

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

KLEVES VIEIRA DE ALMEIDA

**SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA E UREIA
PROTEGIDA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO**

Marechal Cândido Rondon - PR

2017

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

KLEVES VIEIRA DE ALMEIDA

**SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA E UREIA
PROTEGIDA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom

Marechal Cândido Rondon - PR

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A447s

Almeida, Kleves Viera de

Silagem de coproduto de fecularia de mandioca e ureia protegida na dieta de vacas em lactação. / Kleves Viera de Almeida. Marechal Cândido Rondon, 2017.

77 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maximiliane Alavarse Zambom

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2017.

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

1. Nutrição animal. I. Zambom, Maximiliane Alavarse. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 20.ed. 636.0852
CIP-NBR 12899

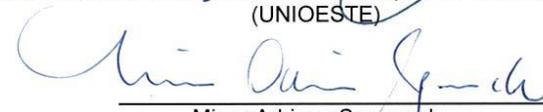
Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejo – CRB 9^o/965

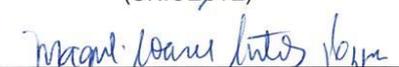
KLEVES VIEIRA DE ALMEIDA

Silagem de coproduto de fecularia de mandioca e ureia protegida na dieta de vacas em lactação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia, Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Ruminantes / Forragicultura", APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:


Orientadora - Maximiliane Alavarse Zambom
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


Mirna Adriane Syperreck
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


Magali Soares dos Santos Pozza
Universidade Estadual de Maringá (UEM)


Luis Carlos Vinhas Itavo
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) (*por videoconferência*)

Marechal Cândido Rondon, 17 de março de 2017.

*A Deus, por me abençoar dia após dia.
Aos meus pais, João Lopes de Almeida e Rosa Vieira de Almeida, por todo incentivo e apoio
nessa caminhada e por serem exemplos de superação na minha vida, motivados sempre a me
educar da melhor forma possível.
Aos meus irmãos, Kleiton, Kassio, Kaio e Keilane, por todas as palavras de conforto e
carinho e por sempre estarem ao meu lado.
A todos...*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar em todos os dias da minha vida e por me dar conforto nos momentos difíceis enfrentados nesta jornada.

A todos os meus amigos e família, pelo apoio e compreensão durante todo o tempo dedicado ao Mestrado.

À minha orientadora, Professora Doutora Maximiliane Alavarse Zambom, pelos seus ensinamentos e por nos adotar como filhos, quando necessário.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por seus conhecimentos repassados, dúvidas sanadas e incentivo à pesquisa.

A todos os meus colegas de Mestrado, por todos os conhecimentos compartilhados.

Ao Sr. Paulo Henrique Morsh, pela eficiência e por toda ajuda e atenção.

Aos colegas do grupo Qualhada[®], que foram essenciais na condução do experimento. Muito obrigado pela paciência e dedicação de todos, especialmente a Ana Ruth Estrela, que me ajudou em todos os momentos possíveis e também ao André, Andressa, Caroline, Everline e Fernando, por sempre estarem dispostos a ajudar da melhor forma possível.

À Pós-Doutoranda, Mirna Syperreck, por toda ajuda nas coletas experimentais e pela amizade.

Aos funcionários da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, da UNIOESTE, por todo auxílio na condução do experimento

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná- UNIOESTE, por ceder seu espaço e estrutura para a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo financiamento da pesquisa através do Processo nº 479276/2013-7.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

"Ando devagar porque já tive pressa e levo esse sorriso porque já chorei demais... Hoje me sinto mais forte mais feliz quem sabe, só levo a certeza de que muito pouco eu sei, ou nada sei. Cada um de nós compõe sua história cada ser em si carrega o dom de ser capaz, de ser feliz..."

(Almir Sater & Renato Teixeira)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade nutricional e microbiológica da silagem do coproduto de fecularia de mandioca (CFM) em função dos tempos de ensilagem 0, 30, 60, 90 e 120 dias, a cinética de fermentação *in vitro* de dietas à base de CFM desidrato ou ensilado associadas a níveis de ureia, bem como avaliar níveis de ureia protegida associada a silagem de coproduto de fecularia de mandioca (SCFM) na dieta de vacas em lactação. Para a avaliação da SCFM adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos e quatro repetições. Para a cinética de fermentação *in vitro* adotou-se um DIC com cinco tratamentos e três repetições. Para o desempenho animal foram utilizadas cinco vacas distribuídas em um quadrado latino 5x5. Os tratamentos avaliados foram os níveis crescentes (0%, 0,4%, 0,8%, 1,2% e 1,6%) de ureia protegida no concentrado. Neste último, foram analisados parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros metabólicos, produção e composição do leite e síntese microbiana. Para a avaliação da SCFM, foram realizadas análises bromatológicas, digestibilidade *in vitro* e perfil microbiológico. A produção de gás *in vitro* foi mensurada a partir da incubação das dietas em frascos equipados com módulos de digestão. O teor de matéria seca da SCFM aumentou linearmente. Não foram constatadas diferenças significativas nos teores de matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos totais. Por outro lado, a fibra em detergente neutro (FDN) aumentou linearmente. Não houve efeito para digestibilidade da matéria seca e matéria orgânica, no entanto a digestibilidade da FDN decresceu linearmente. Houve efeito quadrático para a população das bactérias ácido lácticas. As bactérias do gênero *Clostridium* mantiveram-se constantes ao longo do tempo. Os principais gêneros de fungos presentes na SCFM foram o *Phoma*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Para a produção de gás de dietas utilizando ureia e o CFM desidratado não houve efeito para a fração A. Foi observado efeito linear crescente para a fração C, que compreende o *lag time*, no entanto, a produção total de gases (A +D) não foi afetada. Para as dietas que utilizaram o CFM ensilado não houve efeito para a fração A, assim como para o *lag time*, refletindo no mesmo efeito observado para a produção total de gases (A +D). Não houve efeito para a ingestão de matéria seca e dos nutrientes. A produção do leite não foi influenciada pelos tratamentos, no entanto alguns parâmetros da composição foram afetados. A síntese microbiana não apresentou efeito para os tratamentos, com exceção da alantoína do leite, que aumentou linearmente. A ensilagem do coproduto de fecularia de mandioca foi eficaz até os 120 dias em função das perdas da umidade e conseqüente aumento no teor de matéria seca. A adição de até 1,6 % de ureia associada ao CFM na forma desidratada ou ensilada não altera a produção de gases *in vitro*. Levando-se em consideração o ponto de equilíbrio, o tratamento 1,6% foi o mais rentável em comparação aos demais. Recomenda-se o uso da silagem do coproduto de fecularia de mandioca e até 1,6% de ureia protegida no concentrado sem interferir na ingestão de matéria seca e produção de leite.

Palavras-chave: alimentos alternativos, degradabilidade ruminal, produção de gases *in vitro*, síntese microbiana

CASSAVA STARCH COPRODUCT SILAGE AND PROTECTED UREA IN DIETS FOR DAIRY COWS IN LACTATION

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the nutritional and microbiological quality of the cassava starch coproduct silage (CFM) as a function of the silage times 0, 30, 60, 90 and 120 days, the *in vitro* fermentation kinetics of diets based on CFM dehydrate or silage associated with urea levels, as well as evaluating levels of protected urea associated with cassava starch silage (SCFM) silage in the diet of lactating dairy cows. For the evaluation of the SCFM, a completely randomized experimental design (DIC) with five treatments and four replicates was used. For *in vitro* fermentation kinetics a DIC was used with five treatments and three replicates. Five cows distributed in a 5x5 Latin square were used for the animal performance. The treatments evaluated were the increasing levels (0%, 0.4%, 0.8%, 1.2% and 1.6%) of protected urea in the concentrate. In the latter, parameters of intake and digestibility of dry matter and nutrients, metabolic parameters, milk production and composition and microbial synthesis were analyzed. For the evaluation of SCFM, bromatological analyzes, *in vitro* digestibility and microbiological profile were performed. *In vitro* gas production was measured from the incubation of the diets in flasks equipped with digestion modules. The dry matter content of the SCFM increased linearly. There were no significant differences in organic matter, crude protein, ethereal extract and total carbohydrates. On the other hand, neutral detergent fiber (NDF) increased linearly. There was no effect for digestibility of dry matter and organic matter, however the digestibility of NDF decreased linearly. There was a quadratic effect for the population of lactic acid bacteria. Bacteria of the Clostridium genus have remained constant over time. The main fungi genotypes present in SCFM were Phoma, Cladosporium and Penicillium. For the gas production of diets using urea and dehydrated CFM, there was no effect for fraction A. A linear effect was observed for the fraction C, which comprises lag time, however, the total gas production (A + D) Was not affected. For the diets that used the silage CFM, there was no Fraction A effect, as well as for the lag time, reflecting the same effect observed for the total gas production (A + D). There was no effect on intake of dry matter and nutrients. Milk production was not influenced by the treatments; however some parameters of the composition were affected. The microbial synthesis had no effect on the treatments, with the exception of milk allantoin, which increased linearly. The ensiling of the coproduct of cassava starch was effective up to 120 days due to lowering of moisture and consequent increase in dry matter content. The addition of up to 1.6% of CFM-associated urea in the dehydrated or silage form does not alter gas production *in vitro*. Taking into account the break-even point, treatment 1.6% was the most profitable in comparison to the others. It is recommended to use the silage from the coproduct of cassava starch and up to 1.6% of protected urea in the concentrate without interfering the dry matter intake and milk production.

Keywords: alternative food, rumen degradability, *in vitro* gas production, microbial synthesis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 Revisão	11
2.1 A cultura da Mandioca.....	11
2.2 Coprodutos do processamento da mandioca.....	12
2.3 Processo de ensilagem	14
2.4 Cinética de produção de gases <i>in vitro</i>	16
2.5 Coprodutos de mandioca na alimentação de ruminantes.....	18
2.6 Ureia na alimentação de vacas leiteiras	19
2.7 Eficiência de síntese microbiana.....	21
Referências.....	23
3 QUALIDADE NUTRICIONAL E MICROBIOLÓGICA DA SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA EM FUNÇÃO DOS TEMPOS DE ABERTURA	30
3.1 Introdução	32
3.2 Material e Métodos	33
3.3 Resultados e Discussão	36
3.1 Conclusão.....	41
Referências.....	42
4 CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE DIETAS À BASE DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA DESIDRATADO OU ENSILADO ASSOCIADO A NÍVEIS DE UREIA PROTEGIDA	43
4.1 Introdução	46
4.2 Material e Métodos	47
4.3 Resultados e Discussão	51
4.4 Conclusão.....	54
Referências.....	55
5 UREIA PROTEGIDA ASSOCIADA À SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO.....	58
5.1 Introdução	60
5.2 Material e Métodos	61
5.3 Resultados e Discussão	66
5.4 Conclusão.....	73
Referências.....	74
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a bovinocultura de leite obteve uma produção estimada em mais de 35 bilhões de litros em 2015 (IBGE, 2015). Mesmo havendo uma pequena queda em relação ao ano anterior, estes dados colocam o país na quinta colocação no ranking de produção mundial, ficando atrás apenas da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China (USDA, 2015).

A preocupação com a saúde tem levado muitas pessoas a ingerirem alimentos mais saudáveis e menos processados, o que vem gerando um aumento no consumo de leite e derivados lácteos, ao lado de uma crescente preocupação com a qualidade desses produtos (SILVA e SOUZA, 2006). Além disso, o Brasil conta com políticas públicas que contribuem para a ingestão de leite por meio de programas de distribuição, que tem como principal objetivo suprir a deficiência de cálcio, especialmente para famílias de baixa renda (PEREIRA et al., 2009)

Muitas pesquisas têm buscado a validação científica do uso de coprodutos de agroindústrias na dieta dos ruminantes, através da avaliação de parâmetros nutricionais, produtivos e econômicos que justifiquem sua utilização (FERNANDES et al., 2015; GONÇALVES et al., 2015). No entanto, estes coprodutos considerados como ingredientes alternativos, uma vez que muitos substituem ou reduzem parcialmente os alimentos tradicionais, só deverão ser introduzidos na dieta dos animais após a comprovação do seu real valor nutricional que é estimado geralmente por técnicas menos invasivas, como a digestibilidade e degradabilidade *in vitro*. Desta forma, a recomendação seria feita de forma adequada sem desperdiçar nutrientes ou mesmo comprometer o desempenho produtivo dos animais.

A produção de gases *in vitro* faz a avaliação nutricional de alimentos ou dietas por meio da simulação da fermentação ruminal, a qual correlaciona o volume de gases produzidos através de uma curva cumulativa de produção de gás aos valores da digestão do alimento bem como suas frações solúveis e insolúveis (CAMPOS et al., 2001).

O coproduto de fecularia de mandioca vem sendo muito utilizado em propriedades inseridas em regiões produtoras, sobretudo por conta da fácil aquisição e baixo custo. Este coproduto é um dos alimentos alternativos que tem demonstrado viabilidade de utilização, aumentando a produção de leite e os teores de proteína (LIMA et al., 2015).

Um dos fatores limitantes para o uso do coproduto de fecularia tem sido relacionado ao seu alto teor de umidade, que pode chegar a índices superiores a 85% (JASKO et al., 2011). Desta forma, é necessário o desenvolvimento de técnicas que garantam seu armazenamento por

longos períodos, como o processo de ensilagem, que tem demonstrado viabilidade, sobretudo por haver sazonalidade do coproduto ao longo do ano (GONÇALVES et al., 2014)

O uso de Nitrogênio Não Proteico (NNP) pode influenciar a eficiência alimentar de vacas em lactação, gerando índices produtivos semelhantes às dietas convencionais que utilizam proteína verdadeira (SANTOS et al., 2011). No entanto, por ser uma fonte de rápida degradação ruminal é necessário a utilização de uma fonte de carboidratos com a mesma característica, garantindo eficiência na síntese proteica e consequentemente aumento dos parâmetros produtivos.

Objetivou-se avaliar a qualidade nutricional e microbiológica da silagem de coproduto de fecularia de mandioca (SCFM), a cinética de fermentação *in vitro* de dietas à base do coproduto de fecularia de mandioca ensilado ou desidratado associado a diferentes níveis de ureia, assim como determinar o melhor nível de ureia protegida associada à SCFM na dieta de vacas em lactação.

2. Revisão

2.1 A cultura da Mandioca

A mandioca (*Manihot sculenta* Crantz) é uma planta originária do nordeste brasileiro, cultivada no país antes mesmo da colonização. De acordo com a *Food and Agriculture Organization – FAO* é cultivada por pequenos agricultores em mais de 100 países tropicais e subtropicais. Isso ocorre graças a características únicas da cultura, como uso eficiente da água e dos nutrientes do solo, tolerância a seca e ataques esporádicos de pragas, uso poucos insumos (ou mesmo nenhum), cultivo em áreas com solos pobres e chuvas imprevisíveis (FAO, 2013).

O cultivo da mandioca é direcionado principalmente para alimentação humana, sobretudo para as famílias de classes mais baixas, que utilizam este alimento como fonte primária de carboidratos. No entanto, a mandioca vem sendo explorada cada vez mais na nutrição animal devido ao seu alto valor energético, geralmente por meio do aproveitamento de coprodutos originados do processamento industrial.

A produção mundial de mandioca vem registrando crescimento médio de 13,9% nos últimos cinco anos, atingindo 275 milhões de toneladas no ano de 2013. Neste cenário, o Brasil situa-se como um dos maiores produtores do continente Americano, representando 75% do total produzido pela América do Sul (FAO, 2013). Segundo o IBGE (2015), a produção total da mandioca no Brasil foi de 23.059.704 toneladas, apresentando uma queda de 0,8% em

relação ao ano anterior. No entanto, o Estado do Paraná que atualmente encontra-se na segunda colocação do ranking de produção nacional, com um total de 4.312.946 t, obteve um aumento de 8,9% em relação a 2014, refletido por uma maior área plantada para o cultivo e processamento das raízes.

A matéria prima principal da exploração desta planta encontra-se na raiz ou tubérculo, que de acordo com as análises feitas por Camacho & Cabello (2012), apresenta em sua composição 63% de umidade, 32% de amido, 1,5% de fibra, 0,1% de lipídeos, 0,5% de cinzas, 0,6% de proteínas. Assim, para a indústria o que realmente interessa é a grande fonte de carboidratos que a mandioca possui, a qual tem seu processamento direcionado geralmente para a produção de farinhas ou féculas.

A fécula entra na composição de vários produtos industriais, porém destacam-se a indústria de papel e papelão, os frigoríficos, a indústria alimentícia, a indústria química e a têxtil. A perspectiva em médio prazo é a retomada do crescimento industrial como um todo para que o consumo de fécula também seja aumentado (SEAB, 2016).

2.2 Coprodutos do Processamento da Mandioca

A exploração da mandioca é feita principalmente por indústrias especializadas na retirada do amido para obtenção de farinha e fécula, que são os principais produtos obtidos no processamento. Estes produtos estão presentes na mesa da maioria dos brasileiros, considerando a importância desta cultura para a agricultura familiar, bem como na segurança alimentar e nutricional.

O processamento industrial feito em fecularias consiste na retirada do amido por via úmida, o qual gera matéria prima para a produção da fécula que pode derivar vários produtos como o polvilho, a goma e o sagu, podendo também ser utilizada como ingrediente para a fabricação de embutidos, molhos, sopas, cremes, fermentos, etc. Além da indústria alimentícia, a fécula pode ser usada em diversos setores, dentre os quais destacam-se: a indústria madeireira, têxtil, de cerâmica e também para indústria farmacêutica sendo utilizada na massa de comprimidos e em cremes dentais (EMBRAPA, 2003).

No processamento da mandioca para a produção de fécula, a primeira fase consiste no descascamento mecânico que é feito em equipamentos apropriados (lavador-descascador), que retiram a casca da mandioca por abrasão. Após a passagem pelo lavador-descascador, as raízes ainda podem ter alguma parte da casca aderida, necessitando de um rápido repasse manual,

chamado de repinicagem, para sua retirada. Essa operação exige um depósito de raízes já lavadas, de onde são conduzidas por um transportador, no qual são limpas e levadas ao ralador. Os raladores possuem lâminas com serras delgadas e próximas, e a ralação é úmida (feita com a adição de água no ralador). Posteriormente, é feita a extração por meio de peneiras cônicas horizontais, que giram em alta velocidade (EMBRAPA, 2003).

A última fase consiste na secagem, a qual é feita geralmente em sistemas que empregam filtros rotativos a vácuo e utilizam secadores pneumáticos para remoção de água, nos quais a secagem é feita por ar quente (100°C a 110°C). Por fim, é feita a moagem e o armazenamento para posterior distribuição (EMBRAPA, 2003).

Durante o processamento são gerados coprodutos que têm sido utilizados na alimentação animal, são eles: farelo de farinha de mesa (produto da fabricação da farinha de mesa, semelhante a fécula) e farinha de varredura (pó e resíduo de farinha, retirado do chão e equipamentos das indústrias processadoras da mandioca) (EMBRAPA, 2010). Além destes, é gerado o coproduto de fecularia de mandioca, também denominado bagaço, farelo, massa de mandioca, massa de fecularia e resíduo de fécula, o qual é composto pelo material fibroso da raiz e o amido residual (RODRIGUES et al., 2011).

A parte superior da planta também pode ser utilizada na alimentação animal, na forma *in natura*, feno e silagem, esta última possuindo um índice de 19,5% proteína bruta e pode ser utilizada em até 60% de substituição a silagem de milho na dieta de vacas leiteiras sem alteração no consumo e digestibilidade dos nutrientes (MODESTO et al., 2004; MODESTO, et al., 2007).

Os coprodutos da mandioca são amplamente utilizados na alimentação animal, geralmente quando o intuito é a redução dos custos de produção. Todavia, um dos fatores limitantes tem sido a forma de conservação, pois segundo Jasko et al. (2011) o coproduto de fécula de mandioca possui teores de umidade superiores a 85%. Assim, estratégias como a desidratação ou a ensilagem tem demonstrado viabilidade de conservação.

Fernandes et al. (2015) afirmaram que a secagem do coproduto de fecularia de mandioca é um método que permite sua adequada conservação e redução com transportes, proporcionando um material de melhor qualidade que será fornecido aos animais. No entanto, os custos com processo de desidratação podem interferir na rentabilidade do produto. Desta forma, a ensilagem deste coproduto poderia ser uma alternativa viável e de menor custo, contribuindo para o aumento nos teores de matéria seca a fim de garantir sua conservação por longos períodos (GONÇALVES et al., 2014).

2.3 Processo de Ensilagem

Na produção animal, a busca por melhores índices produtivos tem tido como base estratégias que garantam alimento o ano todo e assim possam atuar com competitividade no mercado. Neste sentido, a busca por alimentos alternativos para suprir a falta de alimento para os animais nos períodos críticos do ano tem sido estudada por diversos autores (PEREIRA et al., 1999; MODESTO et al., 2004; FERREIRA et al., 2007). Assim, foi observado que os coprodutos da mandioca surgem como uma alternativa para a alimentação de ruminantes, principalmente na forma de silagem (MODESTO et al., 2004; GONÇALVES et al., 2015).

O processo de ensilagem baseia-se na conservação da forragem por determinado período e tem como finalidade preservar seu valor nutritivo com o mínimo de perdas. No processo, basicamente, carboidratos solúveis são convertidos em ácidos orgânicos pela ação de microrganismos, que em ambiente anaeróbico proliferam-se e criam condições adequadas à conservação. No entanto, no processo de ensilagem de plantas forrageiras que possuem matéria seca (MS) inferior a 21% e baixa relação entre carboidratos e poder tampão, os riscos de fermentações secundárias são maiores, tornando-se imprescindível o uso de recursos que, de alguma forma, modifiquem esta situação (McDONALD et al., 1991).

Mühlbach (1999) ressaltaram que o processo fermentativo desejável no silo se baseia na ação de bactérias específicas, especialmente dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Streptococcus* que produzem ácido láctico a partir dos açúcares hidrossolúveis da planta. De acordo com McDonald et al. (1991), quando se trata do processo fermentativo, forragens ensiladas com baixos níveis de MS favorecem o crescimento de bactérias do gênero *Clostridium*, as quais os principais produtos finais desse tipo de fermentação são o ácido butírico, H₂O e o CO₂ que, em conjunto, podem determinar perdas da ordem de 50% e 18% para MS e energia, respectivamente.

Alimentos com altos teores de umidade, como é o caso do coproduto de fecularia de mandioca, podem apresentar perdas de efluentes através do escoamento da água adquirida no processamento. De acordo com Rotz & Muck (1994), a produção de efluentes tende a aumentar proporcionalmente ao teor de umidade e pode carrear nutrientes de alta digestibilidade e compostos fundamentais para a fermentação. Desta forma, a silagem perde concentração de nutrientes e pode haver a redução do consumo pelos animais.

Para Nussio et al. (2001), o ponto ideal de matéria seca para a colheita da planta estaria em torno de 33 a 37%. O material colhido ou ensilado com baixos teores de matéria seca favorece o crescimento de bactérias do gênero *Clostridium*, que podem ser divididas em sacarolíticas (*Clostridium tyro butiricum*), que produzem ácido butírico a partir da fermentação

de açúcares e ácido láctico; proteolíticas (*Clostridium sporogenes*) que degradam aminoácidos, formando amônia e aminas e sácaro-proteolíticas (*Clostridium perfringens*) que promovem tanto fermentação quanto proteólise e, conseqüentemente, a produção do nitrogênio amoniacal. Com isso, a silagem perde valor nutricional (SANTOS et al., 2012).

O crescimento de bactérias do gênero *Clostridium* ocorre em teores de umidade acima de 72% e pH em torno de 5,5 (MCDONALD et al., 1991). Logo, o coproduto de fecularia de mandioca é propício para o crescimento de bactérias deste grupo, uma vez que são evidentes os altos teores de umidade em sua composição. De acordo com Nussio et al. (2001), silagens com alto teor de umidade demoram a se estabilizar, o que permite o desenvolvimento destas bactérias indesejáveis que produzem os ácidos orgânicos de baixo poder ionizante, que retardarão a estabilização do pH em valores entre 3,6 e 4,2. Desta forma, ocorrerá o consumo dos carboidratos solúveis que seriam potencialmente utilizados para a fermentação láctica.

O processo da ensilagem do coproduto de fecularia de mandioca deve seguir o mesmo princípio da fermentação anaeróbica utilizada para a conservação de qualquer planta forrageira que é garantir um bom fechamento do silo a fim de evitar possíveis entradas de oxigênio, o que leva a acidificação do pH e conseqüentemente inibe o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

2.4 Cinética de produção de gases *in vitro*

As técnicas de produção de gases *in vitro* foram desenvolvidas para prever a fermentação de alimentos para ruminantes, as quais consistem na incubação do alimento com líquido ruminal e meio de cultura. Os gases produzidos são medidos como indicadores indiretos da cinética de fermentação. Quando o alimento é incubado, este primeiramente é degradado e a fração degradada pode ser fermentada e produzir gases e ácidos da fermentação ou incorporar-se à biomassa microbiana (RYMER et al., 2005). O principal objetivo da técnica de produção de gases *in vitro* é prover informação que é relevante na interpretação de valores nutricionais de alimentos e respostas animais, sobretudo no impacto animal para o ambiente (KRISHNAMOORTHY et al., 2005).

Os sistemas de formulação de dietas para ruminantes necessitam de informações sobre o alimento no que diz respeito às suas frações de carboidratos e proteínas, bem como de suas taxas de digestão, para que se possa estimar com maior exatidão o desempenho dos animais e maximizar a eficiência de utilização dos nutrientes (MOREIRA et al., 2010).

Os parâmetros cinéticos de degradação são importantes porque além de descreverem a digestão, caracterizam as propriedades intrínsecas dos alimentos que limitam a disponibilidade para os ruminantes (MERTENS, 2005). Assim, por meio da estimativa das variáveis da cinética de digestão dos nutrientes no trato gastrintestinal, é possível fornecer dietas mais adequadas, visando a máxima eficiência de síntese de proteína microbiana e também a redução das perdas nitrogenadas e energéticas decorrentes da fermentação ruminal, com observação da sincronização na degradação de nitrogênio e carboidratos no rúmen (MERTENS, 2005).

O *The Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS) categoriza os microrganismos do rúmen como bactérias que fermentam os carboidratos fibrosos (CF) e carboidratos não fibrosos (CNF). Geralmente, as bactérias que fermentam CF degradam celulose e hemicelulose, crescendo lentamente e utilizando a amônia como fonte primária de N para síntese de proteína microbiana. As bactérias que fermentam CNF utilizam açúcares, amido e pectina, e normalmente crescem mais rápido que as CF, podendo utilizar amônia ou aminoácidos como fonte de nitrogênio (SNIFFEN et al., 1992).

A taxa de crescimento bacteriano é determinada pela quantidade de carboidratos (CHOS) digeridos no rúmen, sendo as taxas de degradação (Kd) dos CHOS condicionada a fontes adequadas de nitrogênio e disponibilidade de outros nutrientes essenciais. O CNCPS assume que o crescimento bacteriano é proporcional ao Kd. Esta suposição relaciona-se à hipótese de que o rúmen opera com limitações de substrato, estando a massa microbiana em excesso (RUSSEL et al., 1992).

Os carboidratos são a principal fonte de energia para o crescimento microbiano e a proteína de origem microbiana é a principal fonte de aminoácidos para o hospedeiro. Desta forma, variações nas frações e nas taxas de degradação destas dentro de alimentos, podem afetar o suprimento de proteína microbiana ao intestino delgado e conseqüentemente o desempenho animal (CABRAL et al., 2000). Portanto, torna-se de extrema importância o estudo da cinética da digestão dos carboidratos, tornando possível, por meio de dietas adequadas, sincronizar a disponibilidade de energia e compostos nitrogenados no rúmen (RUSSELL et al., 1992).

Segundo Bueno et al. (2005), os sistemas de produção de gases *in vitro* proporcionaram uma estimativa da digestibilidade da matéria seca (MS) e/ou da matéria orgânica (MO), e são um indicador direto dos produtos finais produzidos, como a produção de gases, e indireta como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). De acordo com Getachew et al. (2004), a quantidade de gases produzidos de um alimento em incubação reflete a produção de AGCC, os quais são a principal fonte de energia dos ruminantes. Os gases surgem diretamente da degradação

microbiana dos alimentos, e indiretamente da reação do tampão com os ácidos gerados como resultado da fermentação.

As taxas de produção de AGCC variam com o tempo após a ingestão, e com o tipo de alimento. Quando o alimento é à base de concentrado, a curva é mais aguda e o pico de produção ocorre em torno de 2 a 3h após a ingestão. De outro modo, quando a dieta consiste de forragem (volumoso), a curva de produção é menos aguda e o pico ocorre em torno de 4 a 5h após a ingestão (KOZLOSKI, 2002). A cinética da degradação ruminal e o ritmo fracional da produção de gases *in vitro* tem se relacionado, com o perfil da proteína, dos carboidratos dos alimentos e com o teor de extrato etéreo. Segundo Russell et al. (1992) e Sniffen et al. (1992), isso permite a sincronização da degradação de nitrogênio e carboidratos no rúmen, obtendo assim a máxima eficiência de síntese de proteína microbiana, redução das perdas energéticas e nitrogenadas provenientes da fermentação ruminal, podendo com isso, predizer com maior precisão o desempenho dos animais por meio dos ingredientes da dieta.

2.5 Coprodutos de mandioca na alimentação de ruminantes

Os coprodutos de agroindústria têm sido amplamente utilizados na nutrição de ruminantes, uma vez que estes animais, ao contrário dos monogástricos, possuem a capacidade de fermentação ruminal, degradando a fibra e aproveitando alimentos considerados residuais. Assim, pesquisas tem sido voltadas para determinar a quantidade ideal da utilização desses ingredientes alternativos, especialmente para animais ruminantes.

JORGE et al. (2002), trabalhando com bezerros holandeses, avaliaram a substituição do milho pela farinha de varredura (0%, 25%, 50%, 75% e 100% na base da matéria seca) e verificaram uma redução no consumo de matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, entretanto, não houve redução no consumo de amido. Os autores concluíram que a farinha de varredura pode ser utilizada em substituição total ao milho na alimentação de bezerros holandeses do desmame até 180 dias de idade, com ganhos de pesos satisfatórios.

Os resultados da substituição (0%, 33%, 67% e 100%) do milho pela farinha de mandioca de varredura, em dietas de cabras Saanen em lactação, foram observados por Mouro et al. (2002), os quais concluíram que o milho pode ser totalmente substituído pela farinha de mandioca de varredura por não alterar a digestão, excreção e digestibilidade da MS e demais nutrientes, além de não alterar a produção e composição do leite.

O coproduto de fecularia de mandioca quando utilizado na forma *in natura* na dieta de vacas em lactação demonstrou eficiência, sem alterações metabólicas ou fisiológicas quando utilizado em até 15% na matéria seca da dieta total (LIMA et al., 2008). Além disso, foi observado melhor eficiência alimentar com a redução de custos com alimentação quando utilizado em até 10% do total de matéria seca da dieta de vacas leiteiras (LIMA et al., 2015).

O trabalho desenvolvido por Zambom et al. (2015) avaliou a substituição do milho pela silagem do coproduto de fecularia de mandioca (0%, 25%, 50%, 75% e 100%), os quais recomendaram o fornecimento para vacas em lactação até 100% de substituição ao milho sem alterações na produção e composição do leite, apesar da ingestão de matéria seca ter reduzido linearmente. Outro método que aperfeiçoa sua utilização seria a desidratação, pois de acordo com Fernandes et al. (2015), este coproduto na forma desidratada pode substituir o milho em até 75% na alimentação de vacas leiteiras.

Fernandes (2015) avaliou a degradabilidade efetiva do coproduto de fecularia de mandioca desidratado e verificou que as taxas de passagem da matéria seca e matéria orgânica não apresentaram diferenças significativas entre o resíduo e o milho. No entanto, autores como Zeoula et al. (1999) afirmaram que existem diferenças quanto à degradabilidade do amido destes alimentos. Segundo Scoton (2003), a degradação do amido da mandioca no rúmen é considerada alta em relação ao milho, contribuindo para o aumento dos ácidos graxos voláteis (AGV) em função do aumento da fermentação ruminal e conseqüentemente provocando maior aporte energético ao animal.

Gonçalves et al. (2015), ao avaliarem a substituição do milho grão moído pela silagem do coproduto de fecularia de mandioca na dieta de ovinos em confinamento (níveis de substituição 0%, 25%, 50%, 75% e 100%), não observaram diferenças significativas na digestibilidade da MS e de outros nutrientes e recomendou a utilização de até 75% deste coproduto na alimentação de ovinos, ressaltando a redução do consumo em níveis superiores.

Neste sentido, o NRC (2001) afirmou que consumo de matéria seca é de grande importância na nutrição de ruminantes, devido ao fornecimento das quantidades de nutrientes acessíveis para a manutenção e produção dos mesmos. Assim, as dietas baseadas na utilização de alimentos alternativos precisam passar por validação científica para que a partir dos resultados obtidos possam surgir as recomendações.

São necessárias pesquisas que avaliem a composição nutricional dos coprodutos de fecularia de mandioca e sua utilização na alimentação de ruminantes, já que o processamento pode prejudicar a disponibilidade de alguns nutrientes e aumentar sua heterogeneidade. A posse

desses conhecimentos servirá como base para o balanceamento das dietas que contenham este ingrediente.

2.6 Ureia na alimentação de vacas leiteiras

Bergen et al. (1967) foram os primeiros pesquisadores ao utilizarem a ureia na dieta de ruminantes e demonstraram que o perfil de aminoácidos essenciais da massa microbiana independia da composição em aminoácidos da dieta ou se o N era suprido por proteína verdadeira ou NNP.

Antes disso, Virtanen (1966) ao trabalhar com vacas em lactação já havia demonstrado que existia a possibilidade de se produzir leite com dietas isentas de proteína verdadeira. Este autor alimentou seis vacas leiteiras por quatro anos consecutivos com dieta purificada contendo ureia ou sais de amônia como única fonte de N, a produção de leite na lactação variou de 1932 a 4325 kg.

A ureia é um intermediário na síntese de proteína microbiana no rúmen, uma vez que a amônia é produto da hidrólise da ureia de origem alimentar, sanguínea ou salivar podendo também ser gerada dentro da célula microbiana por desaminação de aminoácidos (HUBER & KUNG JUNIOR, 1981). O excesso de nitrogênio, a falta ou a deficiência de uma fonte de energia proveniente da dieta aumentam as concentrações de amônia no rúmen, tendo seu pico elevado entre 1 a 2 horas após a alimentação, porém quando se utiliza fontes de proteína verdadeira esse pico acontece em torno de 3 a 5 horas, estando ligada também à degradabilidade ruminal dessas fontes fornecidas (SANTIAGO, 2013).

Segundo Caldas Neto et al. (2008), dietas com fontes de nitrogênio de alta degradabilidade ruminal como é o caso da ureia, podem permitir maior eficiência microbiana e, conseqüentemente, aumentar o aporte de proteínas para o animal, além de permitir dietas com menores custos.

Santos et al. (2006) analisaram o efeito da inclusão de níveis de ureia na dieta de vacas leiteiras do segundo ao sétimo mês de lactação, com produção média de leite no período de 27 kg/dia. Os níveis de inclusão foram de 0%, 0,75%, 1,5% de ureia na MS da dieta, cuja base volumosa era cana-de-açúcar. Nos tratamentos com 0,75% e 1,5% de ureia, o consumo médio de ureia foi, respectivamente, de 125g e 243g por dia. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto ao consumo de matéria seca, produção de leite, produção de leite corrigida para gordura e composição do leite. De acordo com os autores, tais resultados sugerem

que o uso de até 1,5% de ureia na matéria seca da dieta não interfere na produtividade e composição físico-química do leite.

Aguiar et al. (2013), ao trabalharem com dietas de vacas em lactação, à base de silagem de cana-de-açúcar, com relação volumoso:concentrado de 45:55, concluíram que a ureia pode ser adicionada em até 1,75% da matéria seca da dieta, sem prejudicar o consumo, produção e composição físico-química do leite. A inclusão de ureia em até 1,75% da matéria seca da dieta não compromete o rendimento para produção de queijo de minas frescal e a composição físico-química do mesmo.

Aquino et al. (2007) observaram que a ureia adicionada ao concentrado em níveis de até 1,5% na MS da dieta, e fornecida na dieta completa, não alterou o consumo de MS de vacas leiteiras com peso de 560 kg \pm 30 kg entre o segundo e sétimo mês de lactação. A densidade, a crioscopia e o pH do leite não foram influenciados pela inclusão de até 1,5% de ureia na MS da dieta de vacas em meio de lactação, no entanto, a acidez apresentou redução linear conforme aumentou o nível de ureia na dieta. A composição do leite não foi afetada pela substituição do farelo de soja pela ureia. Nas condições deste experimento, a utilização de até 1,5% de ureia na MS não alteraram o desempenho produtivo e as características físico-químicas e de composição do leite.

Os riscos de intoxicação em animais pelo uso inadequado da ureia têm levado as indústrias a desenvolverem produtos que busquem o sincronismo entre a taxa de liberação de amônia no rúmen e a degradação dos carboidratos da dieta (PIRES et al., 2004). Através de determinados processamentos industriais, pode-se reduzir a velocidade de degradação da ureia no rúmen (HARRISON et al., 2006). De acordo com Castañeda-Serrano (2011), ao longo dos anos, várias fontes de NNP foram avaliadas na tentativa de substituir a ureia, dentre elas estão o biureto, a creatina, o diureido e o isobutano, dentre outras. No entanto, a maioria não apresentou resultados consistentes.

A ureia pode ser fisicamente encapsulada por ceras vegetais (Optigen II, Alltech Inc., Nicholasville, USA), que é um processo que visa reduzir a velocidade de liberação do nitrogênio no rúmen. Já foram observadas tendências de aumento na síntese microbiana *in vitro*, quando o Optigen II substituiu a ureia (HARRISON et al., 2006), e aumento na produção de leite, quando substituiu parcialmente o farelo de soja (INOSTROZA et al., 2010).

No trabalho realizado por Santos et al. (2011), com vacas holandesas de 650 kg, no qual avaliarem a substituição parcial de farelo de soja por mistura isonitrogenada de Optigen® II e polpa cítrica, foi verificado tendência de aumento na relação entre a produção diária de leite e a ingestão de matéria seca. Além disso, Souza et al. (2010) observaram que a substituição de

farelo de soja por mistura isonitrogenada de Optigen® II e casca de soja não reduziu o desempenho de vacas com produção diária de 38 kg em média.

2.7 Eficiência de Síntese Microbiana

A utilização dos derivados de purinas por intermédio da excreção urinária para estimar a produção de proteína microbiana apresenta várias vantagens, como rapidez e facilidade na obtenção de amostras. E, ainda, por se tratar de um método não invasivo, ou seja, sem a necessidade da utilização de animais fistulados, evita alterações do comportamento ingestivo, não comprometendo o bem-estar dos animais experimentais.

Chen & Gomes (1992) propuseram que as coletas de urina deveriam ser feitas durante, pelos menos, cinco dias, o que impõe uma grande dificuldade em sua realização, principalmente se tratando de trabalhos com animais em pastejo. A metodologia utilizada para facilitar o processo de coleta de urina é com base em amostras “*spot*”, que consistem de uma única amostra obtida por micção espontânea, aproximadamente, quatro horas após o fornecimento da ração aos animais, visto que a excreção de creatinina é constante e não é influenciada por tratamentos experimentais. Nesta metodologia, o volume urinário é obtido dividindo-se a excreção diária de creatinina por sua concentração na urina “*spot*” (VALADARES et al., 1999).

De acordo com Silva & Leão (1979) e Fregadolli et al. (2001), no compartimento ruminal o nitrogênio presente pode ser oriundo de duas fontes: o de origem endógena, derivado da reciclagem da ureia, das células epiteliais de descamação e do processo de lise das células microbianas, e o de origem dietética, composto pela proteína verdadeira e pelo nitrogênio-não-proteico.

A disponibilidade de nitrogênio e energia no rúmen são os principais fatores que limitam o crescimento microbiano (CLARK et al., 1992). Por outro lado, a passagem de aminoácidos para o intestino delgado é afetado por fatores que estão relacionados com a velocidade e a intensidade de degradação da proteína dietética no rúmen. Ainda deve-se considerar que, pelo fato de ser responsável pelo aporte de energia, a disponibilidade de carboidratos também pode afetar a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados (RUSSELL & HESPELL, 1981; CAVALCANTE et al., 2006).

A maioria dos microrganismos do rúmen, em especial os celulolíticos, utiliza a amônia como fonte de nitrogênio para realizar a produção de proteína microbiana (MAGALHÃES et al., 2005). A presença do nitrogênio amoniacal no ambiente ruminal é fator primordial para o crescimento microbiano, desde que associada a uma fonte de energia adequada. Com isso,

havendo uma produção excessiva de amônia e sua conseqüente absorção ruminal, ocorrerá o aumento da excreção urinária de compostos nitrogenados (RUSSELL et al., 1992; HRISTOV et al., 2004), contribuindo para o aumento na produção de ureia, com conseqüente gasto energético e perda de nitrogênio.

De acordo com Russell et al. (1992), a amônia ruminal resultante do processo de proteólise bacteriana, que se encontra livre e em excesso no ambiente ruminal é absorvido pela parede posterior do rúmen e reaproveitada pelo organismo sob a forma de ureia. Para tanto, a amônia é levada pela corrente sanguínea para o fígado (ciclo da ureia). Assim, há uma relação direta de proporcionalidade entre a amônia produzida no rúmen e a quantidade de ureia formada pelo fígado (HARMEYER & MARTENS, 1980).

A concentração de ureia plasmática também está relacionada diretamente ao aporte proteico e à relação proteína/energia da dieta. A concentração de ureia encontrada na urina está correlacionada positivamente com as concentrações de nitrogênio no plasma e com a ingestão de nitrogênio (VAN SOEST, 1994), ganhando o caráter de indicativo de eficiência de utilização do nitrogênio ruminal.

Dessa forma, é perfeitamente possível avaliar o estado nutricional dos animais com a concretização do balanço nutricional por meio dos produtos absorvidos e da extensão das perdas excretadas. Este estado pode ter efeito direto na sua resposta produtiva (CHEN & GOMES, 1992).

Com base no que foi exposto, a utilização de uma fonte de carboidratos de rápida degradação, no caso o coproduto de fecularia de mandioca, em associação a ureia na forma encapsulada, que supõem-se ter uma taxa de liberação ruminal semelhante, poderia contribuir positivamente para a síntese de proteína microbiana de vacas em lactação.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, J.J.S.; PRADO, I.N.; PEROTTO, D. et al. Digestibilidade de dietas contendo resíduo úmido de mandioca em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.512-518, 2006.
- AGUIAR, A. C. R.; OLIVEIRA, C. R.; CALDEIRA, L. A. et al. Consumo, produção e composição do leite e do queijo de vacas alimentadas com níveis crescentes de ureia. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.20, n.1, p.37-42, 2013.
- AQUINO, A. A.; BOTARO, B. G.; IKEDA, F. S. et al. Efeito de níveis crescentes de ureia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.881-887, 2007.
- BERGEN, W.G.; PURSER, D.B.; CLINE, J.H. Enzymatic determination of the protein quality of individual rumen bacteria. **Journal of Nutrition**, v.92, n.3, p.357-364, 1967.
- BUENO, I. C. S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P. et al. Influence of inoculums source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123–124, p. 95–105, 2005.
- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 2087-2098, 2000.
- CALDAS NETO S.F.; ZEOULA L.M.; BRANCO A.F. et al. Mandioca e Resíduos das Farinhas na Alimentação de Ruminantes: Digestibilidade Total e Parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2099-2108, 2000.
- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, p1094-1102, 2008.
- CAMACHO, I.A.O.; CABELLO, C. Caracterização dos Resíduos do Processamento de Mandioca para a Produção de Bioetanol. **Revista Energia na Agricultura**, v.27, n.1, p.82-88, 2012.
- CAMPOS, F. P.; SAMPAIO, A. A. M.; VIEIRA, P. F. et al. Digestibilidade *in vitro*/gás de volumosos exclusivos ou combinados avaliados pelo resíduo remanescente da digestão da matéria seca e produção de gás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1579-1589, 2001.
- CASTAÑEDA SERRANO, R.D. **Glicerina bruta e ureia de liberação lenta na alimentação de bovinos de corte**. 2011. 49p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.
- CAVALCANTE, M.A.B.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos

nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 203-210, 2006.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. (Occasional publication) **International Feed Research Unit**. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21p. 1992.

CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

EMBRAPA - MANDIOCA E FRUTICULTURA. Mandioca: Perguntas e Respostas 2010 Disponível em <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.perguntas_e_respostasmandioca.php> Acesso em: 22/02/2017

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Iniciando um pequeno grande negócio - Processamento da mandioca. 2003. **Série agronegócios**. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/993937/iniciando-um-pequeno-grande-negocio-agroindustrial-processamento-da-mandioca>> Acesso em 25/02/2017

FERNANDES, T. **Utilização de resíduo da extração do amido da mandioca seco na alimentação de ruminantes**. Dissertação (Mestrado). Mestrado em zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus Marechal Cândido Rondon – PR. 69p, 2014.

FERNANDES, T.; ZAMBOM, M.A.; CASTAGNARA, D.D. et al. Use of dried waste of cassava starch extraction for feeding lactating cows. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.87, n.2, p. 1101-111, 2015.

FERREIRA, G. D. G; OLIVEIRA, R. L. CARDOSO, E. C.; MAGALHÃES, A. L. R.; BRITO, E. L. Valor nutritivo de coprodutos da mandioca. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.364-374, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO.Roma, 2013. **Statistical Databases**. Disponível em <<http://www.fao.org/ag/save-and-grow/cassava/pt/index.html>> Acesso em 28/02/2017.

FREGADOLLI, F.L.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Efeito das fontes de amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais. 1: Digestibilidade parcial e total. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p.858-869, 2001.

GETACHEW, G.; ROBINSON, P. H.; DEPETERS, E. J. et al. Relationship between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 111, n. 1-4, p. 57-71, 2004.

GONÇALVES, J.A.G.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. Composição químico-bromatológica e perfil de fermentação da silagem de resíduo úmido de fécula de mandioca. **Bioscience Journal**, v.30, n.2, p.502-511, 2014.

- GONÇALVES, J.A.G.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. Silagem de resíduo da extração de amido da mandioca em substituição ao milho moído da ração para ovinos. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.16, n.4, p.839-849, 2015.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 10, p. 1707-1728, 1980.
- HARRISON, G.A.; TRICARICO, J.M.; DAWSON, K.A. Effects of urea and Optigen® II on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in rumen-simulating cultures. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 22., 2006, Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech, 2006. (CD-ROM).
- HENDERSON, N. 1993. Silage additives. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, n.1, p. 35-56, 1993.
- HRISTOV, A.N.; ETTER, R.P.; ROPP, J.K. et al. Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3219-3229, 2004.
- HUBER, J.T.; KUNG JUNIOR, L. Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.64, n.6, p.1170-1195,1981.
- INOSTROZA, J.F.; SHAVER, R.D.; CABRERA, V.E. et al. Effect of diets containing a controlled-release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. **The Professional Animal Scientist**, v.26, p.175-180, 2010.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS - IBGE. Indicadores IBGE, Estatística da Produção Pecuária, 2015. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2015>> Acesso em 31/01/2016
- JASKO, A.C.; ANDRADE, J.; CAMPOS, P.F. et al. Caracterização físico-química de bagaço de mandioca in natura e após tratamento hidrolítico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.5, p.427-441, 2011. Supl.
- JORGE, J.R.V; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. do. et al. Substituição do Milho pela Farinha de Varredura (*Manihot esculenta*, Crantz) na Ração de Bezerros Holandeses. 2. Desempenho e parâmetros sanguíneos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.192-204,2002.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: 1ª Ed. UFSM –Universidade Federal de Santa Maria, 2002. p. 140.
- KRISHNAMOORTHY, U.; RYMER, C.; ROBINSON, P. H. The in vitro gas production technique: limitations and opportunities. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, n.1, p. 1-7, 2005.
- LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. et al. Bagaço de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na dieta de vacas leiteiras: consumo de nutrientes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.1004-1010, 2008.

- LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. et al. Milk production and economic assessment of cassava bagasse in the feed of dairy cows. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 37, n. 3, p. 307-313, July-Sept., 2015.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de Proteína Microbiana, Concentração Plasmática de Uréia e Excreções de Uréia em Novilhos Alimentados com Diferentes Níveis de Uréia ou Casca de Algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1400-1407, 2005.
- MARQUES, J.A.; PRADO, I.N.; ZEOULA, L.M. et al. Avaliação da mandioca e seus resíduos industriais em substituição ao milho no desempenho de novilhas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1528-1536, 2000.
- MCDONALD, P.J, HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. The biochemistry of silage(2Ed) **Mallow Chalcombe Publications**, ISBN 0948617225 1991. 340p.
- MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2.ed. Wallingford: CABI Publishing, p.13-47, 2005.
- MODESTO, E.C.; SANTOS, G. T.; VILELA, D. et al. Caracterização químico- bromatológica da silagem do terço superior da rama de mandioca. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, n.1, p.37-146, 2004.
- MODESTO, E.C.; SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C. et al. Substituição da silagem de milho pela silagem de rama de mandioca na alimentação de vacas leiteiras: consumo e digestibilidade dos nutrientes. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 29, n. 4, p. 359-364, 2007.
- MODESTO, E.C.; SANTOS, G.T.; ZAMBOM, M.A. et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em vacas gestantes alimentadas com silagem de rama de mandioca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.5, p.944-950, 2008.
- MORAIS, J.P.G. Silagem de gramíneas tropicais. In: Anais do 7º Simpósio sobre nutrição de bovinos. Tema: Alimentação suplementar. FEALQ, 1999.
- MOREIRA, P.C.; REIS, R.B.; REZENDE, P.L.P. et al. Produção cumulativa de gases e parâmetros de France avaliados pela técnica semi-automática in vitro de fontes de carboidratos de ruminantes. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p. 452-462, 2010.
- MOURO, G.F.; BRANCO, A.F.; MACEDO, F.A.F. de et al. Substituição do milho pela farinha de mandioca de varredura em dietas de cabras em lactação: Produção e composição do leite e digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1p.475-483, 2002.
- MÜLBACH, P.R.F. Silagem: produção com controle de perdas. In: LOBATO, J.F.P., BARCELLOS, J.O.J.; KESSLER, A.M. et al. (Eds.) **Produção de bovinos de corte**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 1999. p.97-120.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, D.C: National Academy Press, p.381, 2001.

- NUSSIO, L.G.; SIMAS, J.M.C.; LIMA, M. M. Determinação do ponto de maturidade do milho para silagem. In: Luiz Gustavo Nussio; Maity Zopollato; José Carlos de Moura. (Org.). **Anais... 2º Workshop sobre milho para silagem.** 1 ed. Piracicaba-SP: FEALQ, 2001, v. 1, p. 11-26.
- PEREIRA, C. R, BANYS, V. L., SILVA, A. C., PEREIRA, R. G. A. Adição de Popa cítrica peletizada na ensilagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) cv. Cameron, **Revista da Universidade de Alfenas**, v.5, p.147-152, 1999.
- PEREIRA, G. A. P.; GENARO, P. S.; PINHEIRO, M. M. et al. Dietary calcium – strategies to optimize intake. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.49, n. 2, p.164-80, 2009.
- PEREIRA, R.G.A.; TOWNSEND, C.R.; COSTA, N.L.; MAGALHÃES, J.A. **Processos de ensilagem e plantas a ensilar.** Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2008.
- PIRES, A.V.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.C.; FERNANDES, J.J.R.; SUSIN, I.; SANTOS, F.A.P.; ARAÚJO, R.C.; GOULART, R.C.D. Substituição do farelo de soja por ureia ou amireia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.937-942, 2004.
- RAMALHO, R.P.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C. et al. Substituição do milho pela raspa de mandioca em dietas para vacas primíparas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1221-1227, 2006.
- RODRIGUES, J.P.M.; CALIARI, M.; ASQUIERI, E.R. Caracterização e análise sensorial de biscoitos de polvilho elaborados com diferentes níveis de farelo de mandioca. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p. 2196-2202, 2011.
- ROTZ, C.A.; MUCK, E.M. Changes in forage quality during harvest and storage. In: FAREY JR., G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**, p.828-868, 1994.
- RUSSEL, J.B.; HESPELL, R.B. Microbial rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 6, p. 1153-1169, 1981.
- RUSSELL, J. B.; O’CONNOR, J. D.; FOX, D. G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3551-3561, 1992.
- RUSSELL, J.B.; O’CONNOR, J.D.; FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.
- RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A. et al. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123- 124, n. 1, p. 9-30,2005.
- SANTIAGO, B.T. **Ureia de liberação lenta em dietas de vacas mestiças em lactação.** Dissertação (Mestrado). Mestrado em zootecnia. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Campus Diamantina – MG. 43p, 2013.

- SANTOS, E.M.; PINHO, R.M.A. BEZERRA, H.F. Avaliação microbiológica de silagens. In SIMPÓSIO MARANHENSE DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES A PASTO. 2012, Chapadinha. **Anais...** Chapadinha, MA: SIMPRUPASTO, 2012. p.91-127.
- SANTOS, F.A.P.; CARMO, C.A.; MARTINEZ, J.C. et al. Desempenho de vacas em lactação recebendo dietas com diferentes teores de amido total, acrescidas ou não de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 4, p. 1568-1575, 2006.
- SANTOS, J.F.; DIAS JÚNIOR, G.S.; BITENCOURT, L.L. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.423-432, 2011.
- SCOTON, R. A. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada e/ou raspa de mandioca na dieta de vacas leiteiras em final de lactação**. 2003. 55p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- SEAB – SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Análise da conjuntura pecuária – Mandioca**. 2016. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/mandioca_2015_16.pdf> Acesso em 28/02/2017.
- SILVA, C.J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Editora Livro ceres, Piracicaba, 1979. 380p.
- SILVA, S.; SOUZA, C. **Avaliação microbiológica de queijo tipo minas frescal comercializado na cidade de Belém - Pará**. Belém: Laboratório Central do Estado do Pará; Centro Tecnológico da Universidade Federal do Pará, 2006.
- SNIFFEN, C.J.; O’CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992.
- SOUZA, V.L.; ALMEIDA, R.; SILVA, D.F.F. et al. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1415-1422, 2010.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Washington DC: USDA, 2014.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, S.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca. Comstock Publishing. 1994. 476 p.
- VIRTANEN, A.I. Milk production of cows on protein-free feed. **Science**, NewYork, v.153, p.1603-1614, 1966.

ZAMBOM, M. A.; FERNANDES, T; SCHMIDT, E. L. et al. Silage of residue from the extraction of cassava starch in diets from lactating Holstein cows. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.3, p.1701-1712, 2015.

ZEOULA, L.M.; MARTINS, A.S.; ALCALDE, C.R. et al. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.905-912, 1999.

3 QUALIDADE NUTRICIONAL E MICROBIOLÓGICA DA SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA EM FUNÇÃO DOS TEMPOS DE ENSILAGEM

Resumo: Objetivou-se avaliar a composição bromatológica e a qualidade microbiológica da silagem de coproduto de fecularia de mandioca (SCFM) em função dos tempos de ensilagem. A ensilagem foi realizada em 16 manilhas de concreto com capacidade de aproximadamente 1000 kg, vedadas previamente com lona plástica. As avaliações foram realizadas no tempo zero e nas aberturas aos 30, 60, 90 e 120 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos representados pelos tempos e quatro repetições cada. O teor de matéria seca aumentou linearmente em função da perda de umidade do coproduto ao longo do tempo. Não foram constatadas diferenças significativas nos teores de matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos totais. Por outro lado, a fibra em detergente neutro aumentou linearmente. Em contrapartida, os carboidratos não fibrosos apresentaram efeitos lineares decrescentes. A digestibilidade da matéria seca e matéria orgânica não apresentaram efeito, no entanto, a digestibilidade do FDN diminuiu linearmente. Houve efeito quadrático para a população das bactérias ácido lácticas. As enterobactérias diminuíram linearmente, chegando a ausência a partir dos 60 dias. O grupo de bactérias do gênero *Clostridium* não demonstrou efeito significativo. Para as leveduras, observou-se efeito quadrático e os principais fungos presentes na silagem foram os do gênero *Phoma*, *Cladosporium* e *Penicillium*. A ensilagem do coproduto de fecularia de mandioca foi eficaz até os 120 dias em função das perdas de umidade e consequente aumento no teor de matéria seca. No entanto, são necessárias estratégias que otimizem o processo de ensilagem para garantir condições anaeróbicas e inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Palavras-chave: ácido lácticas, digestibilidade *in vitro*, fermentação anaeróbica, *Manihot esculenta* Crantz, umidade

3 NUTRITIONAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE SILAGE OF CASSAVA COPRODUCT IN FUNCTION OF SILAGE TIMES

Abstract: The objective of this study was to evaluate the microbial composition and microbiological quality of cassava starch silage (SCFM) as a function of silage times. The ensiling was accomplished in 16 concrete shackles with capacity of approximately 1000 kg, sealed previously with plastic canvas. The evaluations were performed at time zero and in the openings at 30, 60, 90 and 120 days. The experimental design was the completely randomized with five treatments represented by the times and four replicates each. The dry matter content increased linearly as a function of the loss of moisture of the co-product over time. There were no significant differences in organic matter, crude protein, ethereal extract and total carbohydrates. On the other hand, the neutral detergent fiber increased linearly. In contrast, non-fibrous carbohydrates presented linear decreasing effects. The digestibility of dry matter and organic matter did not show any effect, however, the digestibility of NDF decreased linearly. There was a quadratic effect for the population of lactic acid bacteria. Enterobacteria decreased linearly, even disappearing after 60 days. The group of bacteria of the genus *Clostridium* showed no significant effect. For the yeasts, a quadratic effect was observed and the main fungi present in the silage were *Phoma*, *Cladosporium* and *Penicillium*. The ensiling of the coproduct of cassava starch was effective up to 120 days due to lowering of moisture and consequent increase in dry matter content. However, strategies are needed that optimize the ensiling process to ensure anaerobic conditions and inhibit the growth of undesirable microorganisms.

Keywords: lactic acid, *in vitro* digestibility, anaerobic fermentation, *Manihot esculenta* Crantz, humidity

3.1 Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura nativa do Brasil e constitui um dos principais alimentos energéticos utilizados para alimentação humana, especialmente nos países em desenvolvimento, tendo grande importância para a agricultura familiar, já que é cultivada na maioria das vezes em pequenas áreas com baixo nível tecnológico (EMBRAPA, 2012). Além disso, é uma planta considerada de fácil cultivo e bem adaptada a diferentes solos, o que tem aumentado os índices produtivos, sobretudo por conta da exploração pelas grandes indústrias.

Neste sentido, a produção de fécula, que é um dos principais produtos do processamento de extração do amido da mandioca, gera coprodutos que têm sido utilizados na alimentação animal por muitos produtores inseridos em regiões de alta produção de mandioca, fato que tem despertado o interesse de pesquisadores para a validação científica destes alimentos para a nutrição animal.

De acordo com Souza et al. (2012) a utilização destes coprodutos tem permitido a redução nos custos com a alimentação de ruminantes. Assim, para que o produtor possa atuar com competitividade no mercado, são necessários investimentos em alimentos com valor nutritivo comprovado e de custo reduzido.

O coproduto de fecularia de mandioca é considerado um alimento alternativo que substituindo ou reduzindo o uso de alimentos mais onerosos como o milho e farelo de soja. Todavia, devido ao processamento da mandioca que é feito de forma úmida, este coproduto possui altos teores de umidade, podendo chegar a 85% (JASKO et al., 2011).

O processo de ensilagem poderia ser uma forma viável de conservação do coproduto de fecularia de mandioca por longos períodos, o que pode garantir sua utilização ano todo, visto que há sazonalidade em função da produção, com maiores ofertas na época pós-colheita que acontece geralmente entre maio e agosto no Estado do Paraná (EMBRAPA, 2003).

Gonçalves et al. (2014) afirmaram que a ensilagem do coproduto de fecularia até os 56 dias foi eficaz para aumentar do teor de matéria seca nas formas pré-seca e *in natura* em apresentar alterações preponderantes no perfil fermentativo e microbiológico da silagem.

Objetivou-se avaliar a qualidade nutricional, a digestibilidade *in vitro* e o perfil microbiológico da silagem de coproduto de fecularia de mandioca em função dos tempos de ensilagem.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite da Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, no período de janeiro a julho de 2016. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal e as análises microbiológicas foram desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia, ambos pertencentes à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR.

O coproduto de fecularia de mandioca foi adquirido na forma úmida após o processo de retirada do amido de uma indústria localizada no município de Marechal Cândido Rondon – PR. Foram coletadas quatro amostras do material para representar o tempo zero, antes da ensilagem, sendo posteriormente submetidas análises microbiológicas e bromatológicas e mensuração do pH.

Com o auxílio de uma retroescavadeira, o coproduto foi depositado em 16 manilhas de concreto com capacidade para aproximadamente 1000 kg, as quais foram previamente envolvidas com lona plástica na parte interna e no fundo foi colocado feno para evitar o contato direto com o solo. Posteriormente, as manilhas foram seladas com lona plástica preta e cobertas com sacos de ráfia cheios de terra para evitar a entrada de oxigênio e garantir a fermentação do material.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, representados pelos tempos: 0 (antes da ensilagem do coproduto) e em função dos tempos de abertura, 30, 60, 90 e 120 dias, com quatro repetições cada.

Durante a abertura dos silos foi retirada uma camada de 10cm da superfície a fim de evitar contaminação das amostras. As amostragens foram feitas em cinco pontos diferentes de cada silo e retiradas as quantidades suficientes para as análises microbiológicas, bromatológicas e de pH.

Em função de cada período de abertura dos silos foi feito o monitoramento do pH segundo a metodologia descrita por Cherney & Cherney (2003), que consiste em adicionar 100 mL de água destilada em 10 g de amostra, permanecendo em repouso por uma hora antes da leitura.

Para as análises bromatológicas, as amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72h. Posteriormente, foram moídas com crivos de 1 mm e analisadas para os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), segundo AOAC (1990), além de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Van

Soest et al. (1991). Os teores de matéria orgânica (MO) foram calculados pela diferença entre o teor de MS e o total de MM.

Os teores de carboidratos totais (CT) e de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados segundo as equações propostas por Sniffen et al. (1992).

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

$$CNF = CT - FDN$$

A determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi estimada pela técnica descrita por Tilley & Terry (1963) e adaptada por Holden (1999). Neste procedimento, amostras de 0,25 g moída referentes aos tempos de abertura 0, 30, 60, 90 e 120 dias foram pesadas em triplicata em saquinhos de TNT, os quais foram selados a quente e em seguida incubadas em jarros com a presença de líquido ruminal e solução tampão.

Foram realizadas coletas de líquido ruminal de três bovinos da raça Jersey, castrados, munidos de cânulas ruminais, que foram considerados como as repetições. O líquido ruminal coletado foi mantido em garrafa térmica até o momento de seu uso, utilizando-se CO₂ para manter o ambiente anaeróbico. Posteriormente, o líquido ruminal foi filtrado em tecido de algodão e 400 mL foram colocados em cada jarro do fermentador.

A solução de saliva artificial (1600 mL) foi adicionada aos 400 mL do líquido ruminal para cada jarro do fermentador ruminal DAISY[®]. Em seguida, os filtros contendo as amostras foram acondicionados nos jarros e incubados por 48 h a uma temperatura de 39°C.

No segundo estágio de incubação, 40 mL de HCl a 6 N e 8 g de pepsina foram colocados em cada jarro, mantendo-se a 39°C por mais 24 horas. Ao término deste período, os jarros foram drenados e os saquinhos foram lavados com água destilada e secos em estufa a 105 °C por 12 horas. Posteriormente os saquinhos foram pesados para determinação da matéria seca (MS) residual, e a digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) foi calculada pela diferença do alimento antes e após a incubação, por meio da fórmula:

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

A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) foi determinada por meio da queima em mufla do resíduo do material incubado.

$$DIVMO = \frac{(MO \text{ do alimento Inicial} - MO \text{ do alimento Residual})}{MO \text{ do alimento Inicial}} * 100$$

Para a determinação da digestibilidade *in vitro* da FDN (DIVFDN), foi utilizada a técnica de Goering e Van Soest (1975), com incubação das amostras por 48 horas a uma temperatura

de 39°C, com posterior extração em detergente neutro através da análise de FDN. A DIVFDN foi calculada pela diferença entre o FDN do alimento antes e após a incubação.

$$\text{DIVFDN} = \frac{(\text{FDN do alimento incubado} - \text{FDN do resíduo})}{\text{FDN do alimento incubado} * 100}$$

As populações de bactérias e fungos foram determinadas por meio de técnicas de culturas segundo Silva et al. (1997). Para a contagem de enterobactérias, amostras foram semeadas em placas com Violet Red Bile Agar (VRB) e mantidas sob incubação a 35°C por 24 horas. Para análise de *Clostridium*, as amostras foram semeadas em placas com Reinforced Clostridial Agar mantidas em incubação anaeróbia utilizando estufa com sistema de gás CO₂ a 35°C por 24 horas. As bactérias ácido lácticas foram semeadas em Agar de Man, Rugosa e Sharpe (MRS) e incubadas por 4 horas em estufa à temperatura de 37°C. Após o período de incubação, as colônias foram quantificadas num contador de colônias Quebec e os resultados transformados em logaritmos de base 10.

Para a caracterização de fungos e leveduras, as amostras foram submetidas a sucessivas diluições (10⁻¹ a 10⁻⁵), utilizando-se tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada. Posteriormente a partir dos extratos diluídos realizou-se a semeadura nas placas utilizando 0,1 mL de inóculo por placa semeada em superfície. Em seguida, as amostras foram semeadas em profundidade em Batata Dextrose Ágar (BDA) em pH 3,5, acidificado com ácido tartárico 10% (BRACKETT & SPLITTSTOESSER, 1992). As placas foram incubadas em temperatura ambiente por sete dias. Os microrganismos isolados foram identificados quanto ao gênero pelas características microscópicas das colônias, após o preparo das lâminas (KLICH, 2002).

Após a contagem e identificação dos gêneros dos fungos foram calculadas as médias em cada tempo de ensilagem e estas foram submetidas à análise descritiva dos dados, por meio de gráfico.

Os demais dados foram submetidos à análise de variância e regressão ao nível de 5% de probabilidade. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} = Observação relativa ao i-ésimo tratamento da j-ésima repetição;

μ = Média geral;

T_i = Efeito do i-ésimo tratamento;

E_{ij} = Erro aleatório associado i-ésimo tratamento da j-ésima repetição.

3.3 Resultados e Discussão

Houve efeito linear positivo ($P < 0,01$) para MS em função dos tempos de ensilagem (Tabela 1) o que evidencia a perda de água durante o tempo em que ficou ensilado, fato que é explicado pelo alto teor de umidade do coproduto *in natura*, que segundo Jasko et al. (2011) pode chegar a 85%. Os dados são superiores aos observados por Javorski et al. (2015), que ao avaliarem o mesmo coproduto em condições ambientais por 21 dias, observaram o teor máximo de MS em 138,6 g/kg de MS, porém ressaltando efeito semelhante. Por outro lado, Gonçalves et al. (2014), não verificaram efeito significativo para a MS do mesmo coproduto em função dos tempos 0, 28 e 56 dias de ensilagem, constatando diferença somente entre os tratamentos que consistiram em ensilar o material na forma *in natura* e pré-seco, com teores máximos de MS 122,20 e 145,30 g/kg de MS, respectivamente.

Tabela 1. Composição bromatológica da silagem de coproduto de fecularia de mandioca em função dos tempos de ensilagem (g/kg de MS)

Variáveis	Aberturados dos silos (dias)					P value		R ²	EPM ¹
	0	30	60	90	120	Linear	Quad.		
MS ²	147,7	163,2	179,0	194,7	210,5	<0,01	<0,01	0,72	0,02
MO ³	975,5	976,3	977,2	978,0	978,9	0,126	0,129	-	0,16
PB ⁴	18,2	18,4	18,7	19,0	19,3	0,064	0,276	-	0,04
EE ⁵	4,40	4,3	4,2	4,1	4,1	0,239	0,188	-	0,02
FDN ⁶	316,9	325,0	333,2	341,3	349,4	<0,01	0,934	0,82	0,43
CT ⁷	952,8	953,5	954,1	954,8	955,4	0,179	0,112	-	0,14
CNF ⁸	635,8	628,4	620,9	613,4	605,9	0,009	0,385	0,81	0,45

¹EPM: Erro Padrão da Média; ²MS: Matéria seca; ³MO: Matéria orgânica; ⁴PB: Proteína bruta; ⁵EE: Extrato etéreo; ⁶FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; ⁷CT: Carboidratos totais; ⁸CNF: Carboidratos não fibrosos $^2\hat{Y} = 14,747470 + 0,052570x$; $^6\hat{Y} = 31,697054 + 0,027080x$; $^8\hat{Y} = 63,588592 - 0,024920x$

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para MO e para os CT mesmo havendo fermentação dos compostos solúveis na MO em função do tempo. O mesmo foi observado ($P > 0,05$) para PB, EE, considerando o baixo teor destes nutrientes, fato que também foi evidenciado por Gonçalves, et al. (2014), ao avaliarem o mesmo coproduto na forma *in natura* e em função de dois tempos de abertura (28 e 56 dias).

Os teores de FDN apresentaram efeito linear positivo ($P < 0,01$), fato que ocorreu possivelmente pela ação de enzimas e pela presença de leveduras encontrado neste estudo (Figura 2), pois segundo Siqueira et al. (2011) o aumento de FDN das silagens geralmente é devido à alta presença de leveduras, gerando perdas da MS durante o processo de fermentação, propiciando aumentos proporcionais das frações fibrosas. Além disso, os teores CNF demonstraram um efeito linear negativo ($P < 0,05$), o que também justifica o aumento dos teores de FDN, pois está associado à redução do conteúdo de carboidratos solúveis utilizados pelos

microrganismos no processo fermentativo da silagem, o que acarreta em um aumento percentual dos constituintes da parede celular (NETO et al., 2006; FERREIRA et al., 2007).

Para a DIVMS e a DIVMO não foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$), apresentando uma média de 814,6 e 929,2 g/kg de MS, respectivamente (Tabela 2), evidenciando que o processo de fermentação da ensilagem não afetou a digestibilidade do coproduto. Estes dados são superiores aos reportados por Gonçalves et al. (2014), que ao avaliarem o mesmo coproduto na forma *in natura* e ensilada, obteve valores para DIVMS de 658,5 e 678,7 g/kg de MS, respectivamente. Esta diferença pode ser justificada pela alta heterogeneidade do coproduto, uma vez que sua digestibilidade pode variar em função de fatores como época de colheita, processamento e variedades da mandioca.

Tabela 2. Digestibilidade (g/ kg de MS) *in vitro* da matéria seca (DIVMS), da matéria orgânica (DIVMO) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN) da silagem de coproduto de feccularia de mandioca em função dos tempos de ensilagem

Variáveis (g/ kg de MS)	Abertura dos silos (dias)					<i>P value</i>		R ²	EPM ¹
	0	30	60	90	120	Linear	Quad		
DIVMS ²	814,6	813,9	813,9	810,0	817,4	0,937	0,637	-	0,68
DIVMO ³	920,6	923,2	934,5	936,0	931,8	0,209	0,468	-	0,83
DIVFDN ⁴	726,2	701,8	702,4	702,9	690,5	<0,011	0,085	0,72	0,33

¹EPM: Erro Padrão da Média; ⁴ $\bar{Y} = 71,887742 - 0,023445x$

Observa-se que a DIVMO apresentou teores acima de 900 g/kg de MS em todos os tempos em que o material permaneceu ensilado, valor considerado alto, o que atribui uma resposta importante, pois este parâmetro tem alta correlação com os nutrientes digestíveis totais (NDT) do alimento (KUNKLE & BATES, 1998). Este fato também está relacionado com a alta degradabilidade do amido da mandioca que pode ter contribuído para uma alta digestibilidade dos compostos orgânicos (CALDAS NETO et al., 2000).

Os teores da DIVFDN comportaram-se de forma linear ($P < 0,01$), reduzindo à medida em que o coproduto permaneceu ensilado. Este comportamento pode ser atribuído ao aumento dos teores de FDN ocorrido neste trabalho, o que pode ter comprometido as proporções dos nutrientes potencialmente digestíveis e contribuído para uma redução acentuada na digestibilidade.

Para o pH verificou-se (Figura 1) efeito quadrático ($P < 0,05$) em função dos tempos de abertura. Ao adquirir o coproduto na forma *in natura*, foi observado que o mesmo já possuía um pH baixo em torno de 4,5, isto inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis,

principalmente enterobactérias (Figura 2) que demonstraram efeito linear negativo, desaparecendo aos 60 dias de ensilagem em função da queda do pH. Stefanie et al. (2000) afirma que este grupo de bactérias tem seu desenvolvimento inibido em pH abaixo de 4,5. O mesmo foi observado por Gonçalves et al. (2014), os quais justificaram que esta rápida redução é favorecida pelo fato do pH do coproduto na forma *in natura* já ser considerado alto.

O pH atingiu seu ponto de mínima estimado em 2,82 aos 84 dias de ensilagem. O efeito quadrático para este parâmetro pode está relacionado ao efeito semelhante observado para as leveduras (Figura 3), pois estes microrganismos contribuem para o consumo de carboidratos solúveis, o que diminui a quantidade destes compostos no material ensilado e prejudica o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas (EVANGELISTA et al., 2009).

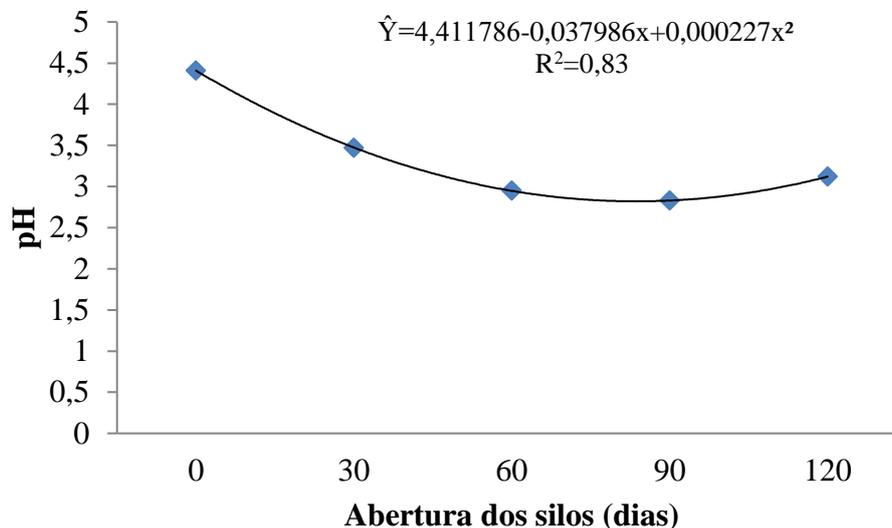
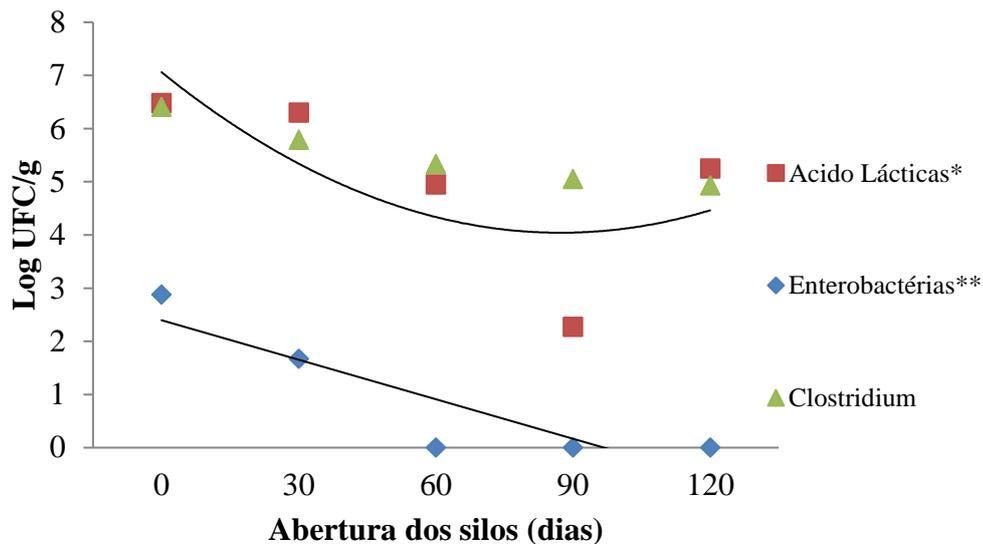


Figura 1. Variação de pH da silagem de coproduto de feccularia de mandioca em função dos tempos de ensilagem

Houve efeito quadrático ($P < 0,05$) para as bactérias ácido lácticas, com um ponto de mínima estimado em 4,06 log UFC/g aos 86 dias (Figura 2). Possivelmente houve entrada de oxigênio durante o rebaixamento do silo por perdas de água, o que pode ter acarretado a diminuição das bactérias ácido lácticas e conseqüentemente queda na produção de ácido láctico e no pH. De acordo com Conan et al. (2007) a presença de O_2 no interior do silo prejudica a ação destas bactérias. McDonald et al. (1991) afirmaram que a população considerada ideal desses microrganismos é de 8,0 log UFC/g para que ocorra uma rápida redução no pH da silagem, resposta não evidenciada neste trabalho, isso pode interferir na qualidade do material ensilado por proporcionar uma lenta redução do pH.



$$*\hat{Y}=7.0593-0.0692x+0.0004x^2;R^2= 0.52 \quad **\hat{Y}=2.9831-0.0637x :R^2= 0.79$$

Figura 2. Populações de bactérias dos grupos Ácido Lácticas, Enterobactérias e *Clostridium* na silagem de coproduto de mandioca em função dos tempos de ensilagem

A população de enterobactérias (Figura 2) apresentou efeito linear negativo entre os tratamentos ($P < 0,05$), reduzindo até os 30 dias de abertura dos silos e desaparecendo 60 dias após o material ser ensilado. De acordo com Stefanie et al. (2000), essas alterações são favoráveis, pois esse gênero de microrganismo é indesejável para manter a qualidade da silagem e quando presente impede a redução do pH e o aumento das bactérias ácido lácticas, as quais são benéficas. Os valores observados no presente trabalho foram inferiores aos obtidos por Gonçalves et al. (2014) que apontaram valores de 5,08 log UFC/g para o coproduto úmido de fécula de mandioca no momento da ensilagem.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) para as bactérias do gênero *Clostridium* (Figura 2). No entanto, foi observado presença destas bactérias em todos os tempos de abertura, o que pode ser explicado pela alta umidade do coproduto ensilado. Já que McDonald et al. (1991), afirmam que bactérias do gênero *Clostridium* se desenvolvem facilmente em silagens com baixo teor de matéria seca, fato que foi observado no presente estudo.

Para as leveduras (Figura 3), foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$), evidenciando sua presença em todos os tempos de abertura. Este fato pode ser explicado pela presença de oxigênio ocorrida proporcionalmente ao rebaixamento do silo, criando um vácuo entre a lona e o material ensilado. As leveduras são indesejáveis para as silagens, pois de acordo com Stefanie et al. (2000), na presença de oxigênio, muitas espécies degradam ácido láctico em CO_2 e H_2O e causam um aumento nos valores de pH. Além disso, Mc Donald et al.

(1991) afirmaram que algumas leveduras são resistentes a uma faixa de pH que vai de 3 a 8 e outras tolerantes a pH inferior a 2, além de se desenvolverem em baixa concentração de oxigênio.

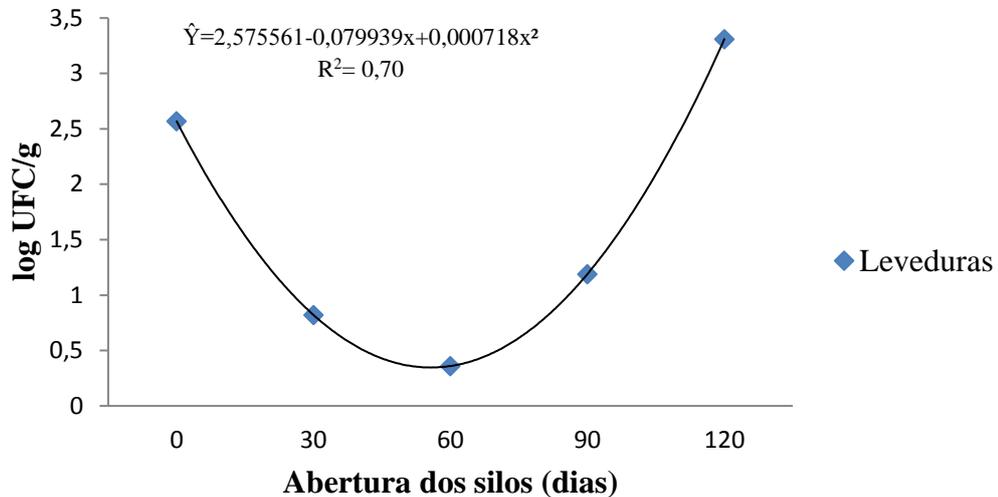


Figura 3. Populações de Leveduras na silagem de coproduto de mandioca em função dos tempos de ensilagem

A ocorrência de fungos (Figura 4) foi observada em todos os tempos avaliados, com maior presença para os gêneros *Phoma* e *Cladosporium*.

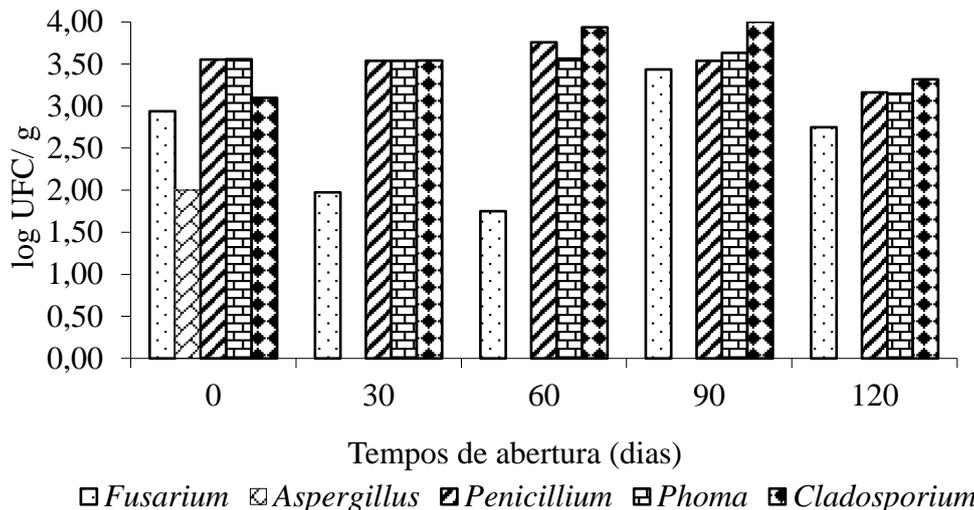


Figura 4. Populações de gêneros de fungos na silagem de coproduto de feccaria de mandioca em função dos tempos de ensilagem.

Observa-se (Figura 4) que a população de fungos do gênero *Aspergillus* desapareceu totalmente após o processo de ensilagem. Além disso, houve pouco desenvolvimento de populações dos gêneros *Fusarium* e *Penicillium*, o que evidencia

pouca ocorrência de micotoxinas, pois de acordo Schocken-Iturrino et al. (2005) os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, são os mais ocorrentes em silagens.

Os dados observados neste trabalho são inferiores aos reportados por Javorski et al. (2015), que ao avaliarem o perfil microbiológico do mesmo coproduto em condições ambientais por 21 dias, observaram que após três dias de estocagem do material os valores de fungos e leveduras ficaram acima de 5,2 log UFC/g, ressaltando que este número elevado pode ter sido ocasionado pela presença de oxigênio e altos teores de umidade do material.

3.4 Conclusão

A ensilagem do coproduto de fecularia de mandioca foi eficaz até os 120 dias em função do aumento no teor de matéria seca. No entanto, devido ao alto teor de umidade deste coproduto, são necessárias estratégias que otimizem o processo de ensilagem para garantir condições anaeróbicas e inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis.

REFERÊNCIAS

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed., Arlington: AOAC Internacional, 1990. 1025p.
- BRACKETT, R.E e SPLITTSTOESSER, D.F. Fruits and. vegetables. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium for the Microbiological Examination of Foods**. 3rd ed. Washington DC: American Public Health Association, 1992. p. 919-927.
- CALDAS NETO, S. F.; ZEOULA, L. M.; BRANCO, A. F. et al. O. Mandioca e resíduos das farinhas na alimentação de ruminantes: digestibilidades total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 2099-2108, 2000.
- CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. **Silage Science and Technology**. Madison, Wisconsin, p.141-198, 2003.
- EVANGELISTA, A.R.; SIQUEIRA, G.R.; LIMA, J.A. et al. Alterações bromatológicas e fermentativas durante o armazenamento de silagens de cana-de-açúcar com e sem milho desintegrado com palha e sabugo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 20-26, Jan, 2009.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. [2003]. **Sistemas de produção**. Disponível em:<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_tab_costeiros/mercado.htm> Acesso em 08/02/2016
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. [2012]. **Mandioca**. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisa-culturas_pesquisadasmandioca.php> Acesso em 20/01/2016
- GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. 1975. **Forage fiber analyses (apparatus, regents, procedures, and some applications) Agriculture Handbook 379**. United States Department of Agriculture. 20p.
- GONÇALVES, J.A.G.; ZAMBOM, M.A.; FERNANDES, T. et al. Composição químico-bromatológica e perfil de fermentação da silagem de resíduo úmido de fécula de mandioca. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 502-511, mar./apr. 2014.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for tem feeds. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 171794, 1999.
- JASKO, A.C.; ANDRADE, J.; CAMPOS, P.F. et al. Caracterização físico-química de bagaço de mandioca in natura e após tratamento hidrolítico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.5, p.427-441, 2011. Supl.
- JAVORSKI, C.R.; ZAMBOM, M.A.; POZZA, M.S.S. et al. Stoking residue from extraction of cassava starch without the use of storage technologies. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.45, n.3, p.405-411, 2015.

- KUNKLE, W. E.; BATES, D. B. Evaluating feed purchasing options: energy, protein, and mineral supplements. **In: FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE**, 1998, Gainesville. Proceedings... Gainesville: University of Florida, p.59-70, 1998.
- KLICH, M. A. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. **Mycologia**, v. 94, n. 1, p. 21-27, 2002.
- LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. et al. Milk production and economic assessment of cassava bagasse in the feed of dairy cows. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 37, n. 3, p. 307-313, 2015.
- McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J. **Biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe, 1991. 340p.
- OLIVEIRA, H. C. A.J.V.; PIRES, A.C.; OLIVEIRA, A.L. et al. Perdas e valor nutritivo da silagem de capim-tanzânia amonizado com uréia. **Archivos de Zootecnia**, v.58, n.222, 195-202. 2009.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.
- SIQUEIRA, G. R.; REIS R. A.; SCHOCKEN-ITURINO R. P. et al. Perfil fermentativo de silagens de cana-de-açúcar in natura ou queimada e tratadas ou não com *Lactobacillus buchneri*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.10, n.8, p.1651-1661, 2011.
- SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; REIS, R.A.; COAN, R. M. et al. Alterações químicas e microbiológicas nas silagens de capim-tifton 85 após a abertura dos silos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p. 464-471, 2005.
- STEFANIE, J. W. H.; ELFEINK, O.; DRIEHUIS, F. et al. Silage fermentation process and their manipulation. In: FAO ELETRONIC CONFERENCE ON TROPICAL SILAGE, Rome, 1999, Rome. **Proceedings...** Rome: FAO, 2000. p. 17-30.
- SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992
- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A., A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of British Grassland**. v18, n.2, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

4 CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO *IN VITRO* DE DIETAS À BASE DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA DESIDRATADO OU ENSILADO ASSOCIADO A NÍVEIS DE UREIA PROTEGIDA

Resumo: Objetivou-se avaliar a cinética de fermentação ruminal *in vitro* de dietas à base de coproduto de fecularia de mandioca desidratado e ensilado associado a níveis de ureia protegida. O coproduto de fecularia de mandioca (CFM) foi adquirido de uma agroindústria na forma úmida e posteriormente foi submetido ao processo de desidratação ao sol e à ensilagem (realizada em manilhas de concreto, nas quais permaneceram por 40 dias até a abertura). Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições cada. Os tratamentos avaliados foram os níveis de ureia (0%, 0,4%, 0,8%, 1,2% e 1,6% de ureia protegida na matéria seca do concentrado) associados ao CFM desidratado ou ensilado. Foram realizadas coletas de líquido ruminal e preparo de solução tampão para a incubação das amostras. A produção de gás *in vitro* realizada em frascos equipados com módulos de digestão e a incubação foi mensurada em libras por polegada quadrada (psi) utilizando sistema automático RF: *Gás Production System*® (ANKOM). Para as dietas que utilizaram o CFM desidratado, não houve efeito para a fração A (mL) composta por carboidratos de rápida degradação, assim como a fração B (hs), que representa sua taxa de degradação. Verificou-se efeito linear crescente para a fração C (hs), que representa o *lag time*. A produção total de gases, representada pelas frações A+D (mL), não foi influenciada pelos tratamentos. Para as dietas que utilizaram o CFM na forma ensilada não foram observadas diferenças significativas nas frações A (mL) e D (mL), assim como suas taxas de degradação, B (hs) e E (hs), respectivamente. A adição de até 1,6 % de ureia protegida associada ao CFM na forma desidratada ou ensilada não alterou a degradabilidade *in vitro* da matéria seca incubada.

Palavras-chave: alimentos alternativos, amônia, degradabilidade, fécula, produção de gás

4 KINETICS OF *IN VITRO* FERMENTATION OF DIETS BASED ON COPRODUCT OF DEHYDRATED CASSAVA AND SILAGE ASSOCIATED WITH PROTECTED UREA

Abstract: The objective of this study was to evaluate the *in vitro* ruminal kinetics of diets based on co-product of dehydrated cassava and silage associated with protected urea levels. The cassava starch coproduct (CFM) was purchased from an agroindustry in the humid form and then submitted to the process of sun dehydration and silage (carried out in concrete shackles, where it remained for 40 days until opening). A completely randomized design with five treatments and three replicates each was adopted. The treatments evaluated were urea (0%, 0.4%, 0.8%, 1.2% and 1.6% protected urea content in the dry matter of the concentrate) associated with dehydrated or ensiled CFM. Ruminal liquid collections and buffer preparation were performed to incubate the samples. *In vitro* gas production in flasks equipped with digestion modules and incubation was measured in pounds per square inch (psi) using the automated RF: Gas Production System (ANKOM) system. For the diets that used the dehydrated CFM, there was no effect for fraction A (mL) composed of rapidly degraded carbohydrates, as well as fraction B (hs), which represents its degradation rate. There was an increasing linear effect for the fraction C (hs), which represents the lag time. The total gas production, represented by the fractions A + D (mL), was not influenced by the treatments. For the diets that used CFM in ensiled form, no significant differences were observed in fractions A (mL) and D (mL), as well as their degradation rates, B (hs) and E (hs), respectively. Addition of up to 1.6% CFM-associated protected urea in the dehydrated or ensiled form did not alter the *in vitro* degradability of the incubated dry matter.

Keywords: alternative food, ammonia, degradability, starch, gas production

4.1 Introdução

A constante busca por fontes alimentares alternativas na dieta de ruminantes tem como principal intuito a redução de custos de produção e aumento da lucratividade. No entanto, muitos ingredientes como os coprodutos industriais, que geralmente substituem os comumente utilizados, necessitam de estudos mais aprofundados para que sejam recomendados de forma racional e garantam aos animais energia suficiente para suprir suas exigências de manutenção e produção.

Neste contexto, o coproduto de fecularia de mandioca vem sendo utilizado na dieta de vacas leiteiras e tem demonstrado eficiência em garantir energia para a produção de leite quando utilizado em até 15% na matéria seca da dieta total (LIMA et al., 2008), além de garantir melhor eficiência alimentar com a redução de custos com alimentação quando utilizado em até 10% do total de matéria seca da dieta (LIMA et al., 2015). No entanto, um dos fatores que limitam sua utilização tem sido relacionado ao método de conservação, o qual tem como fator limitante o elevado teor de umidade que varia de acordo com o processamento e pode chegar a índices superiores a 85% (JASKO et al., 2011)

Zambom et al. (2015) utilizaram este coproduto na forma de silagem e confirmaram a viabilidade de utilização em até 100% de substituição ao milho sem alterações na produção e composição do leite, apesar da ingestão de matéria seca ter reduzido linearmente. Outro método que aperfeiçoa sua utilização seria a desidratação, pois de acordo com Fernandes et al. (2015), este coproduto na forma desidratada pode substituir o milho em até 75% na alimentação de vacas leiteiras.

A utilização de ureia como fonte de nitrogênio em substituição aos alimentos tradicionais tem se tornado uma alternativa para o aumento da síntese microbiana e otimização dos custos de produção (LIMA et al., 2013), além de permitir a utilização do coproduto de fecularia de mandioca com maior eficiência alimentar.

Dentre as técnicas que determinam o valor nutricional dos alimentos, os sistemas *in vitro*, que incluem a produção de gases, são cada vez mais empregados na análise dos nutrientes utilizados na dieta de ruminantes, principalmente por ser uma técnica de rápida execução, confiabilidade, possibilidade de avaliação de grande quantidade de alimentos por ensaio e por utilizar poucos animais fistulados (BARCELOS et al., 2001; GIRALDO et al., 2006).

Objetivou-se avaliar a cinética de fermentação *in vitro* de dietas à base de coproduto de fecularia de mandioca desidratado ou ensilado associado a diferentes níveis de ureia protegida.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite da estação experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR.

O coproduto de fecularia de mandioca (CFM) foi adquirido de uma agroindústria localizada no município Marechal Cândido Rondon – PR, logo após o processamento de retirada do amido, portanto na forma úmida. Posteriormente, a desidratação do CFM foi feita em uma superfície de concreto, o qual foi distribuído uniformemente e revolvido a cada hora com o uso de ferramentas, permanecendo disperso por um período de 16 horas de sol. Após o processo, foram coletadas amostras para a formulação das dietas totais.

A ensilagem do CFM foi feita em manilhas de concreto com capacidade para aproximadamente 1000 kg, as quais foram previamente envolvidas com lona plástica na parte interna e no fundo foi colocado feno para evitar o contato direto com o solo. Posteriormente, as manilhas foram seladas com lona plástica preta e cobertas com sacos de ráfia cheios de terra para evitar a entrada de oxigênio e garantir a fermentação do material. A abertura dos silos ocorreu após 40 dias de ensilagem.

As amostras de silagem de CFM foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72h. Posteriormente foram realizadas análises bromatológicas do CFM desidratado e ensilado, assim como dos demais alimentos da dieta (Tabela 1), quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) pela metodologia da AOAC (1990) e a determinação da fibra em detergente neutro (FDN), segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica foi calculada pela diferença entre o teor de MM e o total de MS. Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados segundo as equações propostas por Sniffen et al. (1992):

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

Os valores de nutrientes digestíveis totais de cada ingrediente foram calculados pela equação descrita por Kunkle e Bates (1998):

$$NDT (\%) = MO\% / 100(26,8 + 0,595 (DIVMO(\%)))$$

Para a digestibilidade *in vitro* da (MS) foi utilizada a técnica descrita por Tilley & Terry (1963) e adaptada por Holden et al. (1999). As frações de carboidratos foram determinadas segundo Sniffen et al. (1992): frações rapidamente degradáveis (A + B₁), fração carboidratos fibrosos potencialmente degradáveis (B₂) e fração carboidratos fibrosos não degradáveis (C).

Tabela 1. Composição, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e fracionamento de carboidratos dos ingredientes das dietas experimentais

Composição	CFM desidratado	CFM ensilado	Farelo de soja	Milho Moído	Silagem de milho
Composição e digestibilidade <i>in vitro</i> (g/kg de MS)					
MS ¹	924,45	909,60	895,00	899,00	309,00
MO ²	976,61	970,60	929,40	986,10	950,10
EE ³	4,10	6,00	32,50	14,60	20,10
PB ⁴	24,30	24,00	491,00	80,00	78,00
FDN ⁵	363,70	392,10	112,00	122,00	421,20
CT ⁶	943,80	941,10	401,50	891,40	829,20
CNF ⁷	580,10	549,00	289,50	769,40	408,00
NDT estimado ⁸	720,37	774,30	810,00	817,00	771,10
DIVMS	880,50	780,13	949,51	975,99	763,49
Fracionamento de carboidratos (g/kg de CT)					
Fração A+B1	627,08	595,26	894,39	873,34	505,18
Fração B2	259,49	299,92	67,94	112,65	416,66
Fração C	113,34	104,81	37,65	14,00	78,03

¹MS: Matéria Seca; ²MO: Matéria Orgânica; ³EE: Extrato Etéreo; ⁴PB: Proteína Bruta; ⁵FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁶CT: Carboidratos Totais; ⁷CNF: Carboidrato Não Fibrosos; ⁸NDT: Nutrientes Digestíveis Totais. NDT (%) = MO% /100(26,8+0,595(DIVMO (%)))

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições para cada forma de avaliação do CFM. Os tratamentos avaliados foram os níveis de inclusão de 0%, 0,4%, 0,8%, 1,2% e 1,6% de ureia protegida na matéria seca do concentrado, associada ao uso de 75% do CFM na forma desidratada ou ensilada em substituição ao milho.

Para a formulação das dietas experimentais (Tabela 2 e Tabela 3) foram seguidas as recomendações do NRC (2001), as quais foram compostas por 55% de silagem de milho, como fonte de volumoso, e 45% de ração concentrada (CFM desidratado ou ensilado, milho moído, farelo de soja, suplemento mineral e vitamínico, suplemento de enxofre, fosfato bicalcico, bicarbonato de sódio e ureia protegida).

A produção de gases *in vitro* foi obtida utilizando a metodologia de Theodorou et al. (1994), modificada por Mauricio et al. (1999). Para tanto, 500 mg de amostra de cada dieta foi introduzida em frascos de vidro de 295 mL, os quais receberam 100 ml de solução tampão A +B (pH 6,8).

Posteriormente, foram realizadas coletas de líquido ruminal de dois bovinos portadores de cânula no rúmen, previamente adaptados às dietas experimentais. Uma alíquota de 25 mL de líquido ruminal foi filtrada e utilizada como inóculo, sendo adicionada em cada frasco de vidro destinado a produção de gás, estes aspergidos com CO₂ e vedados com módulos de digestão.

O aumento da pressão produzido dentro dos frascos durante a incubação foi mensurado em libras por polegada quadrada (psi) utilizando o sistema automático RF: *Gás Production System*® (ANKOM). A pressão foi registrada por sensores localizados nas tampas dos frascos ou módulos, os quais transferiram as informações por meio de uma base coordenadora conectada a um computador, equipado com aplicativo *Gas Pressure Monitor*, dispositivo de medição automatizada dos gases metabólicos por sinal de radiofrequência sem fio (*wireless*). Os frascos foram mantidos em banho metabólico a uma temperatura de 39± 1°C durante 48 horas, com mensurações a cada 10 minutos.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de matéria seca

Ingredientes	Níveis de ureia protegida no concentrado				
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%
Silagem de milho	550,00	550,00	550,00	550,00	550,00
Milho moído	57,00	57,00	61,00	62,00	65,00
Farelo de soja	195,00	183,60	174,00	170,00	156,00
CDFM ¹	165,00	175,00	178,00	179,00	188,00
Mistura mineral ²	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Enxofre	-	0,20	0,40	0,60	0,80
Ureia ³	-	1,80	3,60	5,40	7,20
Fosfato bicálcico	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Bicarbonato de sódio	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Composição bromatológica					
MS ⁴	613,89	614,15	614,24	614,38	614,55
MO ⁵	923,30	921,79	920,22	918,43	917,02
EE ⁶	20,00	19,85	19,85	19,83	19,74
PB ⁷	151,51	150,49	151,11	153,88	152,11
FDN ⁸	356,91	358,52	358,59	358,40	359,68
CT ⁹	751,69	756,07	758,57	758,70	763,89
CNF ¹⁰	394,88	392,43	390,67	386,32	385,49
NDT estimado ¹¹	694,52	692,18	690,43	688,78	686,57

¹CDFM: Coproduto Desidratado de Fecularia de Mandioca; ²Composição química (quantidades g/kg do produto): Ca - 215 g, P - 65 g, Co - 45 mg, Mg - 12 g, Mn - 425 mg, Zn - 1.900 mg, Se - 35 mg, I - 65 mg, S - 10 g, F - 650 mg, Fe - 1.700 mg, Cu - 800 mg, Na - 75g (produto comercial); ³Composição: Ureia Pecuária, Óleo Vegetal, Beta Caroteno, Hidroxitolueno Butilado (BHT), Nitrogênio Não Proteico min: 2562,5 g/kg e Nitrogênio min: 410 g/kg; ⁴Matéria Seca; ⁵MO: Matéria Orgânica; ⁶EE: Extrato Etéreo; ⁷PB: Proteína Bruta; ⁸FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁹CT: Carboidratos Totais; ¹⁰CNF: Carboidratos Não Fibrosos; ¹¹NDT: Nutrientes Digestíveis Totais. NDT (%) = MO% /100(26,8+0,595(DIVMO (%)))

O resíduo dos frascos foi filtrado em cadinhos filtrantes de peso conhecido e levados à estufa 105 °C para determinação da MS remanescente. O volume de gás acumulado foi corrigido pela MS fermentada. Para estimativa dos parâmetros de cinética de fermentação ruminal foi utilizado o modelo logístico bicompartimental, ajustado às curvas de produção cumulativa de gases proposto por Schofield et al. (1994):

$$V = (A / (1 + \exp(2 + 4 * B * (C - T)))) + (D / (1 + \exp(2 + 4 * E * (C - T))))$$

Em que, V é o volume acumulado no tempo de 48 horas; A (mL) é o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão (CNF); B (/h) é a taxa de degradação da fração de rápida digestão (CNF); C é a latência ou tempo de colonização em horas; T (h) é o tempo de incubação; D (mL) é o volume de gás da fração de lenta degradação (B2); E (/h), taxa de degradação da fração B2.

Tabela 3. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de matéria seca

Ingredientes	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado				
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%
Silagem de milho	550,00	550,00	550,00	550,00	550,00
Milho moído	58,80	60,63	62,90	64,66	66,46
Farelo de soja	192,00	182,11	171,95	163,02	153,04
SCFM ¹	176,82	182,75	188,69	193,56	199,79
Mistura mineral ²	8,73	8,72	8,71	8,70	8,70
Enxofre	-	0,19	0,38	0,59	0,77
Ureia ³	-	1,75	3,49	5,22	6,96
Fosfato bicálcico	6,40	6,38	6,39	6,80	6,80
Cálcario calcítico	0,43	0,65	0,68	0,63	0,68
Bicarbonato de sódio	6,82	6,82	6,81	6,82	6,80
Composição bromatológica					
MS ⁴	577,64	577,93	578,23	578,51	578,13
MO ⁵	930,60	928,97	927,53	925,69	924,24
EE ⁶	19,21	18,95	18,69	18,45	18,19
PB ⁷	146,03	145,94	145,76	146,04	145,89
FDN ⁸	329,66	331,10	332,57	333,70	335,24
CT ⁹	751,94	755,18	758,71	761,28	764,74
CNF ¹⁰	422,27	424,07	426,13	427,58	429,49
NDT estimado ¹¹	764,57	762,64	760,87	758,84	757,06

¹SCFM: Silagem do Coproduto de Fecularia de Mandioca; ²Composição química (quantidades g/kg do produto): Ca - 215 g, P - 65 g, Co - 45 mg, Mg - 12 g, Mn - 425 mg, Zn - 1.900 mg, Se - 35 mg, I - 65 mg, S - 10 g, F - 650 mg, Fe - 1.700 mg, Cu - 800 mg, Na - 75g (produto comercial); ³Composição: Ureia Pecuária, Óleo Vegetal, Beta Caroteno, Hidroxitolueno Butilado (BHT), Nitrogênio Não Proteico min: 2562,5 g/kg e Nitrogênio min: 410 g/kg; ⁴Matéria Seca; ⁵MO: Matéria Orgânica; ⁶EE: Extrato Etéreo; ⁷PB: Proteína Bruta; ⁸FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁹CT: Carboidratos Totais; ¹⁰CNF: Carboidratos Não Fibrosos; ¹¹NDT: Nutrientes Digestíveis Totais. NDT (%) = $MO\% / 100(26,8+0,595(DIVMO(\%)))$

O ajuste das curvas de produção de gás e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foram realizados utilizando-se o processo iterativo de Gauss-Newton por meio do procedimento para modelos não lineares do programa SAEG (UFV, 2000). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão nos modelos linear e quadrático a um nível de 5% de probabilidade.

4.3 Resultados e Discussão

A fração A, composta por carboidratos de rápida degradação, não foi influenciada pelos tratamentos ($P>0,05$) com média de 16,7 mL, assim como a fração B, que representa sua taxa de degradação (Tabela 4).

Tabela 4. Produção cumulativa de gás *in vitro* (mL/100 mg MS fermentada) de dietas a base de coproduto de fecularia de mandioca desidratado associado a níveis de ureia protegida

Parâmetros cinéticos	Dietas					P value		R ²	EPM ¹
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%	L	Q		
A (mL) ¹	16,68	18,64	16,43	14,79	16,96	0,580	0,684	-	1,58
B (/h) ²	0,91	0,48	0,09	0,10	0,11	0,560	0,721	-	0,17
C (h) ^{3*}	1,66	1,01	2,18	2,69	3,28	<0,01	0,455	0,79	0,38
D (mL) ⁴	6,81	6,01	7,24	6,63	8,37	0,392	0,575	-	1,40
E (/h) ⁵	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,750	0,980	-	0,00
A+D (mL) ⁶	23,49	24,65	23,67	21,42	25,33	0,879	0,531		2,28

A: volume de gás produzido pelos carboidratos não fibrosos (CNF); B: taxa de degradação dos CNF; C é a latência ou tempo de colonização em horas; D (mL) é o volume de gás da fração de lenta degradação; E (/h), taxa de degradação da fração D; A+D: Volume total de gás produzido. $\hat{Y} = 1,229661 + 1,122378x$;

Verificou-se efeito linear crescente ($P<0,05$) para a fração C entre os tratamentos (Figura 1). Este parâmetro está relacionado com o tempo de colonização dos microrganismos (*lag time*), que é favorecido pela presença de substratos prontamente fermentáveis e por características físicas e químicas da parede celular da amostra, capazes de facilitar a colonização microbiana (MAGALHÃES et al., 2006). Além disso, a utilização do CFM desidratado pode ter favorecido tal efeito, pois de acordo com Luz et al. (2014) o tempo de colonização de dietas contendo coprodutos de mandioca é inferior quando comparado as que contém milho, fato que pode ser explicado pela alta solubilidade do amido da mandioca.

A proporção de amido da mandioca e sua solubilidade interferem na degradação dos alimentos, sendo que quanto maior for à quantidade de amido maior será a degradação do alimento. Assim, quando este polímero apresenta alta solubilidade, mais rápida será também está degradação em nível ruminal.

Este aspecto foi evidenciado por Caldas Neto et al. (2007) que testaram dietas com níveis crescentes de proteína degradável no rúmen, associada à fonte de amido de alta degradabilidade ruminal (farinha de varredura de mandioca). Foi observada interação entre proteína degradável no rúmen e a fonte de amido de alta degradabilidade ruminal (raiz integral de mandioca) que se destacou das demais fontes que apresentavam uma degradabilidade ruminal inferior.

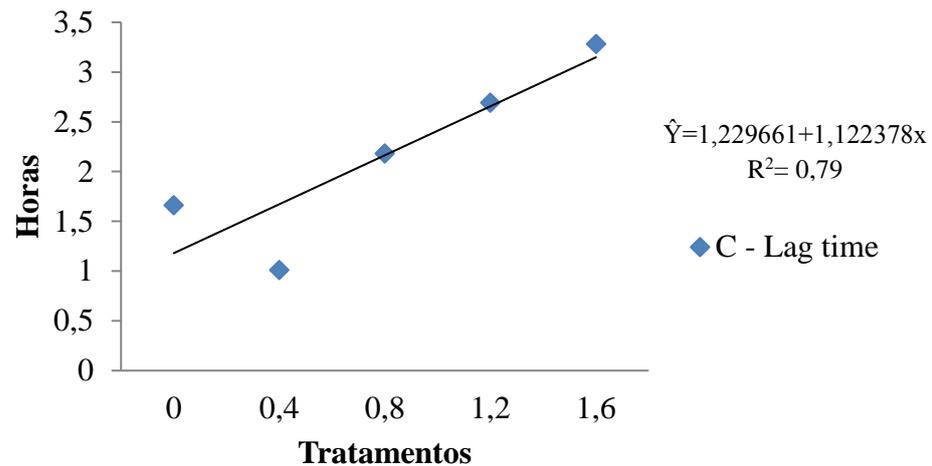


Figura 1. Tempo de colonização (horas) de bactérias em dietas a base de coproduto de fecularia desidratado associado a níveis de ureia protegida

O volume de gás D (mL) da fração de lenta degradação (B2) e a taxa de degradação E (h) da fração B2 não foram influenciados pelos tratamentos ($P > 0,05$), as quais obtiverem média de 7,01 mL, e 0,02/h, respectivamente. Segundo Getachew et al. (2004), o volume de gás produzido por uma dieta em incubação reflete a produção de ácidos graxos de cadeia curta, que são resultados da degradação microbiana dos alimentos e indiretamente da reação tampão com ácidos gerados como resultado da fermentação. Espera-se que uma dieta produza mais propionato do que acetato, pois a produção de propionato gera somente 0,87 mol/mol de AGV por meio da produção indireta e nenhum gás diretamente, enquanto que, a produção de acetato gera dois moles de CO_2 por mol de glicose pela produção direta, e 0,87 mol/mol de AGV (BEUVINK & SPOELSTRA, 1992).

Não houve diferença para a produção cumulativa total de gases (A+D) ($P > 0,05$), o que evidencia que o fornecimento de nitrogênio não proteico em todos os tratamentos estimulou o crescimento microbiano e conseqüentemente houve uma fermentação adequada.

Observa-se (Tabela 5) que para as dietas que utilizaram o CFM na forma de silagem, não houve efeito significativo ($P > 0,05$) para a Fração A (mL), com média de 12,67 mL, assim como para a fração B, que representa sua taxa de degradação ($P > 0,05$).

Estes resultados evidenciam que todos os tratamentos foram eficazes em fornecer substrato para a massa microbiana, por meio da disponibilidade adequada de energia e compostos nitrogenados no rúmen, estes essenciais para a fermentação ruminal. O mesmo efeito foi observado por Wilbert et al. (2011) ao avaliarem o uso de ureia e farelo de soja associada ao milho e a volumosos de baixa qualidade, ressaltando que a teoria inicialmente proposta por

El-Shazly et al. (1961) de que os efeitos associativos negativos decorrentes do uso de suplementação com carboidratos rapidamente fermentáveis são causados por uma deficiência de nitrogênio e não de uma depressão no pH ruminal, desde que em níveis não excessivos.

Tabela 5. Produção cumulativa de gás *in vitro* (mL/100 mg MS fermentada) de dietas a base de silagem de coproduto de fecularia de mandioca associadas a níveis de ureia protegida.

Parâmetros cinéticos	Dietas					P value		R ²	EPM ¹
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%	L	Q		
A (mL) ¹	13,79	11,16	14,42	10,73	13,29	0,677	0,405	-	1,03
B (/h) ²	0,13	0,12	0,11	0,13	0,11	0,687	0,942	-	0,01
C (h) ³	3,44	3,56	4,01	4,54	3,35	0,524	0,116	-	0,38
D (mL) ⁴	7,98	7,09	6,95	8,26	7,44	0,954	0,445	-	0,66
E (/h) ⁵	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,798	0,781	-	0,00
A+D (mL) ⁶	21,77	18,26	21,38	19,00	20,74	0,759	0,338	-	1,31

A: volume de gás produzido pelos carboidratos não fibrosos (CNF); B: taxa de degradação dos CNF; C é a latência ou tempo de colonização em horas; D (mL) é o volume de gás da fração de lenta degradação; E (/h), taxa de degradação da fração D; A+D: Volume total de gás produzido.

Apesar de não terem apresentado efeito entre os tratamentos, foi observado (Tabela 5) que a maior produção de gás ocorreu na fração A, quando comparada à produção de gás da fração D, que representam as frações fibrosas do alimento, com médias de 12,67 e 7,54 mL/100 g MS fermentada, respectivamente. Esse resultado contraria a tese de que a fração fibrosa do alimento, por proporcionar maior relação acetato: propionato, liberaria mais gás por sua menor eficiência fermentativa e pelas maiores perdas por dióxido de carbono e metano (CHEEKE, 1991). Este fato é reforçado pelo estudo feito por Nogueira et al. (2006), que ao compararem substratos com diferentes teores de carboidratos solúveis, obtiveram maior degradação para os carboidratos com menor produção de gases e atribuíram essa menor produção de gases ao fato de que a fermentação de carboidratos solúveis proporciona maior produção de propionato e, conseqüentemente, menor produção total de gases, pois a formação de propionato envolve a captura do hidrogênio (H₂) e não implica formação de dióxido de carbono.

Não houve efeito significativo (P>0,05) no parâmetro A+D, que representa a produção total de gases. Esses resultados evidenciam que não houve produção excessiva de NH₃, a qual que poderia elevar o pH ruminal em níveis excessivos e interferir da fermentação dos compostos orgânicos da dieta. Assim, pode-se inferir que em todos os tratamentos estudados houve aporte de energia adequado associado a uma quantidade satisfatória de nitrogênio dietético. De acordo com Luz et al. (2014) a utilização da mandioca como fonte de amido proporciona fermentação mais rápida do amido, quando comparada ao milho, permitindo melhor sincronismo com fontes de nitrogênio de rápida degradação, como a ureia protegida.

4.4 Conclusão

A adição de até 1,6 % de ureia protegida em dietas com 14,5% de proteína bruta associadas ao coproduto de fecularia de mandioca na forma desidratada ou ensilada não alterou a cinética de fermentação *in vitro* da matéria seca incubada.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, J.J.S.; PRADO, I.N.; PEROTTO, D. et al. Digestibilidade de dietas contendo resíduo úmido de mandioca em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.512-518, 2006.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed., Arlington: AOAC Internacional, 1990. 1025p.
- BARCELOS, A.F.; PAIVA, P.C.A.; PERÉZ, J.R.O. et al. Avaliação da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) pela técnica de degradação *in vitro* de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1829-1836, 2001.
- BEUVINK, J. M. W.; SPOELSTRA, S. F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different arbohydrides by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p.505-509, 1992.
- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; KAZAMA, R. et al. Proteína degradável no rúmen associada a fontes de amido de alta ou baixa degradabilidade: digestibilidade *in vitro* e desempenho de novilhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.452-460, 2007.
- CHEEKE, P.R. Feed additives. In: CHEEKE, P.R. (Ed.). **Applied animal nutrition: feeds and feeding**. New York: MacMillan, 1991. 504p.
- CAMPOS, F. P.; SAMPAIO, A. A. M.; VIEIRA, P. F. et al. Digestibilidade *in vitro*/gás de volumosos exclusivos ou combinados avaliados pelo resíduo remanescente da digestão da matéria seca e produção de gás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1579-1589, 2001.
- DIAS, A.M.; SILVA, F. F.; VELOSO, C.M.; et al. Digestibilidade dos nutrientes do bagaço de mandioca em dietas de novilhas leiteiras. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.996-1003, 2008.
- EL-SHAZLY, K.; DEHORITY, B.A.; JOHNSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.20, n.2, p.268-273, 1961.
- FERNANDES, T.; ZAMBOM, M.A.; CASTAGNARA, D.D. et al. Use of dried waste of cassava starch extraction for feeding lactating cows. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.87, n.2, p. 1101-1111, 2015.
- GIRALDO, L.A.; GUTIÉRREZ, L.A.; SÁNCHEZ, J. et al. Relación entre presión y volumen para el montaje de La técnica *in vitro* de producción de gas em Colombia. **Livestock Research for Rural Development**, v.18, n.6, 2006.

- GETACHEW, G.; ROBINSON, P.H.; DEPETERS, E.J. et al. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.111, n.4, p.57-71, 2004.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for tem feeds. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 171794, 1999.
- JASKO, A.C.; ANDRADE, J.; CAMPOS, P.F. et al. Caracterização físico-química de bagaço de mandioca in natura e após tratamento hidrolítico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.5, p.427-441, 2011. Supl.
- KUNKLE, W. E.; BATES, D. B. Evaluating feed purchasing options: energy, protein, and mineral supplements. **In: FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE**, 1998, Gainesville. Proceedings... Gainesville: University of Florida, p.59-70, 1998.
- LIMA, L.P.; VELOSO, C.M.; SILVA, F.F. et al. Bagaço de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na dieta de vacas leiteiras: consumo de nutrientes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.1004-1010, 2008.
- LIMA, F. H.S., NETOL, S.G.; LEITE, S.V.F. et al. Comportamento ingestivo de vacas primíparas das raças Guzerá e Sindi recebendo dietas com diferentes níveis de ureia. **Ciência Rural**, v.43, n.4, p.709-715, 2013.
- LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. et al. Milk production and economic assessment of cassava bagasse in the feed of dairy cows. **Acta Scientiarum**, v. 37, n. 3, p. 307-313, 2015.
- LUZ, Y. S.; FIGUEIREDO, M. P.; OLIVEIRA, F. M. et al. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* de dietas contendo palma forrageira enriquecida com ureia e suplementadas com diferentes fontes de amido. **Semina: Ciências Agrárias** v.35, p.1501-1514, 2014.
- MAGALHÃES, R.T.; GONÇALVES, L.C.; MAURICIO, R.M. et al. Avaliação de quatro genótipos de sorgo pela técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Revista Brasileira Milho e Sorgo**. v.5, p.101-111, 2006.
- MAURICIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S. ET AL. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feed stuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, D.C: National Academy Press, p.381, 2001.
- NOGUEIRA, U.T.; MAURÍCIO, R.M.; GONÇALVES, L.C. Comparação de substratos com diferentes quantidades de carboidratos solúveis utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.633-641, 2006.
- SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal Animal Science**, v. 72, p.2980-299, 1994.

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos.** 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.
- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of British Grassland**. v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. UFV. 2000. SAEG. **Sistema de análises estatísticas e genéticas.** Versão 8.0. (Manual do usuário). Viçosa.MG. 142 pp.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- WILBERT, C. A.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J. et al. Suplementação energética e proteica de um volumoso de baixa qualidade pela técnica de produção cumulativa de gás in vitro. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.40, n.7, p.1603-1612, 2011.
- ZAMBOM, M. A.; FERNANDES, T; SCHMIDT, E. L. et al. Silage of residue from the extraction of cassava starch in diets from lactating holstein cows. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.3, p.1701-1712, 2015.

5 UREIA PROTEGIDA ASSOCIADA À SILAGEM DE COPRODUTO DE FECULARIA DE MANDIOCA NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO

Resumo: Objetivou-se avaliar níveis de ureia protegida associada à silagem de coproduto de fecularia de mandioca (SCFM) na dieta de vacas em lactação. Foram utilizadas cinco vacas da raça Holandês, distribuídas em um quadrado latino 5x5, com períodos de 21 dias, sendo 14 para a adaptação e os demais para as coletas de dados. Os tratamentos avaliados foram os níveis (0%, 0,4%, 0,8%, 1,2% e 1,6%) de ureia protegida no concentrado. A dieta foi composta por 55% de silagem de milho e 45% de concentrado (milho moído, farelo de soja, SCFM, ureia, enxofre, calcário calcítico, fosfato bicálcico e bicarbonato de sódio). Foram analisados os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros metabólicos, produção e composição do leite, síntese microbiana e análise econômica. Não houve efeito para a ingestão de matéria seca e dos demais nutrientes. Houve efeito quadrático para digestibilidade da proteína bruta. A produção do leite não foi influenciada pelos tratamentos, no entanto o nitrogênio ureico do leite (NUL) aumentou linearmente. A glicose no soro não apresentou efeito entre os tratamentos e nem interação entre tempo e tratamento, porém houve efeito de tempo. A ureia no soro não diferiu entre os tratamentos, no entanto houve efeito do tempo e interação entre o tempo e o tratamento. A síntese microbiana não apresentou efeito para os tratamentos, com exceção da alantoína do leite, que aumentou linearmente. A inclusão de até 1,6% de ureia protegida no concentrado em dietas associadas ao uso de coproduto de fecularia de mandioca não altera a ingestão de matéria seca e produção de leite.

Palavras-chave: amido, análise econômica, ingestão, leite, produção, síntese microbiana

5 PROTECTED UREA IN ASSOCIATION WITH THE SILAGE OF CASSAVA COPRODUCT IN THE DIET OF THE DAIRY COWS IN LACTATION

Abstract: The objective of this study was to evaluate the levels of protected urea associated with cassava starch silage (SCFM) in the diet of lactating cows. Five Holstein cows were used, distributed in a 5x5 Latin square, with periods of 21 days, 14 days for adaptation and the others for data collection. The treatments evaluated were the levels (0%, 0.4%, 0.8%, 1.2% and 1.6%) of protected urea in the concentrate. The diet was composed of 55% corn silage and 45% concentrate (ground corn, soybean meal, SCFM, urea, sulfur, limestone, dicalcium phosphate and sodium bicarbonate). The parameters of ingestion and digestibility of the dry matter and nutrients were evaluated, as well as the metabolic parameters, milk production and composition, microbial synthesis and economic analysis. There was no effect on the intake of dry matter and other nutrients, but there was a quadratic effect for crude protein digestibility. The serum urea nitrogen did not differ between the treatments, nor did the interaction between time and treatment, but there was a time effect. However, there was an effect of time and interaction between time and treatment. Microbial synthesis had no effect for treatments, with the exception of milk allantoin, which increased linearly. The inclusion of up to 1.6% of protected urea in the concentrate in diets associated to the use of cassava starch coproducts does not alter dry matter intake and milk production.

Keywords: starch, economic analysis, intake, milk, production, microbial synthesis

5.1 Introdução

O Brasil encontra-se atualmente entre os maiores produtores mundiais de leite, com uma produção estimada em mais de 35 bilhões em 2015, todavia com uma pequena queda em relação ao ano anterior (IBGE, 2015). Estes dados reforçam a necessidade de técnicas de produção que aumentem a produtividade animal.

Um fator importante a ser tratado é que a valorização do produto tende a melhorar à medida que a população toma conhecimento sobre as propriedades nutricionais do leite. Assim, estratégias que visem à melhoria da qualidade do leite são bem vistas, principalmente por buscarem a elevação do status nutricional deste alimento, aumentando o consumo *per capita* e consequentemente elevando a pressão por melhores índices produtivos.

Alternativas alimentares que busquem aumentar a produtividade animal com a utilização de alimentos menos onerosos surgem como uma possibilidade de reduzir os gastos com alimentação, já que estes ainda representam a maior parte dos custos de produção.

Neste sentido, pesquisas têm sido voltadas para a avaliação de fontes de energia e proteína que sejam mais baratas e não comprometam os índices produtivos além de manterem a qualidade do leite elevada. Este resultado foi observado por Aguiar et al. (2013), ao utilizarem ureia em substituição ao farelo de soja, demonstrando que fontes de nitrogênio não proteico (NNP) são viáveis na alimentação de vacas leiteiras, quando fornecidas em níveis adequados.

Além disso, muitas indústrias têm gerado coprodutos que vêm sendo utilizados na alimentação animal sem grandes modificações produtivas. Lima et al. (2015) afirmaram que a inclusão do coproduto de fecularia de mandioca demonstrou viabilidade econômica até o nível de inclusão de 10% da matéria seca (MS) da dieta total de vacas em lactação, além de aumentar a produção de leite linearmente.

Desta forma, a utilização de NNP associada ao coproduto de fecularia de mandioca poderia ser uma alternativa alimentar eficaz, pois reduz a utilização de alimentos comumente utilizados na alimentação de vacas de leite, e que encarecem os custos de produção, como é o caso do farelo de soja e milho. Além disso, aliar dois alimentos de rápida degradação ruminal possivelmente melhoraria a síntese proteica e consequentemente os índices produtivos, pois de acordo com Zeoula et al. (1999) este coproduto possui alta concentração de carboidratos de rápida degradação ruminal.

Objetivou-se avaliar a inclusão de níveis de ureia protegida no concentrado associados a silagem de coproduto de fecularia de mandioca na dieta de vacas em lactação.

5.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite da Estação Experimental “Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, Linha Guará, localizada no município de Marechal Cândido Rondon – PR. As análises foram realizadas no Laboratório de Alimentação e Nutrição Animal (LANA) e no Laboratório de parâmetros sanguíneos, ambos pertencentes à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR, no período de agosto de 2016 a janeiro de 2017. Todos os procedimentos experimentais com a utilização dos animais foram submetidos à avaliação e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

Foram utilizadas cinco vacas da raça Holandês entre a 1ª e 4ª lactação, após o pico de produção (aproximadamente aos 100 dias de lactação), com peso corporal médio de $650 \pm 32,7$ kg e produção média inicial de $26,7 \pm 3,06$ kg de leite por dia, sendo adotado um manejo higiênico sanitário apropriado das instalações. Para a distribuição dos animais, adotou-se o delineamento experimental em quadrado latino (5x5), com cinco tratamentos e cinco períodos experimentais de 21 dias, nos quais os 14 primeiros eram destinados à adaptação dos animais as dietas e sete dias para a coleta de dados, totalizando 105 dias. Os tratamentos avaliados foram os níveis de inclusão de 0%, 0,4%, 0,8%, 1,2% e 1,6% de ureia protegida Optigen® II na matéria seca do concentrado, associada ao uso de 75% de da silagem do coproduto de fecularia de mandioca (SCFM) em substituição ao milho, que foi previamente ensilada e aberta aos 40 dias.

Foram realizadas análises bromatológicas (Tabela 1) dos alimentos quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB) pela metodologia da AOAC (1990) e a determinação da fibra em detergente neutro (FDN), segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica foi calculada pela diferença entre o teor de MM e o total de MS. Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados segundo as equações propostas por Sniffen et al. (1992):

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

Os valores de nutrientes digestíveis totais de cada ingrediente foram calculados pela equação descrita por Kunkle e Bates (1998):

$$NDT (\%) = MO\% / 100(26,8 + 0,595(DIVMO (\%)))$$

Para a digestibilidade *in vitro* da (MS) foi utilizada a técnica descrita por Tilley & Terry (1963) e adaptada por Holden et al. (1999), com dois estágios de incubação. As frações de carboidratos foram determinadas segundo Sniffen et al. (1992): frações rapidamente

degradáveis (A + B₁), fração carboidratos fibrosos potencialmente degradáveis (B₂) e fração carboidratos fibrosos não degradáveis (C).

Tabela 1. Composição, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e fracionamento de carboidratos dos ingredientes das dietas experimentais

Composição	Silagem de CFM	Farelo de soja	Milho moído	Silagem de milho
Composição e digestibilidade <i>in vitro</i> (g/kg de MS)				
MS ¹	909,60	895,00	899,00	309,00
MO ²	970,60	929,40	986,10	950,10
EE ³	6,00	32,50	14,60	20,10
PB ⁴	24,00	491,00	80,00	78,00
FDN ⁵	392,10	112,00	122,00	421,02
CT ⁶	941,10	401,50	891,40	829,02
CNF ⁷	549,00	289,50	769,40	408,00
NDT estimado ⁸	774,30	810,00	817,00	771,10
DIVMS	780,13	949,51	975,99	763,49
Fracionamento de carboidratos (g/kg de CT)				
Fração A+B ₁	595,26	894,39	873,34	505,18
Fração B ₂	299,92	67,94	112,65	416,66
Fração C	104,81	37,65	14,00	78,03

¹MS: Matéria Seca; ²MO: Matéria Orgânica; ³EE: Extrato Etéreo; ⁴PB: Proteína Bruta; ⁵FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁶CT: Carboidratos Totais; ⁷CNF: Carboidrato Não Fibrosos; ⁸NDT: Nutrientes Digestíveis Totais. NDT (%) = MO% /100(26,8+0,595(DIVMO (%)))

As dietas (Tabela 2) foram balanceadas para atender às exigências da categoria animal em estudo, conforme as recomendações do NRC (2001).

Os animais foram alojados em estábulo coberto, com piso de concreto e em baias individuais providas de cocho e bebedouro. O peso corporal dos animais foi registrado ao início e final de cada período experimental, por meio do auxílio de uma fita barimétrica com a finalidade de ajustar o fornecimento de matéria seca. O arraçamento foi realizado duas vezes ao dia (às 06h e 16h) nas proporções de 70% e 30%, respectivamente, do total de MS diária oferecida. A alimentação foi oferecida na forma de ração total, misturando o volumoso com a SCFM e o concentrado. As sobras das dietas oferecidas foram pesadas diariamente após o período de alimentação e ajustadas a fim de proporcionar sobras entre 10% e 20%, e assim garantir o consumo voluntário e evitar desperdício dos alimentos. A ingestão da MS foi determinada pela diferença entre o fornecido e as sobras.

Entre o 15° ao 21° dia de cada período experimental, além da pesagem da quantidade ofertada de alimento e de suas respectivas sobras, também foram coletadas amostras de silagem de milho, SCFM, concentrados e das sobras, as quais foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas em freezer a -20°C para posteriores análises.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de matéria seca

Ingredientes	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado				
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%
Silagem de milho	550,00	550,00	550,00	550,00	550,00
Milho moído	58,80	60,63	62,90	64,66	66,46
Farelo de soja	192,00	182,11	171,95	163,02	153,04
SCFM ¹	176,82	182,75	188,69	193,56	199,79
Mistura mineral ²	8,73	8,72	8,71	8,70	8,70
Enxofre	-	0,19	0,38	0,59	0,77
Ureia ³	-	1,75	3,49	5,22	6,96
Fosfato bicálcico	6,40	6,38	6,39	6,80	6,80
Cálcário calcítico	0,43	0,65	0,68	0,63	0,68
Bicarbonato de sódio	6,82	6,82	6,81	6,82	6,80
Composição bromatológica					
MS ⁴	577,64	577,93	578,23	578,51	578,13
MO ⁵	930,60	928,97	927,53	925,69	924,24
EE ⁶	19,21	18,95	18,69	18,45	18,19
PB ⁷	146,03	145,94	145,76	146,04	145,89
FDN ⁸	329,66	331,10	332,57	333,70	335,24
CT ⁹	751,94	755,18	758,71	761,28	764,74
CNF ¹⁰	422,27	424,07	426,13	427,58	429,49
NDT estimado ¹¹	764,57	762,64	760,87	758,84	757,06

¹SCFM: Silagem do Coproduto de Fecularia de Mandioca; ²Composição química (quantidades g/kg do produto): Ca - 215 g, P - 65 g, Co - 45 mg, Mg - 12 g, Mn - 425 mg, Zn - 1.900 mg, Se - 35 mg, I - 65 mg, S - 10 g, F - 650 mg, Fe - 1.700 mg, Cu - 800 mg, Na - 75g (produto comercial); ³Composição: Ureia Pecuária, Óleo Vegetal, Beta Caroteno, Hidroxitolueno Butilado (BHT), Nitrogênio Não Proteico min: 2562,5 g/kg e Nitrogênio min: 410 g/kg; ⁴Matéria Seca; ⁵MO: Matéria Orgânica; ⁶EE: Extrato Etéreo; ⁷PB: Proteína Bruta; ⁸FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁹CT: Carboidratos Totais; ¹⁰CNF: Carboidratos Não Fibrosos; ¹¹NDT: Nutrientes Digestíveis Totais. NDT (%) = $MO\% / 100(26,8 + 0,595(DIVMO (\%)))$

Para determinação da digestibilidade, durante seis dias de cada período experimental, foram coletadas amostras de fezes diretamente da ampola retal conforme a seguinte distribuição: 15º dia (8 horas), 16º dia (10 horas), 17º dia (12 horas), 18º dia (14 horas), 19º dia (16 horas), 20º dia (18 horas). Ao fim de cada período, as amostras de alimentos, sobras e fezes foram descongeladas em temperatura ambiente e pré-secas em estufa de ventilação forçada de ar (55°C - 72 h), posteriormente foram trituradas em moinho de facas tipo Willey com peneira de um milímetro. Ao fim do experimento realizou-se um *pool* composto das amostras de cada alimento, sobras e fezes, resultando em amostra única por animal por período. Posteriormente, foram analisadas quanto aos teores de MS, MM, PB, EE, FDN, conforme descrito anteriormente. Os teores de MO, CT e CNF também foram estimados pelas equações já descritas acima. Os teores de NDT foram calculados segundo as equações propostas pelo Sniffen (1992):

$$NDT = (PBd + CHOd) + 2,25(EEd)$$

Em que, PBd = proteína bruta digestível, EEd = extrato etéreo digestível, CHOd = carboidratos totais digestíveis.

Para a obtenção das estimativas de excreção fecal diária, foi utilizado como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), estimada nas amostras do alimentos fornecidos, sobras e composições fecais, por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* descrita por Cochran et al. (1986). A FDNi foi obtida como o descrito por (CASALI et al., 2008) pela incubação no rúmen, por 240 horas, e em seguida realizando-se a análise de FDN.

As ordenhas foram feitas duas vezes ao dia, às 6h:00 e 16h:00. A produção diária de cada vaca foi registrada durante a semana de coleta de dados de cada período experimental por meio de medidores automáticos acoplados ao equipamento de ordenha. A produção de leite, corrigida para 3,5% de gordura, foi calculada pela equação descrita por Sklan et al. (1992):

$$PLG = (0,432 + 0,1625 \times G) \times \text{kg de leite}$$

Em que, G = % de gordura do leite.

A eficiência de produção de leite (EPL) foi calculada dividindo-se a produção média de leite de cada vaca pela sua ingestão média de MS, em cada período experimental.

Foram coletadas amostras de leite no 15° e 16° dia de cada período experimental, na proporção 70% e 30% para a ordenha da manhã e da tarde, respectivamente. Para as análises químicas do leite, as amostras foram acondicionadas em frascos de plástico contendo o conservante Bronopol® (2-bromo-2-nitropopano-1,3-diol), as quais foram posteriormente encaminhadas para o Laboratório do Programa de Análises do Rebanho Leiteiro do Paraná (PARLPR), pertencente à Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), onde foram analisados quanto aos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, sólidos totais desengordurados, nitrogênio ureico do leite (NUL), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT).

Outras amostras de leite foram destinadas à análise de alantoína, as quais foram previamente desproteinizadas em papel-filtro utilizando 5 mL de ácido tricloroacético a 25% para cada 10 mL de leite. Em seguida, o filtrado foi utilizado para determinação de alantoína pelo método utilizado na determinação de alantoína na urina (CHEN & GOMES, 1992).

Para avaliação de síntese microbiana, foi realizada coleta de urina spot no 17° dia do período experimental, quatro horas pós prandiais. Após a coleta, a urina foi filtrada em gaze e aferido o pH com peagâmetro digital. Uma alíquota de 10 mL de urina filtrada foi acidificada com 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), a qual foi destinada à quantificação das concentrações urinárias de ácido úrico e alantoína. Outra alíquota de 50 mL de urina filtrada foi refrigerada

para a determinação de creatinina (CHEN & GOMES, 1992). A excreção diária de creatinina foi considerada para estimar o volume urinário (CHIZZOTTI et al., 2007).

A excreção de purinas totais (PT) foi estimada pela soma das quantidades de alantoína excretada na urina e no leite e do ácido úrico excretado na urina. A quantidade de purinas microbianas absorvidas (PA) (mmol/dia) foi estimada a partir da excreção de purinas totais (mmol/dia), por meio da equação proposta por Verbic et al. (1990):

$$PA \text{ (mmol/dia)} = PT - (0,385 * PC^{0,75}) / 0,85$$

Em que: 0,85 = recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina na urina; e 0,385 = excreção endógena de derivados de purina na urina (mmol).

O fluxo intestinal de nitrogênio microbiano (g NM/dia) foi estimado a partir da equação de Chen e Gomes (1992):

$$NM \text{ (g/dia)} = (70 * PA) / (0,83 * 0,116 * 1000)$$

Em que: 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 é a relação N-purina:N total de bactérias.

Para a verificação dos metabólitos sanguíneos, foram realizadas coletas de sangue em diferentes horários 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 22 horas no 21º dia de cada período experimental, utilizando-se tubos de 4 mL, através de punção da veia coccígea. As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos para a retirada do soro, o qual foi transferido para *ependorf*, refrigerado e posteriormente foram feitas as análises. As concentrações de ureia e glicose do soro foram realizadas com o uso de “kits” comerciais, utilizando-se espectrofotômetro e calibração automática com leitura de alta performance (Elitech EL 200).

Para a análise de viabilidade econômica foi considerado o valor pago pelo litro do leite ao produtor (R\$ 1,14/L) e os preços referentes aos ingredientes das rações praticados no Paraná, no mês de março de 2016: silagem de milho R\$ 0,39/kg de MS; milho moído R\$ 0,62/kg de MS; farelo de soja R\$ 1,23/kg de MS; SCFM R\$ 0,01/kg de MS; suplemento mineral R\$ 2,40/kg de MS, bicarbonato de sódio R\$ 3,05/kg de MS; fosfato bicálcico R\$ 3,30/kg de MS, calcário calcítico R\$ 0,22/kg de MS, ureia protegida Optigen® II R\$ 4,20/kg de MS e suplemento de enxofre R\$ 7,75/kg de MS. A abordagem econômica, realizada no presente estudo, levou em consideração somente os custos com a alimentação devido à finalidade da pesquisa, não abrangendo os demais custos de produção.

O custo médio por quilo de ração (CMR) foi calculado através da composição centesimal de cada ingrediente na dieta e o seu custo. O custo médio com alimentação (CMA) foi obtido pela multiplicação do CMR em kg pelo consumo médio da dieta total dos animais de cada tratamento. Do mesmo modo, de posse do valor pago pelo litro de leite e da produção

leiteira média, foi calculada a receita bruta (RB) obtida em cada um dos tratamentos. A margem bruta (MB) foi calculada pela diferença entre a RB e o CMA. O ponto de equilíbrio (PE) foi calculado pelo quociente do CMA pelo valor recebido pelo litro de leite, sendo que o mesmo mostra o volume exato de produção em que há retorno zero, ou seja, quando a RB é igual aos CMA.

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial considerando os níveis de inclusão de ureia protegida (0%; 0,4%; 0,8%; 1,2% e 1,6%) ao nível de 5% de probabilidade, testando-se os modelos lineares e quadráticos. Nos casos em que ambos os modelos foram significativos, adotou-se a equação quadrática quando o seu coeficiente de determinação foi dez pontos percentuais superiores ao coeficiente de determinação da equação linear. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + E_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = Observação relativa à i-ésimo animal, ao j-ésimo período e ao k-ésimo tratamento.

μ = Média geral;

A_i = Efeito correspondente ao i-ésimo animal; $i = 1, 2, 3, 4$ e 5 ;

P_j = Efeito correspondente ao j-ésimo período; $j = 1, 2, 3, 4$ e 5 ;

T_k = Efeito correspondente ao k-ésimo tratamento; $k = 0, 0,4, 0,8, 1,2$ e $1,6$;

E_{ijk} = Erro aleatório associado a i-ésimo animal, j-ésimo período e k-ésimo tratamento.

5.3 Resultados e Discussão

Observa-se (Tabela 3) que o peso corporal (PC), a ingestão média diária de matéria seca (IMS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) não foram influenciados pelos níveis de ureia no concentrado.

O efeito observado para IMS demonstra que não houve fatores limitantes à ingestão da dieta, tanto de ordem física quanto energética. Assim, o uso da silagem de coproduto de mandioca associada à ureia não interferiu no consumo dos animais, reforçando a presença de nutrientes de rápida degradação nestes alimentos. Estes dados corroboram com os encontrados por Aguiar et al. (2013), que ao avaliar ureia na alimentação de vacas leiteiras com o nível máximo de 1,75% na MS da dieta total, não observaram efeito para este parâmetro. Caldas Neto et al. (2008) também não observaram variação no consumo de matéria seca, em função dos níveis de inclusão de ureia (0%; 0,1%; 0,3% e 0,9% da MS total da dieta) utilizando farinha de

varredura de mandioca como fonte de energia e ressaltaram que este fato pode ocorrer pela maior disponibilidade de nitrogênio no rúmen, que quando associado à energia de rápida liberação proveniente da farinha de varredura, favorece o desenvolvimento microbiano e a eficiência de utilização do nitrogênio disponível.

Tabela 3. Ingestão diária de matéria seca e dos nutrientes e peso corporal de vacas da raça Holandês em lactação alimentadas com níveis de ureia protegida e silagem de coproduto de fecularia de mandioca

Variáveis	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado					P value		R ²	EPM ¹
	0%,	0,4%,	0,8%,	1,2%	1,6%	L	Q		
PC (kg) ²	669,40	670,40	670,20	677,40	667,60	0,707	0,200	-	2,79
IMS (kg/dia) ³	18,14	18,32	18,27	19,01	18,07	0,746	0,462	-	0,50
IMS (%PC) ⁴	2,71	2,72	2,71	2,79	2,69	0,831	0,621	-	0,07
IMS (g/kg PC ^{0,75}) ⁵	137,91	138,67	138,38	142,87	137,26	0,811	0,581	-	3,75
IMO (kg/dia) ⁶	17,03	17,16	17,12	17,82	16,93	0,776	0,483	-	0,47
IEE (kg/dia) ⁷	0,53	0,53	0,54	0,57	0,52	0,789	0,254	-	0,01
IPB (kg/dia) ⁸	2,61	2,67	2,77	2,84	2,74	0,128	0,263	-	0,08
IFDN (kg/dia) ⁹	5,55	5,67	5,50	5,79	5,43	0,840	0,473	-	0,17
IFDN (%PC) ¹⁰	0,82	0,84	0,82	0,85	0,81	0,815	0,605	-	0,02
ICT (kg/dia) ¹¹	13,88	13,95	13,79	14,39	13,66	0,998	0,574	-	0,39
ICNF (kg/dia) ¹²	8,32	8,27	8,29	8,60	8,22	0,868	0,672	-	0,22
INDT (kg/dia) ¹³	12,86	13,12	13,24	13,22	13,07	0,197	0,516	-	0,35

¹EPM: Erro Padrão da Média; ²PC: Peso Corporal; ^{3,4,5}IMS: Ingestão de Matéria Seca; ⁶IMO: Ingestão de Matéria Orgânica; ⁷IEE: Ingestão de Extrato Etéreo; ⁸IPB: Ingestão de Proteína Bruta; ^{9,10}IFDN: Ingestão de Fibra em Detergente Neutro; ¹²ICT: Ingestão de Carboidratos Totais; ¹³ICNF: Ingestão de Carboidratos Não Fibrosos; ¹⁴INDT: Ingestão de Nutrientes Digestíveis

Não foram observados (Tabela 4) efeitos significativos para os coeficientes de digestibilidade aparente em g/kg da matéria seca (MS), da matéria orgânica (MO), do extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT). Dados similares foram observados por Santos et al. (2011) que ao avaliarem ureia convencional e encapsulada em substituição parcial ao farelo de soja na dieta de vacas leiteiras não observaram efeito na digestibilidade aparente destes nutrientes.

A digestibilidade da proteína bruta (Tabela 4) apresentou efeito quadrático ($P < 0,05$). Isso ocorreu possivelmente devido a variação das concentrações de proteína degradável no rúmen (PDR) à medida que o nível de ureia se elevou. Assim, a digestibilidade da PB da dieta foi favorecida pelo NNP, uma vez que a amônia é fonte de substrato para a microbiota do rúmen. O mesmo não foi observado por Silva et al. (2001) ao avaliarem níveis (0%, 0,7%, 1,4% e

2,10%) de ureia encapsulada na MS da dieta de vacas leiteiras, todavia obtiveram digestibilidade média da PB (77,77%) superior a observada neste estudo.

Tabela 4. Digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes (g/kg de MS) de vacas da raça Holandês em lactação alimentadas com níveis de ureia protegida associada ao uso de silagem de coproduto de fecularia de mandioca

Variáveis	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado					P value		R ²	EPM ¹
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%	L	Q		
DMS ²	660,47	650,05	665,94	648,27	661,71	0,967	0,484	-	5,23
DMO ³	696,05	687,08	704,24	687,13	700,77	0,544	0,554	-	4,81
DEE ⁴	804,00	800,49	829,57	800,84	812,66	0,610	0,510	-	10,67
DPB ⁵	693,85	667,73	698,22	673,70	719,96	0,036	0,009	0,52	7,77
DFDN ⁶	365,02	375,80	387,49	389,88	373,14	0,476	0,212	-	13,03
DCT ⁷	692,25	686,17	700,46	684,91	692,57	0,972	0,907	-	5,31
DCNF ⁸	909,53	896,32	908,43	883,41	904,94	0,476	0,381	-	9,50
NDT calc. ⁹	713,53	711,63	711,46	713,02	716,32	0,218	0,472	-	4,71

¹EPM: Erro Padrão da Média; ²DMS: Digestibilidade da Matéria Seca; ³DMO: Digestibilidade da Matéria Orgânica; ⁴DEE: Digestibilidade do Extrato Etéreo; ⁵DPB: Digestibilidade da Proteína Bruta; ⁶DFDN: Digestibilidade da Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; ⁷DCT: Digestibilidade dos Carboidratos Totais; ⁸DCNF: Digestibilidade dos Carboidratos Não Fibrosos; ⁹NDT calc.: Nutrientes Digestíveis Totais calculado: $NDT = (PBd + CHOd) + 2,25(EEd)$; ⁵Y = $691,880892 - 49,559694x + 40,065988x^2$

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a produção de leite (Tabela 5) e eficiência de produção de leite. No entanto, após a correção para 3,5% de gordura observou-se um efeito quadrático ($P < 0,05$). Silva et al. (2001) ao trabalharem com níveis de ureia no concentrado observaram efeito linear decrescente para a gordura corrigida, fato que foi atribuído as menores ingestões de matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO) de acordo com o aumento do NNP da dieta.

O teor de gordura em g/kg não apresentou efeito, corroborando com Valadares Filho et al. (2000), que ao utilizarem 8,5% de PB na forma de NNP em rações contendo aproximadamente 17% de PB, observaram constância no teor de gordura do leite até 50% de concentrado.

A proteína em g/kg (Tabela 5) apresentou efeito quadrático entre os níveis de ureia ($P < 0,05$). O mesmo efeito foi observado por Silva et al., (2001) em função dos níveis de NNP. Segundo Jonker et al. (1999), dietas com baixos níveis de energia e excesso dos requerimentos de proteína degradável no rúmen (PDR) em relação às exigências da vaca podem resultar em decréscimo na produção de leite e, conseqüentemente, da secreção de proteína do mesmo.

Os teores de lactose e sólidos totais (g/kg) não apresentaram efeito significativo entre os tratamentos ($P > 0,05$), indicando bom aproveitamento dos ingredientes da dieta em todos os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Produção, composição, nitrogênio ureico e qualidade do leite de vacas da raça Holandês em lactação alimentadas com níveis de ureia protegida associada ao uso da silagem de coproduto de fecularia de mandioca

Variáveis	Níveis de ureia protegida no concentrado					P value		R ²	EPM ¹
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%	L	Q		
PL (kg/dia) ²	28,14	28,57	28,45	27,88	26,88	0,136	0,187	-	0,63
PLCG (kg/dia) ³	25,48	27,87	26,85	27,23	24,99	0,593	0,042	79,79	0,92
EPL ⁴	1,40	1,39	1,37	1,35	1,34	0,127	0,395	-	0,03
Gord (g/kg) ⁵	29,00	33,10	31,90	33,30	30,80	0,427	0,080	-	0,14
Prot (g/kg) ⁶	30,40	32,23	31,20	30,07	30,01	0,207	0,030	63,58	0,05
Lact (g/kg) ⁷	44,20	44,20	44,37	44,41	43,80	0,672	0,930	-	0,02
ST (g/kg) ⁸	113,20	119,00	116,30	117,75	114,00	0,970	0,071	-	0,14
NUL (mg/dL) ⁹	13,78	13,92	14,79	14,70	16,08	0,030	0,564	86,15	0,64
CCS (x1000 CS/mL) ¹⁰	571,80	679,80	662,60	793,50	474,40	0,890	0,267	-	87,54
CBT (x1000 UFC/mL) ¹¹	170,60	170,40	64,60	156,20	69,10	0,110	0,880	-	40,91

¹EPM: Erro Padrão da Média; ²PL: Produção de Leite; ³PLCG: Produção de Leite Corrigida 3,5% de gordura; ⁴EPL: Eficiência de Produção de Leite; ⁵Gord: Gordura; ⁶Prot: Proteína; ⁷Lact: Lactose; ⁸ST: Sólidos Totais; ⁹NUL: Nitrogênio Uréico do Leite; ¹⁰CCS: Contagem de Células Somáticas; ¹¹CBT: Contagem Bacteriana Total; ³Ŷ = 25,686308 + 5,217677x - 3,512832x²; ⁶Ŷ = 3,077429 + 0,264607x - 0,198661x²; ⁹Ŷ = 13,582600 + 1,344250x;

O NUL aumentou linearmente (P<0,05) entre os tratamentos (Tabela 5). Este fato é relacionado ao aumento das concentrações de amônia no rúmen proveniente da PDR. Somente o nível de 1,6% foi superior (16,08 mg/dL) as recomendações de Jonker et al. (1998) os quais afirmaram que o NUL deve estar numa faixa entre 10 a 16 mg/dL, caso contrário pode estar havendo excesso de proteína na dieta, o que pode comprometer a produção e a reprodução do rebanho. Estes dados diferem dos observados por Santos et al. (2011), que relataram não haver efeito significativo ao compararem ureia convencional e encapsulada em relação ao grupo controle, obtendo valores para NUL de 15,5 mg/dL, 15,4 mg/dL e 16,6 mg/dL, respectivamente.

Para as concentrações de glicose no plasma sanguíneo (Tabela 6), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e nem efeito sobre a interação do tempo e tratamento (P>0,05). No entanto, no tempo 4h após a alimentação observou-se diferença significativa (P<0,05) com a maior concentração de glicose (61,4 mg/dL) no tratamento 1,6%.

O uso de silagem de coproduto da mandioca e níveis de ureia protegida não comprometeu os níveis de glicose no plasma, ressaltando-se que a glicose é considerada um metabólico sanguíneo vital para as necessidades energéticas. Entretanto, esse resultado é esperado, porque a dieta tem pequeno efeito sobre a glicemia em ruminantes, exceto em animais com severa desnutrição. Entretanto, o teor de glicose sanguínea, apresenta pequenas variações em função dos mecanismos homeostáticos, altamente eficientes, que envolvem os controles endócrinos

por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

Tabela 6. Concentrações de glicose sanguínea em vacas alimentadas com silagem de coproduto de fecularia de mandioca e ureia protegida.

Horas pós alimentação	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado					P value	EP*
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%		
0	59,0	59,4	60,0	62,0	63,0	ns	3,508
1	57,4	59,2	59,4	61,4	64,4	ns	3,508
2	56,0	59,6	59,4	61,4	64,4	ns	3,508
4	43,6	53,2	54,4	55,4	61,4	0,0398	3,508
6	59,6	60,0	62,8	63,2	64,6	ns	3,508
8	61,8	62,4	66,6	70,2	74,6	ns	3,508
12	56,4	57,8	58,2	59,0	66,2	ns	3,508
22	59,2	57,8	58,2	59,0	66,2	ns	3,508

*EP: Erro Padrão

Esses mecanismos homeostáticos que controlam a glicemia tornam difícil estabelecer uma clara relação entre estado nutricional e níveis de glicose, pois além de grande parte dos tecidos utilizarem ácidos graxos livres e corpos cetônicos como fonte energética, o fígado destes animais possui alta função gliconeogênica. Assim, grande parte da glicose disponível para os ruminantes tem origem da gliconeogênese, através do propionato que entra na veia porta, ou o glicerol que é absorvido sem sofrer fermentação e também através da mobilização de proteínas presentes no tecido muscular, com o objetivo de obter aminoácidos gliconeogênicos (CUNNINGHAM, 2004).

Para as concentrações ureia no soro sanguíneo verificou-se comportamento quadrático ($P < 0,05$), em função do tempo para os níveis 0,4%, 1,2% e 1,6%, com pontos de máxima estimados em 41,03, 43,52 e 46,01 respectivamente (Figura 1). Sendo que os maiores valores foram detectados 2h e 4h após a alimentação para os níveis 1,6% e 1,2%, respectivamente. Isto pode ser explicado pelas altas concentrações de amônia no rúmen, que através da difusão são absorvidas pelo epitélio ruminal e direcionadas para a corrente sanguínea. O mesmo não foi observado por Salvador et al. (2008) que ao trabalharem com inclusão de ureia protegida registrou o pico da concentração após oito horas da primeira alimentação. A ureia é um dos indicadores do metabolismo proteico, sendo sintetizada no fígado em quantidade proporcionais a concentração de NH_3 produzida no rúmen e a sua concentração está diretamente relacionada com os níveis proteicos da ração e da relação energia/proteína da dieta (WITTEWER et al., 1993).

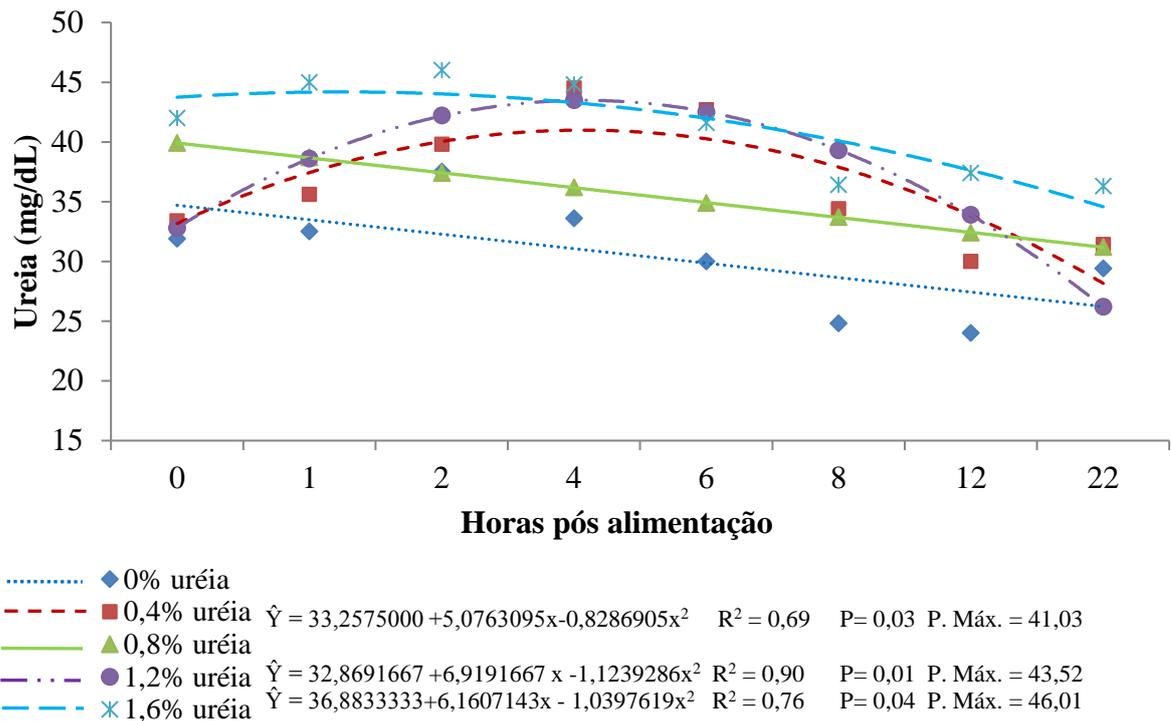


Figura 1. Concentrações de ureia no soro em função de até 22 horas após a alimentação

Normalmente as concentrações de ureia no soro são controladas pelo pH que determina a forma de absorção da amônia pelo epitélio ruminal (REYNOLDS & KRISTENSEN, 2008). Em pH próximo da neutralidade, o que é esperado em vacas leiteiras logo após a dieta da manhã, resultando em maior fluxo de amônia para o sangue, no decorrer do dia o pH está mais baixo, resultando em menor velocidade de absorção da na amônia.

Com relação as excreções dos derivados de purina, não houve efeito significativo ($P > 0,05$) para a alantoína urinária (Tabela 7). O mesmo efeito foi observado por Santos et al. (2011), ao compararem tratamentos com o uso de ureia convencional e encapsulada.

Para as excreções de ácido úrico (Tabela 7) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos avaliados, no entanto, houve tendência ($P = 0,059$) de aumento linear para este parâmetro. Segundo Johnson et al. (1998), a relação entre ácido úrico e derivados de purina na urina pode variar conforme a dieta e o estado fisiológico do animal.

Houve efeito linear positivo ($P < 0,05$) da alantoína do leite em função do aumento dos níveis de ureia. O mesmo não foi observado por Silva et al., (2001) ao fornecerem níveis de NNP na dieta de vacas em lactação. Estes dados também contrariam os observados por Oliveira et al. (2001), que ao avaliarem níveis de NNP na dieta, observaram comportamento linear decrescente e atribuiu este fato ao declínio da produção de leite que ocorreu concomitantemente. De acordo com Gonda & Lindberg (1997), a produção influencia na

determinação da concentração e da quantidade da alantoína excretada no leite. A variação nos percentuais de NNP nas dietas utilizadas pode ter favorecido a esses resultados, mesmo havendo equilíbrio proteico e energético.

Tabela 7. Excreções de derivados de purinas, síntese microbiana e pH urinário de vacas da raça Holandês em lactação alimentadas com níveis de ureia protegida associada ao uso de silagem de coproduto de fecularia de mandioca

Variáveis	Níveis de inclusão de ureia protegida no concentrado					P value		R ²	EPM ¹
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%	L	Q		
Excreções (mmol/dia)									
Alantoína da urina	203,54	197,58	191,62	185,67	179,71	0,435	0,081	-	23,32
Alantoína do leite ³	19,79	26,28	32,77	39,25	45,74	0,004	0,166	0,65	5,81
Ácido úrico	56,85	60,20	63,54	66,89	70,23	0,059	0,980	-	5,06
Purinas totais	280,19	284,06	287,94	291,82	295,70	0,632	0,177	-	24,92
Purinas Microbianas (mmol/dia)									
Purinas absorvidas	270,00	274,44	278,87	283,31	287,75	0,638	0,176	-	29,02
Produção Microbiana (g/dia)									
N-microbiano	196,30	199,53	202,75	205,98	209,20	0,638	0,176	-	21,10
PB-Microbiana	1226,91	1247,08	1267,24	1287,40	1307,56	0,638	0,176	-	138,91
PB-Mic/kg NDT ²	105,64	98,87	95,09	94,31	96,51	0,575	0,346	-	9,51
pH urinário									
pH da urina	7,99	8,04	8,05	8,03	7,97	0,718	0,156	-	0,04

¹Erro Padrão Médio; ²PB-mic/100g NDT: Proteína Bruta Microbiana por 100g de Nutrientes digestíveis total;; ³Y = 19,793266 +16,221447x

Para as purinas totais e absorvidas não houve efeito ($P>0,05$) dos tratamentos. O mesmo efeito foi observado para os valores de N-microbiano, PB-microbiana e PB-mic/kg NDT, demonstrando que houve equilíbrio na disponibilidade de esqueletos de carbono, provenientes dos carboidratos, e amônia proveniente do N degradável, para que ocorresse síntese proteica (NRC, 2001). Além disso, não houve efeito para o pH urinário ($P>0,05$) o que indica que os animais obtiveram um aproveitamento adequado dos nutrientes em todos os tratamentos, sobretudo por conta da capacidade de tamponamento das dietas, fato que foi evidenciado pela ausência de acidose nos animais.

Para a análise da viabilidade econômica (Tabela 8) observa-se que o custo médio da ração (CMR) foi maior nos tratamentos 0% e 0,4% (R\$0,58) em relação aos demais, que foram equivalentes (R\$0,57/kg de MS). Estes dados eram esperados, já que os tratamentos 0% e 0,4% foram os que mais utilizaram farelo de soja, o que contribui para elevação do CMR. Para o custo médio de alimentação, observa-se que o tratamento 1,6% foi o obteve menor valor (R\$10,30/dia) em comparação aos demais. Este fato pode ser explicado pelo menor CMS (18,07 kg/dia) no tratamento 1,6% (Tabela 3), apesar de não ter demonstrado diferença estatística.

Tabela 8. Análise econômica da utilização de dietas com níveis de ureia protegida associados ao uso da silagem de coproduto de fecularia de mandioca

Variáveis	Níveis de ureia protegida no concentrado				
	0%	0,4%	0,8%	1,2%	1,6%
Custo médio da ração (R\$/kg de MS)	0,58	0,58	0,57	0,57	0,57
Custo médio de alimentação (R\$/dia)	10,52	10,63	10,41	10,84	10,30
Receita bruta média (R\$/dia)	32,08	32,57	32,43	31,78	30,64
Margem bruta média (R\$/dia)	21,56	21,94	22,02	20,95	20,34
Ponto de equilíbrio médio (kg/dia)	9,23	9,32	9,14	9,51	9,04

Os tratamentos 0,4% e 0,8% foram os que garantiram maiores retornos econômicos com R\$ 21,94 e R\$ 22,02/vaca/dia, respectivamente. No entanto, levando-se em consideração o ponto de equilíbrio, o tratamento 1,6% foi o mais rentável em comparação aos demais, uma vez que este necessitou de uma menor produção de leite para cobrir os custos com alimentação (9,04 kg/dia).

5.4 Conclusão

Recomenda-se a inclusão de até 1,6% de ureia protegida no concentrado associada à silagem do coproduto de fecularia de mandioca sem interferir nos parâmetros de ingestão de matéria seca e produção de leite, garantindo retorno econômico ao produtor.

REFERÊNCIAS

- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1025p.
- AGUIAR, A. C. R.; OLIVEIRA, C. R.; CALDEIRA, L. A. et al. Consumo, produção e composição do leite e do queijo de vacas alimentadas com níveis crescentes de ureia. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 20, n. 1, p. 37-42, 2013.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CALDAS NETO, S.F.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N. et al. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.2, p.1094-1102, 2008.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details**. Bucksburnd: Rowett Research Institute/International Feed Research Unit, p. 21, 1992.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- CUNNINGHAM, J.G., 2004. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- GONDA, H.L.; LINDBERG, J.E. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.364-373, 1997.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006, 357p.
- HOLDEN, L.A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for tem feeds. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 171794, 1999.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS - IBGE. Indicadores IBGE, Estatística da Produção Pecuária, 2015. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2015>> Acesso em 31/01/2016
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**.v.81, n.10, p. 2681-2692, 1998.

- JONKER, J.S., KOHN, R.A., ERDMAN, R.A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p1261-1273, 1999.
- JOHNSON, L.M., HARRISON, J.H., RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p.2408-2420, 1998.
- KUNKLE, W. E.; BATES, D. B. Evaluating feed purchasing options: energy, protein, and mineral supplements. **In: FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE**, 1998, Gainesville. Proceedings... Gainesville: University of Florida, p.59-70, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh revised edition, Washington D.C.: National Academy Press, 2001. 360p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- REYNOLDS, C.K.; KRISTENSEN, N.B. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. **Journal Animal Science**, v.86, p. 293-305, 2008.
- SALVADOR, S.C.; PEREIRA, M.N.; SANTOS, J.F. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos: I, consumo e digestão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.682-690, 2008.
- SANTOS, J.F.; DIAS JÚNIOR, G.S.; BITENCOURT, L.L. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.423-432, 2011.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1639-1649, 2001.
- SKLAN, D.; ASHKENNAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços f1 Simental x Nelore. 1. Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.3, p.910-920, 2000.

- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of British Grassland**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VALADARES FILHO, S.C., BRODERICK, G.A., VALADARES, R.F.D. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on nutrient utilization and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.06-114, 2000.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.
- WITTWER, F.; REYES, J. M.; OPTIZ, H., CONTRERAS, P.A., BOHMWALD,H. Determinación de urea em muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 25, p.165-172, 1993.
- ZEOULA, L.M.; MARTINS, A.S.; ALCALDE, C.R. et al. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.905-912, 1999.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de ensilagem do coproduto de fecularia de mandioca foi eficaz em aumentar os teores de matéria seca até os 120 dias. No entanto, foi observado que o perfil microbiológico interferiu diretamente na elevação das frações fibrosas da silagem o que pode ter reduzido a digestibilidade da fibra em detergente neutro. Com isso, torna-se necessário o aperfeiçoamento de técnicas que evitem a entrada de oxigênio nos silos, prevenindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, além de garantir uma fermentação adequada e consequentemente redução do pH.

A utilização de até 1,6% de ureia associada a dietas que utilizem o coproduto de fecularia de mandioca desidratado ou ensilado não altera a produção de gás *in vitro*. Portanto, a amônia proveniente da hidrólise da ureia não interferiu nos processos fermentativos em todos os tratamentos avaliados.

A utilização de ureia protegida no concentrado associada à silagem do coproduto de mandioca demonstrou eficácia até o nível de 1,6% pois os índices de produção de leite não foram afetados, recomendando-se sua utilização. Logo, todos os tratamentos foram eficazes em garantir a sincronização entre proteínas e carboidratos, demonstrando que a ureia associada à silagem deste coproduto garante o equilíbrio nutricional de vacas leiteiras, além de contribuir para o retorno econômico ao produtor.