar a rapidez em que ocorreu a redução do pH através da avaliação do perfil de fermentação do material. Porém, segundo Cherney e Cherney (2003), o pH ainda pode ser considerado como um bom indicador da qualidade da fermentação em silagens com baixo teor de MS.

A análise dos resultados referentes ao desenvolvimento de fungos filamentosos ($P < 0,05$) permite observar que houve aumento destes na SilRUCSS, SilRUCCD e SilRUCSD) em relação ao RUCIN. Os resultados referentes ao crescimento dos fungos filamentosos encontrados neste experimento são semelhantes aos registrados por Jobim et al. (1999), em silagem de espigas de milho (2,6 log/g de silagem) e maiores do que o observado por estes mesmos autores para silagem de grãos (1,9 log/g de silagem).

Alguns autores sugerem que a multiplicação de fungos pode aumentar o pH da silagem, permitindo a multiplicação de microrganismos indesejáveis, por exemplo, *Listeria* (GUERRA et al., 2005). Em silagens com valores de pH $> 4,0$ pode ser observada a presença deste em grandes quantidades (10^4 UFC/g) (FENLON, 1986; SKOVAARD; MORGEN 1988; RYSER et al., 1997).

Com relação ao desenvolvimento de leveduras pôde-se verificar que houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o número de microrganismos de silagem entre a SilRUCSS e as demais e não foi observada diferença estatística entre o RUCIN, SilRUCCD e SilRUCSD, constatando-se que não ocorreu o crescimento destes microrganismos, favorecendo o processo de fermentação.

Os valores médios obtidos no presente trabalho para a SilRUCSS são inferiores aos observados por Jobim et al. (1999), que constataram população de leveduras, em silagem de grão úmido, na ordem de 6,4 log/g de silagem.

O maior número de microrganismos encontrado na SilRUCSS pode ser atribuído ao fato desta ter menor compactação devido ao maior teor de MS observado (49,62%). Silagens apresentando maior teor de MS dificultam a compactação favorecendo a oxigenação da silagem, Woolford (1990) observa que silagens que apresentarem contagem de leveduras superior a 5,0 log/g de silagem são mais susceptíveis à deterioração.

Segundo Alli et al. (1983) a presença de leveduras na ordem de 10^6 UFC/g no momento de ensilagem é considerada indesejável, visto que não contribuem para acidificação além de estarem associadas com a deterioração aeróbia das silagens e às perdas elevadas de matéria seca devido ao consumo de açúcares solúveis presentes.

No momento de abertura dos silos, caso a silagem apresente contagem de leveduras na ordem de 10^6 UFC/g pode, em dois ou três dias podem atingir 10^9 UFC/g sendo consideradas de baixa estabilidade (MUCK, 1992).

Com relação ao desenvolvimento das bactérias ácido-láticas observaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) (Tabela 2). Na SilRUCSD a população de BAL apresentou valores médio superiores (7,26 log/g de silagem) às demais e as menores médias podem ser observadas na SilRUCCD (5,78 log/g de silagem).

O número de bactérias ácido-láticas requerido para que ocorra acentuada queda de pH é de cerca de 8,0 log/g no momento da ensilagem (McDONALD et al., 1991), valor superior ao encontrado no RUCIN do presente trabalho (6,21 log/g de silagem). Entretanto, diversos autores têm observado populações iniciais entre 3,7 e 6,3 log/g em diversos materiais, sem provocarem alterações na conservação do material ensilado (DRIEHUIS et al. 2001; WHITER; KUNG JR. 2001). Desta forma a população observada no presente estudo (5,78 a 7,26 log/g silagem) situa-se numa faixa adequada para uma boa conservação do RUC ensilado.

Nas forragens a população de BAL ocorre em baixa quantidade e a preservação da forragem no silo depende da atividade destas, que fermentam açúcares produzindo ácido lático e outros produtos (REIS et al. 2004). No entanto Bernardes (2003) observou que a população de bactérias ácido-láticas presentes no material no momento da ensilagem não seria apropriada para adequada produção

de ácido láctico, entretanto, a partir do primeiro dia de fermentação o número de BAL aumentou, proporcionando uma rápida acidificação.

Dados sobre desenvolvimento microbiano de diversas silagens como sorgo, trigo, milho, alfafa e gramíneas em geral têm sido amplamente relatada por inúmeros pesquisadores (FILYA, et al., 2004; KUNG JR et al., 2003; LINDGREN et al., 1985; NISHINO et al., 2004; TAYLOR et al., 2002; UMANA et al., 1991). Filya et al. (2004) que constataram em silagens de trigo, sorgo e milho, a população de leveduras de 5,6; 5,8 e 5,5 log/g silagem respectivamente e a contagem de bactérias ácido-láticas de 7,3; 6,7 e 7,0 log/g de silagem, respectivamente. A partir destes dados é possível observar que a população de leveduras e de bactérias ácido-láticas apresenta semelhanças, mesmo em forragens diferentes, entretanto, cada material ensilado apresentará um perfil microbiológico diferente, dependente da flora epifítica, do substrato disponível durante a fermentação e do teor de MS.

2.4 Conclusões

A conservação do resíduo úmido de cervejaria acondicionado sob condições aeróbias não é adequada, devido ao pronunciado desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras que caracterizam sua deterioração, entretanto o armazenamento do resíduo úmido de cervejaria sob condições anaeróbias na forma de ensilagem é uma das alternativas para sua conservação nas propriedades rurais, pois é um eficiente processo de conservação.

2.5 Referências

ALLEN, W,R.; STEVENSON, K.W.; BUCHANAN-SMITH, J. Influence of additives on short-tern preservation of wet brewers grains stored in uncovered piles. **Canadian Journal of Animal Science**, v.55, n.2, p.609-618, 1975.

ALLI, I; FAIRBAIN, R; BAKER, B.E. et al. The effects of ammonia on the fermentation of chopped sugarcane. **Animal Feed Science and Technology**, v.9, p.291-299, 1983.

ARCURI, P.B., CARNEIRO, J.C., LOPES, F.C.F. Microrganismos indesejáveis em forragens conservadas: efeito sobre o metabolismo de ruminantes. In: Volumosos na

Produção de Ruminantes: Valor Alimentício de Forragens. Reis, R. A., Bernardes, T.F., Siqueira, G.R. Moreira, A.L. (Ed.). 2003. Jaboticabal. **Anais...**, FUNEP. p. 51-70. 2003.

BERNARDES, T.F. **Características fermentativas, microbiológicas e químicas do Capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst ex. a. Rich) Stapf cv. Marandu) ensilado com polpa cítrica peletizada.** Dissertação (Mestrado) – FCAV/UNESP, 2003, 108 p.

CARDOSO. R.M.; SILVA, J.F.C.; MOTTA, V.A. et al. Produção de leite de vacas alimentadas com silagem de sorgo suplementada com polpa úmida de cevada. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.11, n.1, p.38-45, 1982.

CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: Buxton *et al.* **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198, 2003.

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, W.H.; VAN WIKSELAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. **Grass and Forage Science**, v.56, p.330-343, 2001.

FENLON, D.R., WILSON, J., DONACHIE, W. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. **Journal Applied Bacteriology**, v. 81, p.641-650, 1996.

FILYA, I.; SUCU, E.; KARABULUT, A. The effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum*, on the fermentation and aerobic stability of wheat, sorghum and maize silages. **Journal Applied Microbiology**, v.97, p.818-826, 2004.

GONZÁLEZ, G.; RODRÍGUEZ, A.A. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.3, p.926-933, 2003.

GUERRA, M.M.; OLIVEIRA, M.; FERNANDES, A. et al. Microbial quality of silages – *Listeria Monocytogenes* contamination. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v.XII, n.001, p.55-65, 2005.

JOBIM, C.C. PEREIRA, J.R.A.; SANTOS, G.T. Sistemas de produção de leite com ênfase na utilização de volumosos conservados. In: REIS, R.A. SIQUEIRA, R.A.; BERTIPAGLIA, L.M.A. et al. (Org.). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.61-82, 2005.

JOBIM, C.C. PEREIRA, J.R.A.; SANTOS, G.T. Sistemas de produção de leite com ênfase na utilização de volumosos conservados. In: REIS, R.A. SIQUEIRA, R.A.; BERTIPAGLIA, L.M.A. et al. (Org.). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.61-82, 2005.

JOBIM, C.C.; REIS, R.A.; SHOKEN-ITURRINO, R.P. et al. Desenvolvimento de microrganismos durante a utilização de silagem de grãos úmidos de milho e de espigas de milho sem brácteas. **Acta Scientiarum**, v.21, p.671-676, 1999.

KUNG Jr., L.; TAYLOR, C.C.; LYNCH, M.P. et al. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.86, p.336-343, 2003.

LIMA, M.L.M. **Resíduo de cervejaria úmido: formas de conservação e efeitos sobre parâmetros ruminais**. Piracicaba, 1993. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens)–Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

LINDGREN, S.; PETTERSSON, K.; KASPERSSON, A. et al. Microbial Dynamics during aerobic deterioration of silages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, p.756-774, 1985.

LÓPEZ, J.D.; PASCUAL, J.L.M. Influence of the drying process on the composition of brewers dried grains. **Animal Feed Science and Technology**, v.6, p.163-168, 1981.

McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Bucks: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MUCK, R.E. Factors influencing silage quality and their implications for management. **Journal Dairy Science**, v.71, p.2992-3002, 1988.

MUCK, R. E., SPOETRA, S. F., WIKESLAAR, P. G. Effects of carbon dioxide on fermentation and aerobic stability of mayze silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 59, p. 405 – 412, 1992.

NISHINO, N.; WADA, H.; YOSHIDA, M. et al. H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2563-2570, 2004.

PASTORINI, L. H. et al. Secagem de material vegetal em forno de microondas para determinação de matéria seca e análises químicas. **Ciência Agrotécnica, Lavras**, v.26, n.6, p.1252-1258, 2002.

POLAN, C.E. et al. Milk production response to diets supplemented with dried grains, wet brewers grains, or soybean meal. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 8, p. 2016-2026, 1985.

REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais. In: **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, 2., 2004, Maringá: UEM/CCA/DZO, 2004, p.34-74.

RYSER, E.T., ARIMI, S.M., DONNELLY, C.W., 1997. Effects of pH on distribution of *Listeria ribotypes* in corn, hay and grass silage. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.63, p. 3695-3697, 1997.

SCHEFER, DE ROJAS, S.M. **Efeito de aditivos e do momento de vedação na qualidade da silagem de milho em condições de laboratório.** Belo Horizonte, MG: UFMG, 1976. 83p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, 1976.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise Microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SKOVAARD, N., MORGEN, C.A. Detection of *Listeria spp.* In faeces from animal in feeds, and in raw foods of animal origin. Int. **Journal Food Microbiology** v.6, p. 229-242, 1988.

TAYLOR, C.C.; KUNG Jr., L. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1526-1532, 2002.

UMAÑA, R.; STAPLES, C.R.; BATES, D.B. et al. Effects of the digestibility of bermudagrass ensiled at two moisture contents. **Journal of Animal Science**, v.69, n.11, p.4588-4601, 1991.

WHITER, A.G., KUNG Jr., L. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfafa silage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p. 2195-2202, 2001.

WOOLFORD, M.K. A Review. The detrimental effects of air on silage. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, n. 1, p.101-116, 1990.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation.** New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.

3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, DEGRADABILIDADE *IN SITU* E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA *IN NATURA* E ENSILADO

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fermentativa da silagem, a composição química, bem como a degradabilidade *in situ* e a digestibilidade *in vitro* do resíduo úmido de cervejaria *in natura* e ensilado. O material foi ensilado em silos de laboratório, constituídos de PVC. Foram realizadas análises químico-bromatológicas, determinação de pH, temperatura, capacidade tampão e perdas de matéria seca. A degradabilidade ruminal foi estimada pela técnica *in situ* do saco de náilon, utilizando-se três vacas da raça Holandesa P&B, canuladas, múltiparas, mantidas em piquetes de grama estrela (*Cynodon nlemfuensis*), recebendo suplementação alimentar com ração concentrada, silagem de milho e mistura mineral. Para a determinação da DIVMS foi adotada a técnica descrita por Tilley e Terry adaptada ao Rúmen Artificial e para a DIVPC a metodologia descrita por Goering e Van Soest (1975). A ensilagem do resíduo úmido de cervejaria preservou qualidade nutricional do material. A avaliação da composição química, digestibilidade *in vitro* e degradabilidade *in situ* do RUC *in natura* e ensilado demonstraram que o material pode ser caracterizado como alimento volumoso com potencial de uso na alimentação de ruminantes.

Palavras-chave: capacidade tampão, degradação, digestão, pH, silagem

CHEMICAL CHARACTERIZATION, *IN SITU* DEGRADABILITY AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY OF BREWERY'S WASTE *IN NATURA* AND ENSILED

Abstract: The aim of this study was to evaluate the quality of silage fermentation, chemical composition, as well as *in situ* degradability and *in vitro* digestibility of the brewery's waste *in natura* and ensiled. The material was ensiled in laboratory silos, made of PVC. Chemical analysis, determination of pH, temperature, buffering capacity and dry matter losses were performed. The degradability was estimated by the technique *in situ* nylon bag, using three Holstein cows, cannulated, multiparous, kept in paddocks of star grass (*Cynodon nlemfuensis*), receiving diet supplemented with concentrated feed, corn silage and mineralized salt. In order to determine the *In Vitro* Digestibility of dry matter, it was adopted the technique described by Tilley e Terry adapted to Artificial Rumen and to *In Vitro* Digestibility of cell wall, the methodology described by Goering and Van Soest (1975) was used. The ensilage brewery's waste preserved nutritional quality of the material. The evaluation of chemical composition, *in vitro* digestibility and *in situ* degradability *in natura* and ensiled brewery's waste showed that the material can be characterized as bulk food with potential use in ruminant feed.

Key-words: buffer capacity, degradation, digestion, pH, silage

3.1 Introdução

Diversas fontes alternativas de alimentos são passíveis de utilização pelos ruminantes, haja vista, que estes possuem um sistema digestivo peculiar, capaz de transformar produtos fibrosos de plantas e resíduos diversos, em função da atividade dos microrganismos do rúmen. O uso de subprodutos da agroindústria na alimentação animal depende do conhecimento da sua composição químico-bromatológica, qualidade nutricional, fatores limitantes, desempenho animal e disponibilidade no decorrer do ano. Mediante o desconhecimento destes fatores, usualmente muitos resíduos são pouco utilizados.

Dentre as diversas fontes disponíveis merece destaque o resíduo úmido de cervejaria (RUC) que apresenta potencial de utilização pela elevada qualidade nutricional. O RUC é resultante do processamento inicial da fabricação de cervejas, sendo gerado em grande volume durante o ano todo, podendo ser obtido a baixo custo em indústrias cervejeiras.

Segundo Cabral Filho (1999), o RUC apresenta grande variação em sua composição químico-bromatológica e este fato deve-se aos diferentes processamentos adotados por cada indústria. Na literatura foram constatados valores médios de MS variando de 9% a 30% (LÓPEZ; PASCUAL, 1981; CARDOSO et al., 1982; LIMA, 1993).

O elevado teor de umidade observado no RUC constitui-se um fator limitante para efetiva utilização deste na alimentação animal pela dificuldade no transporte, armazenamento e conservação nas propriedades rurais (GERON et al., 2007). Uma das alternativas para a conservação do RUC seria a ensilagem (POLAN et al., 1985). McDonald et al. (1991) observaram que para adequada fermentação no processo de ensilagem é recomendado que o material apresente teores próximos de 30% de matéria seca, elevados teores de carboidratos solúveis e baixa capacidade tampão.

Em função da grande diferença nos constituintes químicos do RUC e conseqüentemente das taxas de degradação (VAN SOEST, 1994), é de fundamental importância o conhecimento destas para a determinação da qualidade nutricional do mesmo.

O RUC é uma excelente fonte de proteína e é considerada resistente à degradação ruminal (ARMENTANO et al. 1986), podendo ser classificada como

fonte de proteína *bypass*, insolúvel no rúmen (PEREIRA et. 1999). Geron, et al. (2007) caracterizaram o RUC e o RUC fermentado como fontes de proteína de lenta degradação no rúmen quando comparada à do farelo de soja.

A intensidade da degradação ruminal da proteína bruta é um dos principais indicadores nas avaliações da qualidade da proteína para os ruminantes (ORSKOV, 1988). A quantidade efetivamente digerida no rúmen influi diretamente sobre a disponibilidade de nitrogênio para o crescimento dos microrganismos no rúmen e na quantidade de proteína que chega aos outros compartimentos do trato digestório para digestão e absorção, no entanto, a degradabilidade efetiva no rúmen depende das características inerentes ao alimento, nível de ingestão e processamento do alimento (SILVA et al., 2002).

O RUC é caracterizado como um alimento com elevado potencial na alimentação de ruminantes, quando armazenado corretamente, porém, para sua efetiva utilização na alimentação animal é de fundamental importância a avaliação da qualidade nutricional. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fermentativa da silagem, a composição química, bem como a degradabilidade *in situ* e a digestibilidade *in vitro* do RUC *in natura* e ensilado.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, Linha Guará, no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* de Marechal Cândido Rondon – PR e na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI,) nos Laboratórios de Análise de Alimentos, Nutrição Animal e de Metabolismo Animal, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Estado do Paraná; no primeiro trimestre de 2009.

O resíduo úmido de cervejaria (RUC) utilizado foi obtido em indústria cervejeira localizada no município de Marechal Cândido Rondon. Para o ensaio de conservação, avaliando o armazenamento do RUC em condições anaeróbias, foi realizada a ensilagem do material. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições, em diferentes situações, como segue:

- Resíduo úmido de cervejaria *in natura* (RUCIN);
- Silagem de RUC pré seco ao sol (SilRUCSS);
- Silagem de RUC com drenagem de efluentes (SilRUCCD);
- Silagem de RUC sem drenagem de efluentes (SilRUCSD).

Foram utilizados silos de laboratório constituídos de PVC com 50 cm de altura e 10 cm de diâmetro, com capacidade de aproximadamente 3 kg de RUC. O material foi compactado e os silos tampados com *caps* dotados de válvulas do tipo *Bunsen* para o livre escape dos gases (Schefer de Rojas, 1976).

Para a SilRUCSS o material a ser ensilado foi disposto sobre uma lona e pré seco ao sol a fim de que atingisse aproximadamente 35% de MS para posterior ensilagem. A determinação dos teores de matéria seca foi realizada concomitantemente utilizando um forno de micro-ondas segundo a metodologia proposta por Pastorini et al. (2002). Para a SilRUCCD e SilRUCSD o material foi ensilado *in natura*. Com o intuito de promover a drenagem do efluente, na SilRUCCD, foram colocadas telas no fundo dos silos, adaptando-se uma tubulação (8mm) na parte inferior do silo para escoamento do exudado, o qual foi coletado em garrafas de plástico por um período de 10 dias para posteriores avaliações de perdas por efluentes. Após este período o fundo do silo foi vedado com fita adesiva.

Após 60 dias de armazenamento os silos foram abertos, o conteúdo foi retirado e colocado em bandejas para homogeneização do material. Para a coleta das amostras foram descartadas as extremidades dos silos, considerando apenas a porção central da massa ensilada, com o intuito de se evitar que a porção inicial mais deteriorada influenciasse nos resultados das análises,

Foram realizadas amostragens do RUC *in natura* e posteriormente, de cada unidade experimental. Uma primeira amostra foi utilizada para análises químico-bromatológicas, sendo pesada e colocada em estufa de ventilação forçada de ar à 55°C por 72 horas, processada em moinho tipo “Willey”, em peneira com crivos de 1mm e armazenada para análises dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), celulose e lignina segundo metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002) e determinação dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) segundo Van Soest et al. (1991).

A segunda amostra foi utilizada para a determinação de pH, temperatura e capacidade tampão. O pH e a temperatura das amostras foram medidos com o uso

de um peagâmetro digital e termômetro portátil. Para a determinação do pH foi utilizada a metodologia descrita por Cherney e Cherney (2003) adicionando-se 100 mL de água destilada em 10 g de amostra, permanecendo em repouso por 1 hora antes da leitura. A determinação da capacidade tampão foi realizada segundo metodologia de Playne e McDonald (1966).

Os silos foram pesados no momento de ensilagem e na abertura dos mesmos para a determinação das perdas totais de matéria seca, calculada pela equação descrita por Jobim et al. (2007):

$$PMS = [(MSi - MSf) / MSi] \times 100$$

onde:

PMS = Perda Total de MS;

MSi = Quantidade de MS inicial (peso do silo após enchimento – peso do conjunto vazio, sem o RUC, antes do enchimento) x teor de MS da forragem na ensilagem;

MSf = Quantidade de MS final (peso do silo cheio antes da abertura – peso do conjunto vazio, sem a forragem, após a abertura dos silos (tara úmida) x teor de MS da forragem na abertura).

A determinação da produção de efluentes na SilRUCCD foi realizada mediante a diferença de pesagens dos silos antes e depois da ensilagem, em relação à quantidade de resíduo ensilado, utilizando a equação:

$$PE = (Pef \times 100) / MIN$$

onde:

PE = perdas por efluente;

Pef = peso de efluente (Peso do conjunto vazio após a abertura – peso do conjunto vazio antes do enchimento);

MIN = quantidade de material *in natura* ensilado.

A degradabilidade ruminal foi estimada pela técnica *in situ* do saco de náilon. Para avaliar a degradabilidade ruminal *in situ* da MS, MO, PB e FDN, foram utilizadas três vacas da raça Holandesa P&B, munidas de cânula ruminal, múltiparas, com peso médio de 550 Kg. Os animais foram mantidos em piquetes de grama estrela (*Cynodon nlemfuensis*), recebendo suplementação alimentar com ração concentrada, silagem de milho e mistura mineral.

As amostras de silagem a serem incubadas foram pré secas em estufa de 55°C por 72 horas e moídas em peneira com crivo de 5mm. Foram colocadas sete gramas de amostra em cada saco de náilon. No momento da incubação, os sacos foram presos em duplicata para os tempos de incubação 0, 3, 6, 12 e 24 e em triplicata para os tempos 48, 72, 96 e 120 horas, a uma barra cilíndrica de ferro presa por um fio de náilon de 50 cm de comprimento à cânula ruminal.

Após o período de incubação, os sacos de náilon foram removidos e lavados em água corrente para completa retirada das impurezas externas, em seguida foram congelados, para posterior secagem, pesagem e análises. No final de todo o período de incubação os sacos foram submetidos à secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas e, posteriormente os resíduos foram analisados quanto aos teores de MS, MO, PB e FDN para a determinação da taxa de desaparecimento destes.

A porcentagem de desaparecimento da MS, MO, PB e FDN em cada tempo foi calculada pela proporção que permaneceu nos sacos após a incubação no rúmen. A degradabilidade ruminal da MS, MO, PB e FDN foi calculada pela equação descrita por Orskov e McDonald (1979):

$$p = a + b (1 - e^{-ct})$$

onde:

p = taxa de degradação potencial no tempo t ;

a = porção prontamente solúvel no rúmen (representado pelo intercepto da curva de degradação no tempo 0);

b = fração insolúvel, mas potencialmente degradável;

c = taxa constante de degradabilidade da fração b ;

e = logaritmo natural, que representa o tempo de colonização dos microrganismos das partículas dos alimentos, para o início da degradação microbiana (*lag time*).

t = tempo de incubação.

Os parâmetros não-lineares a , b e c foram estimados pelos procedimentos iterativos de quadrados mínimos. A degradabilidade efetiva (DE) da MS, MO, PB e FDN no rúmen foi calculada pela equação descrita por Orskov e McDonald (1979):

$$DE = a + ((b \times c) / (c + k))$$

onde:

k = representa a taxa estimada da passagem dos sólidos no rúmen, e os demais parâmetros foram descritos na equação anterior.

As degradabilidades efetivas da MS, MO, PB e FDN foram estimadas para cada tratamento, levando-se em conta as taxas de passagem de sólidos no rúmen de: 2%/h, 5%/h e 8%/h, as quais podem ser atribuídas aos níveis de ingestão alimentar, baixa, média e alta (AFRC, 1993).

Para a degradabilidade ruminal da MS, MO, PB e FDN, os dados obtidos do RUCIN e das silagens de resíduo foram submetidos à análise de variância, utilizando o SAEG (UFV, 1997). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

Foram realizados os ensaios de Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e Digestibilidade *in vitro* da parede celular (DIVPC) do resíduo úmido de cervejaria *in natura* e das silagens.

Para a determinação da DIVMS foi adotada a técnica descrita por Tilley e Terry (1963) adaptada ao Rúmen Artificial, desenvolvido pela ANKOM[®], conforme metodologia descrita por Holden (1999), e para a DIVPC foi utilizada a metodologia descrita por Goering e Van Soest (1975).

Para avaliação da digestibilidade *in vitro* das silagens, foi pesado 0,25 gramas de amostra pré secas em estufa de circulação de ar forçada a 55°C por 72 horas, moídas a 1mm, colocadas em sacos de TNT (tecido não tecido) e incubados em jarros contendo líquido de rúmen e solução tampão.

Foram realizadas três coletas de líquido ruminal, com intervalos de uma semana, utilizando-se uma vaca Holandesa P&B, multípara, com peso médio de 550 Kg e munida de cânula ruminal. O animal foi mantido em piquetes de grama estrela (*Cynodon nlemfuensis*), recebendo suplementação alimentar com concentrado, silagem de milho e mistura mineral.

O líquido ruminal foi homogeneizado em liquidificador, filtrado e cerca de 400 mL foram adicionados aos jarros contendo a solução tampão, sendo, em seguida, colocados os sacos de TNT. Os jarros foram fechados com tampa dotada de válvula para escape dos gases. As condições de anaerobiose foram mantidas pela adição

de CO₂ no momento da homogeneização do líquido ruminal e enquanto estes eram adicionados aos jarros.

Para a determinação da DIVMS os sacos de TNT contendo as amostras permaneceram incubados por 48 horas, à temperatura de 39°C. Ao término deste período foi acrescentado solução de HCl – Pepsina (1:10.000) na proporção de 6,68 ml/amostra, permanecendo por mais 24 horas incubado.

Ao final do período de incubação, os sacos de TNT foram retirados e lavados em água destilada até a total retirada dos materiais aderentes ao filtro e após, secos em estufa de circulação de forçada de ar por 8 horas a 105°C, determinando-se a matéria seca.

A DIVMS foi calculada pela diferença entre a quantidade incubada e o resíduo que permaneceu no filtro após a incubação:

$$\text{DIVMS} = (\text{MS do alimento Inicial} - \text{MS do alimento Residual}) / \text{MS do alimento Inicial} * 100$$

Para determinação da DIVPC foi adotada a metodologia descrita por Goering e Van Soest (1975), da qual é abolida a digestão com HCl – Pepsina já que o resíduo da etapa fermentativa é extraído com detergente neutro. A DIVPC foi calculada pela diferença entre a quantidade de FDN incubada e o resíduo após a determinação do FDN do material incubado:

$$\text{DIVPC} = (\text{FDN do alimento Inicial} - \text{FDN do alimento Residual}) / \text{FDN do alimento Inicial} * 100$$

Para a digestibilidade *in vitro* da MS e da parede celular, os dados obtidos do RUCIN e das silagens de resíduo foram submetidos à análise de variância, utilizando o SAEG (UFV, 1997). As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

3.3 Resultados e Discussão

A composição química e os valores médios de temperatura, pH, capacidade tampão (CT) e perdas de matéria seca (PMS) do resíduo úmido de cervejaria (RUC) *in natura* e das silagens de RUC podem ser visualizados na Tabela 3.

Os teores médios de matéria seca (MS) observados para o RUC ficaram próximos aos obtidos por diversos autores na literatura de 9% a 30% (LÓPEZ; PASCUAL, 1981; CARDOSO et al., 1982; LIMA, 1993).

Para o RUC ensilado, os valores de MS diferiram estatisticamente entre as silagens, onde a SiRUCSS apresentou a maior media (49,62%) em virtude da secagem ao sol que o RUC *in natura* foi submetido antes da ensilagem, realizando a pré secagem do material. O elevado teor de matéria seca na SiRUCSS dificultou a compactação, reduzindo a expulsão do ar dos silos, que pode proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos aeróbios e conseqüentemente reduzir o valor nutritivo da silagem.

Tabela 3. Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose e lignina, pH, T°C, capacidade tampão (CT) e perdas de matéria seca (PMS) do resíduo de cervejaria úmido *in natura* e nas silagens de resíduo úmido de cervejaria.

Variáveis	Tratamento ¹				CV%
	RUCIN	SiRUCSS	SiRUCCD	SiRUCSD	
MS (%)	23,85	49,62a	24,13b	20,41c	5,94
MO (%MS)	96,74	96,52b	96,77a	96,42b	0,08
PB (%MS)	24,79	23,73ab	23,24b	25,40a	3,82
EE (%MS)	8,62	8,66b	8,43b	10,85a	6,80
FDN (%MS)	63,66	58,70 ^a	57,46a	56,42a	3,00
FDA (%MS)	19,76	20,61 ^a	21,43a	21,67a	4,89
Celulose (%MS)	14,25	14,94 ^a	15,22a	15,50a	5,17
Lignina (%MS)	4,56	4,55 ^a	5,14a	5,71a	11,56
T°C	27,00	30,00a	30,00a	30,00a	6,09
pH	6,03	4,05b	2,86c	3,57b	9,13
CT	28,23	-	-	-	-
PMS (%MS)	-	0,45c	19,12a	5,75b	29,77

¹RUCIN: resíduo úmido de cervejaria *in natura*; SiRUCSS: silagem de RUC pré seco ao sol; SiRUCCD: silagem de RUC com drenagem de efluentes; SiRUCSD: silagem de RUC sem drenagem de efluentes;

CT: expresso em n.e.mg HCl/100 g MS;

CV: coeficiente de variação;

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si (P>0,05) pelo teste Tukey.

Os teores de MS observados nas silagens permaneceram fora dos padrões considerados ideais para a ensilagem, que é de 30% a 37% (NUSSIO, 1991; VAN SOEST, 1994; BORGES et al., 1997; PESCE et al., 2000) para que se obtenha uma boa fermentação do material ensilado e garanta condições adequadas para obtenção de uma silagem de qualidade. Entretanto, no presente estudo apesar dos teores de MS estarem fora dos padrões considerados ideais, não foi verificado perdas de qualidade da silagem.

O teor médio de MO na SilRUCSD foi de 96,77%, valores médios superiores às demais silagens. Quanto ao teor de PB do RUCIN observou-se valor médio de 24,79%, sendo este inferior ao observado por Geron et al. (2007), que encontraram teor médio de 31,69%, a variação observada na composição bromatológica provavelmente se deve aos procedimentos diversos adotados pelas indústrias cervejeiras, promovendo uma grande variabilidade na composição do resíduo.

O RUCIN e as silagens de RUC com teores de PB em torno de 24% apresentam potencial de utilização como fonte de proteína na alimentação animal, minimizando os custos com suplementação.

Foram constatadas diferenças estatísticas ($P < 0,05$) nos teores médios de PB entre as silagens, o menor teor de PB observado na SilRUCSD (23,24%) pode ser atribuído ao escoamento de efluente. Segundo Johnson et al. (1987) a diminuição no teor de PB pode ser em consequência da deaminação e volatilização da proteína ocorrida nas silagens durante o processo de conservação e após abertura do silo.

O teor de EE (10,85%) na SilRUCSD apresentou a maior média ($P < 0,05$) em relação à SilRUCSS (8,66%), à SilRUCSD (8,43%) e ao RUCIN (8,62). Os resultados referentes ao EE do presente trabalho mostraram-se superiores aos observados por Geron et al. (2007) para o resíduo úmido de cervejaria (5,46%) e para o resíduo de cervejaria fermentado (5,39%).

Quanto aos componentes da fração fibrosa (FDN, FDA, celulose e lignina) das silagens, não foram constatadas diferenças ($P > 0,05$). Porém, registrou-se diminuição dos valores de FDN (58,70%, 57,46% e 56,42%) nas silagens SilRUCSS, SilRUCSD e SilRUCSD respectivamente, comparados ao FDN do RUCIN (63,66%), possivelmente em função de que a acidez pode provocar o decréscimo no conteúdo do FDN de silagens em decorrência da hidrólise ácida da hemicelulose (WOOLFORD, 1984, ROTZ; MUCK, 1994).

Geron et al. (2007) constataram valores médios de FDN de 59,65% para o resíduo de cervejaria úmido e 58,52% para o fermentado, resultados também semelhantes aos do presente estudo.

Quanto aos valores de pH das silagens verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$), com queda acentuada em relação ao pH do material *in natura* (6,03) o que evidencia possível crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico. Após a abertura dos silos, as SilRUCSS, SilRUCSD e SilRUCSD apresentaram valores médios de pH 4,05, 2,86 e 3,57, respectivamente,

demonstrando que ocorreu fermentação adequada. Os valores de pH das silagens apresentaram-se menor que 4,2, sendo considerados ideais, pois é indicativo de possível inibição de microrganismos indesejáveis responsáveis por fermentações secundárias (McDONALD et al., 1991).

A rápida redução no pH após a ensilagem é de extrema importância quando são ensilados materiais com elevados teores de PB, pois quando o pH reduz de 4,5 a 4,0, a atividade de enzimas proteolíticas é inibida (McDONALD et al., 1991).

Apesar de, segundo Woolford (1984), o pH final nas silagens não poder ser considerado isoladamente como critério de avaliação das silagens, pois a inibição de fermentações secundárias depende também da velocidade da queda do pH, da concentração iônica e da umidade do material ensilado, segundo Cherney e Cherney (2003), o pH ainda pode ser considerado como um bom indicador da qualidade da fermentação em silagens com elevado teor de umidade. Porém, para recomendações mais seguras a respeito da qualidade da silagem obtida a partir do RCU são necessárias avaliações do perfil fermentativo para a determinação da velocidade da redução do pH e da inibição da atividade dos microrganismos indesejáveis.

Tosi e Jobim (2001) observam que a capacidade tamponante que um material apresenta é um fator importante para a acidificação da massa ensilada, estando diretamente correlacionado com o abaixamento do pH. A capacidade tampão observada antes da ensilagem no RUCIN (28,23 e.mg de HCl/100 g MS) que pode ser considerada adequada para esse tipo de material pode ter favorecido o abaixamento do pH, porém essa hipótese somente poderá ser confirmada com a avaliação do perfil fermentativo.

Durante o processo fermentativo a resistência à redução do pH é dependente da capacidade tampão do material ensilado, característica inerente de cada material. Segundo Moisis e Heikonen (1994) no caso das forrageiras a capacidade tampão é dependente dos teores de PB nelas presentes, alterando-se com os estágios de maturação da planta.

Segundo McDonald (1991), geralmente, os valores observados para a capacidade tampão no milho são aproximadamente de 15 a 25 e.mg de HCl/100 g MS (McDONALD, 1981), aproximando-se dos valores obtidos para o RUC utilizado neste experimento. Pinto et al. (2007) avaliando silagens de bagaço de laranja e silagem de milho em diferentes períodos de armazenamento observaram que a

capacidade tampão do bagaço de laranja e do milho antes da ensilagem (30,4 e 33,3 e.mg HCl/100 g MS) favoreceram o rápido declínio do pH de 4,1 e 4,6 para 3,5 e 3,9, respectivamente, para a silagem de bagaço de laranja e silagem de milho, com dez dias de armazenamento, fato que pode ter contribuído para boa conservação do valor nutritivo das silagens.

As perdas de MS total nas silagens no período de estocagem de 60 dias estão apresentadas na Tabela 3, observando-se diferenças ($P < 0,05$) entre elas. A maior perda de MS ($P < 0,05$) observada na SilRUCDD (19,12%) em relação aos demais está relacionada ao escoamento do efluente presente na silagem. Segundo Loures e Nussio (2002) o efluente produzido provoca perdas de proteína, carboidratos e minerais, e o volume de efluente produzido é influenciado pelo teor de MS e pelo grau de compactação.

A ensilagem com elevados teores de MS dificulta a compactação, permitindo a presença de oxigênio no meio, promovendo baixa estabilidade aeróbia da silagem e ocasionando aquecimento do material, resultando em perdas de MS. Entretanto, apesar do elevado teor de MS (49,62%) na SilRUCSS do presente estudo, foi constatada a menor perda de MS (0,45%). Esse resultado pode estar relacionado com o pequeno tamanho de partículas do RUC, que pode ter favorecido a compactação em comparação à ensilagem de outros materiais com tamanho de partícula maior, inibindo a presença de oxigênio no interior no silo e contribuindo para a adequada preservação dessa silagem.

Segundo Faria (1986), em condições adequadas de ensilagem normalmente ocorre perdas de matéria seca de aproximadamente 10%, dessa forma é possível inferir que as perdas ocorridas na SilRUCSD (5,75%) podem ser consideradas normais, estando dentro da faixa padrão.

Os parâmetros de degradação (a =fração solúvel, b =fração insolúvel potencialmente degradável, c = taxa de degradação da fração b , DP=degradabilidade potencial, DE=degradabilidade efetiva) da MS, MO, PB e FDN para as taxas de passagem de 2%; 5% e 8%/h do RUCIN e das silagens estão demonstrados na Tabela 4.

A SilRUCSD apresentou valores superiores ($P < 0,05$) para fração a , DP, DE (2%/h, 5%/h e 8%/h) da MS em relação ao RUCIN e às demais silagens. A fração b e a taxa de degradabilidade c não apresentaram diferença ($P < 0,05$).

Tabela 4. Parâmetros de degradação do resíduo úmido *in natura* (RUCIN) e da silagem de RUC pré seca ao sol (SiRUCSS), silagem de RUC com drenagem (SiRUCDD) e silagem de RUC sem drenagem (SiRUCSD).

Variáveis	Tratamentos				CV%
	RUCIN	SiRUCSS	SiRUCDD	SiRUCSD	
Matéria seca (MS)					
a	24,25b	16,69b	24,80b	53,74a	13,46
b	41,28a	49,49a	42,55a	44,39a	16,25
c	0,05a	0,07a	0,06a	0,07a	99,17
DP%	65,53b	66,18b	67,35b	98,13a	11,20
DE (2%/h)	54,03b	54,75b	55,31b	69,56a	7,70
DE (5%/h)	45,26b	45,20b	46,70b	64,88a	10,90
DE (8%/h)	40,49b	39,57b	42,03b	62,97a	11,56
Matéria Orgânica (MO)					
a	16,98b	8,83c	18,51b	48,28a	10,21
b	43,88a	52,55a	46,02a	37,58a	18,62
c	0,06ab	0,07a	0,04ab	0,01b	39,80
DP%	60,86b	61,38b	64,53b	85,87a	12,61
DE (2%/h)	49,10b	49,10b	48,80b	61,17a	5,00
DE (5%/h)	39,97b	39,41b	38,58b	55,22a	7,67
DE (8%/h)	34,90b	33,45b	33,53b	53,05a	8,80
Proteína Bruta (PB)					
a	9,19b	1,52d	7,56c	16,08a	5,85
b	12,25b	18,61a	13,29b	7,48c	3,13
c	0,29a	0,08a	0,09a	0,22a	135,65
DP%	21,44b	20,14d	20,84c	23,57a	0,85
DE (2%/h)	19,76b	16,10c	18,30b	22,13a	4,32
DE (5%/h)	18,12ab	12,57c	15,91bc	20,98a	8,71
DE (8%/h)	17,04ab	10,44c	14,40bc	20,30a	11,45
Fibra em detergente Neutro (FDN)					
a	9,03b	4,10c	7,57bc	20,02a	18,00
b	30,46a	28,82a	36,40a	64,81a	54,84
c	0,02ab	0,04a	0,01b	0,01b	45,12
DP%	39,49b	32,92b	43,98b	84,83a	44,02
DE (2%/h)	23,25b	22,16b	21,01b	26,48a	4,78
DE (5%/h)	17,02b	15,52b	14,52b	23,01a	5,50
DE (8%/h)	14,60b	12,83b	12,26b	21,98a	6,59

a: fração prontamente solúvel no rúmen; b: fração insolúvel, mas potencialmente degradável; c: taxa constante de degradabilidade da fração b; DP: degradabilidade potencial; DE: degradabilidade efetiva;

CV: coeficiente de variação;

Médias na mesma linha, seguidas de letras diferentes, diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Resultados inferiores foram obtidos por Geron et al. (2007), que constataram para as frações *a* (3,8% e 11,1%), DP (65,4% e 66,0), DE2%/h (47,7% e 51,6), DE5%/h (34,4% e 40,2), DE8%/h (27,3% e 33,8) da MS para o resíduo úmido de cervejaria e o resíduo fermentado, respectivamente. Para a fração *b*, os autores constataram 62,0% e 54,9%, para o resíduo úmido de cervejaria e o resíduo fermentado, respectivamente, valores superiores aos do presente estudo. Armentano et al. (1986) observaram para a fração *b* da MS para o resíduo de cervejaria úmido e desidratado, respectivamente, 41% e 42%, os resultados do resíduo úmido assemelha-se ao do presente estudo.

A taxa de degradabilidade *c* da MS não apresentou diferença ($P < 0,05$), observando-se que os resultados variaram de 5,0% a 7,0%, semelhantes aos observados por Geron et al. (2007) que constataram 5,0% e 6,0% para o resíduo úmido e fermentado, respectivamente.

Quanto aos resultados obtidos para a fração *a*, DP e DE 2%/h, 5%/h e 8%/h) da MO, a SiRUCSD apresentou valores superiores ($P < 0,05$) em relação ao RUCIN e às demais silagens.

A fração *b* da MO não apresentou diferença ($P > 0,05$). Quanto aos resultados da taxa de degradabilidade *c*, mostrou-se superior ($P < 0,05$) para a SiRUCSS e menor ($P < 0,05$) para a SiRUCSD, os resultados obtidos para o RUCIN e a SiRUCSD são semelhantes às SiRUCSS e SiRUCSD.

Os valores obtidos para a fração *a*, DP, DE (2%/h, 5%/h e 8%/h) da PB foram superiores ($P < 0,05$) para a SiRUCSD em relação ao RUCIN e às demais silagens.

A fração *b* apresentou resultados superiores ($P < 0,05$) para a SiRUCSS, não diferindo ($P > 0,05$) entre o RUCIN e a SiRUCSD, e o menor resultado ($P < 0,05$) para o parâmetro *b* foi observado na SiRUCSD.

A taxa de degradabilidade *c* da PB não apresentou diferença ($P > 0,05$), observando-se que os resultados variaram de 8,0% a 29,0%, superiores aos valores apresentados por Geron et al. (2007) que constataram 5,0% para o resíduo úmido de cervejaria e 5,0 % para o resíduo fermentado.

Os resultados observados por Geron et al. (2007) para as frações *a* (4,8% e 9,4), *b* (61,1% e 57,9%), DP (65,9% e 67,3%), DE2%/h (47,5% e 49,9%), DE5%/h (34,2% e 37,6%), DE8%/h (27,3% e 31,0%), da PB do resíduo úmido de cervejaria e o resíduo fermentado, respectivamente, mostraram-se superiores ao do presente trabalho.

Armentano et al. (1986) observaram para a fração *b* da PB para o resíduo de cervejaria úmido e desidratado, respectivamente, os resultados de 39,0% e 51,0%, estes se mostraram inferiores aos apresentados por Geron et al. (2007) e superiores ao do presente estudo.

Os resultados para a taxa de degradabilidade *c* da PB observado por Armentano et al. (1986) para o resíduo de cervejaria úmido e desidratado, respectivamente, foram de 4,0% e 7,0%, inferiores ao do presente trabalho.

Valadares Filho et al. (1990) observaram menores valores da fração *b*, DP, DE e a taxa de degradabilidade *c* da PB do resíduo úmido de cervejaria desidratado em comparação ao farelo de soja. Os valores observados por esses autores para o resíduo desidratado e farelo de soja foram, respectivamente, para a fração *b* da PB de 75,2% e 90,9%; taxa de degradabilidade *c* de 2,0% e 7,0%/h; para a DP de 75,0% e 99,0%; e para a DE de 47,9% e 66,6%.

No trabalho desenvolvido por Geron et al. (2007) avaliando a degradabilidade do resíduo comparando-a com o farelo de soja, observaram que os valores obtidos para as frações *a*, *b*, DP, DE e taxa de degradabilidade *c* tanto da MS quanto da PB foram menores ($P < 0,05$) para o resíduo úmido e o fermentado em relação ao farelo de soja, caracterizando-os como fontes de proteína de baixa e mais lenta degradação no rúmen em relação ao farelo de soja. Estes mesmos autores afirmaram que os menores valores ($P < 0,05$) obtidos para a DE da PB do resíduo úmido e do fermentado em relação ao farelo de soja, provavelmente, deve-se a extração dos componentes solúveis durante o processo de maltagem do grão de cevada.

O maior valor ($P < 0,05$) obtido na SilRUCSD para a fração *a* da PB em relação ao RUCIN, provavelmente, tenha sido influenciado pelo processo de fermentação, transformando as proteínas em compostos mais simples. Entretanto, este fato não foi observado nas SilRUCSS e SilRUCCD.

Os resultados observados no presente trabalho para a DE da PB são inferiores aos observados na literatura de 26,0% a 49,0% (CABRAL FILHO, 1999; PEREIRA et al., 1999; Geron, et al. 2007).

Pereira et al. (1999) avaliaram a cinética da degradação ruminal do resíduo úmido de cervejaria submetido a diferentes temperatura de secagem (50°C; 100°C; 134°C e 174°C) e observaram um efeito decrescente da DE da PB do resíduo com o aumento da temperatura. Os autores concluíram que a temperatura de secagem

exerceu efeito considerável sobre a degradabilidade ruminal, o que alterou os valores das frações constituintes da parede celular e da proteína.

Desta forma, pode-se inferir que parte da variação nas frações *a* e *b* da PB do resíduo úmido de cervejaria e do fermentado pode ser em função da pré-secagem (55°C) na estufa de circulação de ar forçado, pela qual os alimentos antes da incubação ruminal, o que pode ter influenciado o conteúdo de nitrogênio associados à FDN e FDA. Segundo Van Soest os valores da proteína não degradada no rúmen, estão associados ao FDN e FDA.

O processo de fermentação anaeróbio e a não drenagem do efluente, pode ter influenciado o aumento na fração *a*, na DP e na DE da MS da SiRUCSD em relação ao RUCIN e às demais silagens. Estes mesmos fatores também podem ter propiciado o aumento ($P < 0,05$) na fração *a*, na DP e na DE da PB.

Na avaliação da cinética de degradação da FDN, observou-se que para fração *a* foram constatadas diferenças ($P < 0,05$), a SiRUCSD apresentou o maior valor (20,02%) e a SiRUCSS o menor valor (4,10%). A SiRUCSD apresentou 7,57% para a fração *a* não diferindo do RUCIN e da SiRUCSS.

A fração *b* da FDN não apresentou diferenças ($P < 0,05$). Os resultados observados referentes à taxa de degradabilidade *c* da FDN foram superiores ($P < 0,05$) para a SiRUCSS, entretanto não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) entre a SiRUCSD e SiRUCSS; e o resultado do RUCIN foi semelhante aos demais.

A SiRUCSD apresentou resultados superiores ($P < 0,05$) para a DP em relação aos demais. Os valores de DE (2%/h, 5%/h e 8%/h) foram superiores ($P < 0,05$) para a SiRUCSD em relação aos demais.

Os resultados obtidos para a degradabilidade *in situ* da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro do resíduo úmido de cervejaria podem ter sido influenciadas pela variação da composição química e qualidade da matéria prima, bem como pelos diferentes processamentos, para a fabricação de cerveja, adotado pelas indústrias.

Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da parede celular (DIVPC) do material *in natura* e das silagens estão demonstrados na Tabela 5. Para a DIVMS houve diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$), de forma que não foi observada diferença significativa entre as silagens (SiRUCSS, SiRUCSD e SiRUCSS), no entanto, estas foram superiores ($P < 0,05$) ao RUCIN.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e da parede celular (DIVPC) do resíduo úmido de cervejaria *in natura* (RUCIN) e da silagem do resíduo úmido de cervejaria pré seco ao sol (SiRUCSS), silagem de RUC com drenagem de efluentes (SiRUCCD), silagem de RUC sem drenagem de efluentes (SiRUCSD).

Variáveis	Tratamento				CV%
	RUCIN	SiRUCSS	SiRUCCD	SiRUCSD	
DIVMS	57,34b	65,65a	65,75a	63,40a	2,09
DIVPC	52,67a	56,70a	53,67a	45,92b	4,18

CV: coeficiente de variação;

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Tukey.

Os coeficientes de DIVMS observados no presente trabalho foram superiores aos encontrados por Geron et al. (2008), que verificaram valores de 42,1% e 43,5% para o resíduo úmido de cervejaria e para o resíduo fermentado, respectivamente.

Senger et al. (2005) avaliando a digestibilidade *in vitro* da silagem de milho com diferentes teores de umidade e níveis de compactação observaram coeficientes médios de DIVMS variando de 46,2% a 57,9%, constatando que esta aumentou significativamente dos níveis mais baixos de MS para os mais altos.

Em experimento avaliando o valor nutritivo da silagem de milho de diferentes cultivares em diversos estádios de maturação, Vilela et al. (2008) constataram que as médias dos coeficientes de DIVMS variaram de 57,6% a 64,5%, valores similares aos do presente estudo. Os autores constataram que a DIVMS foi menor com o avanço do estágio de maturação, provavelmente relacionado com a elevação dos teores de FDA; menor DIVMS também foi observada quando o material foi ensilado com baixo teor de MS, o que causa perda de efluente com a perda de nutrientes digestíveis aumentando a porcentagem de FDA.

Em silagens de gramíneas com elevado teor de umidade a adição de materiais absorventes e/ou nutrientes tem se mostrado uma alternativa viável na ensilagem, promovendo uma melhor qualidade nutricional e diminuindo as perdas por efluente. Andrade e Melotti (2004) avaliando a qualidade da silagem de capim elefante com diversos aditivos observaram valores inferiores aos observados no presente estudo, 43,5% de DIVMS para o material ensilado com 19,9% de matéria seca e quando o capim elefante foi ensilado com aditivos percebeu-se uma tendência de que este tratamento apresentou maiores coeficientes de digestibilidade. A utilização de aditivos na silagem do resíduo úmido de cervejaria

pode ser também uma boa alternativa para elevar os teores de matéria seca e melhorar a qualidade nutricional do ensilado.

Quanto aos coeficientes de digestibilidade *in vitro* da parede celular (DIVPC) da SilRUCSD foi constatado uma menor digestibilidade ($P < 0,05$) neste em relação aos demais.

O elevado teor de FDN verificado no RUCIN e nas silagens está relacionado com os coeficientes de DIVPC, o que pode promover um menor consumo de MS pelos animais, entretanto, são necessárias mais avaliações quanto aos teores de carboidratos estruturais para estimar a extensão da digestão.

3.4 Conclusões

As análises da composição química, digestibilidade *in vitro* e degradabilidade *in situ* do resíduo úmido de cervejaria *in natura* revelaram que o RUC pode ser classificado como alimento volumoso com potencial para utilização na alimentação de ruminantes.

A ensilagem do resíduo úmido de cervejaria pode ser utilizada para sua conservação nas propriedades rurais sem prejuízos à sua qualidade nutricional, entretanto são necessários estudos mais detalhados para a determinação do perfil fermentativo da silagem obtida do resíduo úmido de cervejaria para o aprimoramento das técnicas de ensilagem a serem aplicadas a este material.

3.5 Referências

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. *Energy and protein requirements of ruminant*. Wallingford, UK: CAB International, 1993.

ARMENTANO, L.E.; HERRINGTON, T.A.; POLAN, C.E. et al. Ruminal degradation of dried brewers grains, wet brewers grains, and soybean meal. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2124-33, 1986.

BORGES, A. L. C. C.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M.; ZAGO, C. P.; SAMPAIO, I. B. M. Qualidade de silagens de híbridos de sorgo de porte alto, com diferentes teores de tanino e umidade no colmo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, n.4, p.441-452, 1997.

CABRAL FILHO, S.L.S. **Avaliação do resíduo de cervejaria em dietas de ruminantes através de técnicas nucleares e correlatas**. Piracicaba, 1999. Dissertação (Mestrado)—Universidade de São Paulo.

CARDOSO, R.M.; SILVA, J.F.C.; MOTTA, V.A. et al. Produção de leite de vacas alimentadas com silagem de sorgo suplementada com polpa úmida de cevada. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.11, n.1, p.38-45, 1982.

CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: Buxton *et al.* **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin, USA. p.141-198, 2003.

FARIA, V. P. Técnicas de produção de silagens. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. **Pastagens: fundamentos da exploração racional**. Piracicaba: Fealq, 1986. p. 323-348.

GERON, L.J.; ZEOULA, L.M.; BRANCO, A.F. et al. Caracterização, fracionamento protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado, **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 29, n. 3, p. 291-299, 2007.

GERON, L.J.; ZOULA, L.M.; ERKEL, J.A. et al. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.9, p. 1685-1695, 2008.

GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. 1975. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**, Agriculture Handbook 379. United States Department of Agriculture. 20p., 1975.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 2, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

JOBIM, C.C.; NUSSIO, L.G.; REIS, R.A. et al. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, *suplemento especial*, p.101-119, 2007.

JOHNSON, C.O.L.E.; HUBER, J.T.; KING, K.J. Storage and utilization of wet brewes grains in diets for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n.1, p. 98-107, 1987.

LIMA, M.L.M. **Resíduo de cervejaria úmido: formas de conservação e efeitos sobre parâmetros ruminais**. Piracicaba, 1993. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens)—Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

LÓPEZ, J.D.; PASCUAL, J.L.M. Influence of the drying process on the composition of brewers dried grains. **Animal Feed Science and Technology**, v.6, p.163-168, 1981.

LOURES, D.R.S.; NUSSIO, L.G. **Produção de efluente em silagens úmidas**. Capturado em 20 ago. 2002. Online. Disponível na Internet [http://www.beefpoint.com.br/radares técnicos/conservação de forragens](http://www.beefpoint.com.br/radares_técnicos/conservação_de_forragens).

McDONALD, P.; HENDERSON, N.; HERON, S. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Bucks: Chalcombe Publications, 1991. 340p.

MOISIO, T., HEIKOMEN, M. Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 47, n.1, 107-124, 1994.

NUSSIO, L.G. Cultura do milho para produção de silagem de alto valor alimentício. In: Simpósio sobre nutrição de bovinos, 4. 1991, Piracicaba. **Anais...Piracicaba**: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.58-168, 1991.

ORSKOV, E.R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178p.

ORSKOV, E.R., McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.499-503, 1979.

PASTORINI, L. H. et al. Secagem de material vegetal em forno de microondas para determinação de matéria seca e análises químicas. **Ciência Agrotécnica, Lavras**, v.26, n.6, p.1252-1258, 2002.

PEREIRA, J.C.; GONXÁLEZ, J.; OLIVEIRA, R.L. et al. Cinética de Degradação Ruminal do Bagaço de Cevada Submetido a Diferentes Temperaturas de Secagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.1125-1132, 1999.

PESCE, D. M. C.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M. Porcentagem, perda e digestibilidade *in vitro* da matéria seca das silagens de 20 genótipos de sorgo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 52, n. 3, p. 250-255, 2000.

PINTO, A.P.; MIZUBUTI, I.Y.; RIBEIRO, E.L.A. et al. Avaliação da silagem de bagaço de laranja e silagem de milho em diferentes períodos de armazenamento. **Acta Science Animal Scientiarum**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 371-377, 2007.

PLAYNE, M.J.; McDONALD, P. The buffering constituents of herbage and of silage. **Journal Science of Food and Agriculture**, v.17, p.264-268, 1966.

POLAN, C.E. et al. Milk production response to diets supplemented with dried grains, wet brewers grains, or soybean meal. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 8, p. 2016-2026, 1985.

ROTZ, C.A.; MUCK, R.E. Changes in forages quality during harvest and storage. In: National Conference on **Forage Quality, Evaluation, and Utilization** Held at The University of Nebraska, 1994, Lincoln, p.828 - 868, 1994.

SENGER, C.C.D.; MULBACH, P.R.F.; SANCHEZ, L.M.B. et al. Composição química e digestibilidade '*in vitro*' de silagens de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação, **Ciência Rural**, v.35, n.6, 2005.

SCHEFER, DE ROJAS, S.M. **Efeito de aditivos e do momento de vedação na qualidade da silagem de milho em condições de laboratório**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1976. 83p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, 1976.

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

SILVA, L.D.F., RAMOS, B, M, O., RIBEIRO, E. L. A . et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes teores de inibidores de tripsina, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3. p.1251-1257, 2002.

TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**. Hurley, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

TOSI, H.; JOBIM, C.C. Conservação de forragens: silagem. In: AQUARONE, E. (Ed.). **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 4, p. 491-505.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed., London: Comstock Publishing Associates. 1994. 476p.

VILELA, H.H.; REZENDE, A.V.; VIEIRA, P.F. et al. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.7, p.1192 – 1199, 2008.

WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York: Marcel Dekker, 1984. 350p.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação dos métodos de conservação permite inferir que o armazenamento do RUC em condições aeróbias, comumente utilizado nas propriedades da região, não é adequado para a conservação do material. Visto que ocorreu pronunciado desenvolvimento de microrganismos, que além da deterioração do material ocasionando perdas, poderão também promover o desenvolvimento de toxinas.

A ensilagem do resíduo úmido de cervejaria (RUC) apresenta-se satisfatória, demonstrando ser um eficiente processo de conservação preservando a qualidade nutricional do material, minimizando as perdas pela deterioração observada no material armazenado em condições aeróbias.

O desenvolvimento de microrganismos nas silagens no momento de aberturas dos silos permite inferir que a conservação do material sob a forma de silagem é uma excelente alternativa para a armazenagem do resíduo úmido de cervejaria, entretanto são necessários estudos avaliando o perfil fermentativo e microbiológico da silagem durante o processo de fermentação.

A avaliação da composição químico-bromatológica, digestibilidade *in vitro* e degradabilidade *in situ* do RUC *in natura* e ensilado demonstraram que o material pode ser caracterizado como alimento volumoso com potencial de uso na alimentação de ruminantes.

A digestibilidade da matéria seca do RUC foi semelhante à digestibilidade da silagem de milho, descrita na literatura por diversos autores. A digestibilidade obtida da parede celular é influenciada pelos elevados teores de FDN do material.

Os resultados obtidos para a degradabilidade *in situ* podem ter sido influenciados pela variação da composição química e qualidade da matéria prima, bem como pelos diferentes processamentos adotados pelas indústrias para a fabricação de cerveja. Para um melhor entendimento dos resultados apresentados pelo presente estudo seriam necessários mais estudos quanto à composição da proteína e dos carboidratos, realizando o fracionamento destes compostos.