Efeitos da adição de monensina ou propilenoglicol à polpa cítrica sobre a cinética de degradação dos carboidratos totais e da produção cumulativa de gases *in vitro*

[Effects of adding monensin or propylene glycol to citrus pulp on the degradability of total carbohydrates and in vitro cumulative gas production]

B.N. Faria¹, R.B. Reis^{2*}, R.M. Maurício³, A.M.Q. Lana², L.A. Leite¹, S.G. Coelho², H.M. Saturnino²

¹Aluno de pós-graduação - EV-UFMG - Belo Horizonte, MG ²Escola de Veterinária - UFMG - Belo Horizonte, MG ³Fundação Ezequiel Dias - Belo Horizonte, MG

RESUMO

Avaliaram-se os efeitos da adição de propilenoglicol e/ou monensina sobre a degradabilidade média e efetiva dos carboidratos totais, pH e produção cumulativa de gases da polpa cítrica por meio da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. Os tratamentos constituíram-se de polpa cítrica (PC); associada ao propilenoglicol (PC+PG); monensina (PC+MO); propilenoglicol e monensina (PC+PG+MO), avaliados com duas, quatro, seis, 12, 24, 48 e 96 horas. A degradabilidade efetiva dos carboidratos totais de PC+PG foi maior em todas as taxas de passagem estudadas. A produção cumulativa de gases e a degradação dos carboidratos totais apresentaram correlação elevada, variando de 92 a 97% (P<0,01). O pH do meio foi inversamente correlacionado ao aumento da degradabilidade dos carboidratos totais (r= -79%, P<0,01). O propilenoglicol promoveu a maior degradabilidade efetiva dos carboidratos totais e pode ser um bom aditivo a ser utilizado em associação com a polpa cítrica.

Palavras-chave: polpa cítrica, aditivos, cinética de degradação, ionóforos

ABSTRACT

The effects of propylene glycol and/or monensin on the total carbohydrate degradations, pH, and cumulative gas production of citrus pulp using the semi-automated in vitro gas production technique were evaluated. The treatments were constituted of citrus pulp (CP); CP plus propylene glycol (CP+PG); CP plus monensin (CP+MO), and CP plus propylene glycol and monensin (CP+PG+MO), which were evaluated at two, four, six, 12, 24, 48, and 96 hours. The addition of propylene glycol to the citrus pulp resulted in the highest (76.7; 63.9; and 56.5% for rates of passage 0.02; 0.05 and 0.08%/h, respectively) total carbohydrates degradability. Cumulative gas production and degradation of total carbohydrates were highly correlated (92 to 97%, P < 0.01). The pH was inversely correlated to degradability of total carbohydrates (r = -0.79, P < 0.01). Propylene glycol showed higher effective degradation of total carbohydrate and may be a good additive to be used associated to the citrus pulp.

Keywords: citrus pulp, additives, ruminal fermentation kinetic, ionophor

INTRODUÇÃO

A polpa cítrica é um subproduto da indústria alimentícia amplamente utilizada nos países europeus e nos EUA, nos quais, em torno de 90% da polpa cítrica é destinada a alimentação

de vacas em lactação. No Brasil, as médias da exportação de polpa cítrica, entre as safras de 1996 e 2004, foram próximas a 1,3 milhões de toneladas (Associação..., 2005). Nos últimos anos, a polpa cítrica vem despertando maior interesse dos pecuaristas brasileiros, uma vez

Recebido em 1 de julho de 2007 Aceito em 30 de maio de 2008 Autor para correspondência (corresponding author) E-mail: rbreis@vet.ufmg.br que sua cotação nos mercados externo e interno pode apresentar valores inferiores ao do milho.

A polpa cítrica é considerada um alimento concentrado energético, que possui em torno de 85 a 90% do valor energético do milho, não sendo, entretanto, boa fonte protéica. A utilização desse alimento, no entanto, não pode ser analisada sob simples comparação energética com o milho. Segundo Mertens (2000), a polpa cítrica teria uma ação importante como fibra fisicamente efetiva na dieta de ruminantes. Como tal, a adição da polpa cítrica a dietas de ruminantes promoveria maior taxa de ruminação e maior produção de saliva. A maior salivação aumentaria o tamponamento ruminal, evitando-se quedas bruscas de pH.

A utilização de aditivos na dieta de ruminantes na tentativa de aumentar o desempenho desses animais também vem sendo prática muito utilizada na bovinocultura moderna (Nagaraja et al., 1997). Dentre esses aditivos, o propilenoglicol e os ionóforos têm destaque na experimentação animal. O uso desses aditivos visa a aumentar as concentrações plasmáticas de glicose, a diminuir a incidência de doenças metabólicas e a aumentar a produção animal.

O objetivo neste trabalho foi avaliar o uso dos aditivos propilenoglicol e/ou monensina sobre a cinética de degradação e degradabilidade efetiva dos carboidratos totais da polpa cítrica mediante uso da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se, como substrato, polpa cítrica adquirida no mercado de insumos em Belo Horizonte, MG. A polpa cítrica utilizada apresentou 53,7% de matéria seca (MS); 7,9% de proteína bruta (PB); 16,4% de fibra em detergente neutro (FDN) e 10,5% de fibra em detergente ácido (FDA). Como aditivos, foram utilizados a monensina sódica (MO, 100% de pureza) e o propilenoglicol (PG, 99% de pureza).

Os substratos constituíram-se de incubação da polpa cítrica sem aditivo (PC); da PC associada ao propilenoglicol (PC+PG); da PC associada à monensina (PC+MO) e PC associada ao PG e à MO (PC+PG+MO). Para cada tratamento foram

utilizados 21 frascos de fermentação, sendo três frascos para cada tempo de avaliação. Outros 84 frascos foram utilizados com a finalidade de medir a produção de gases na ausência do substrato em cada tempo de avaliação, para a correção dos resultados, sendo três sem polpa cítrica e aditivos, três com propilenoglicol, três com monensina e três com associação dos aditivos

O cálculo da quantidade de aditivo utilizado em cada frasco foi feito com base na ingestão diária de matéria seca da doadora do conteúdo ruminal. Foram consideradas as doses de 300mg e 300ml por animal/dia para a MO e o PG, respectivamente. A partir destes cálculos foram utilizados 0,27mg de MO e 0,013ml de PG em cada frasco de fermentação com 1g de MS do substrato. Os aditivos, diluídos em solvente inerte (dimetilsulfóxido), foram adicionados a cada frasco com o auxílio de micropipeta de 1000µl.

Os parâmetros cinéticos de degradação ruminal foram analisados por meio da técnica in vitro semi-automática de produção de gases (TIVSAPG) (Maurício et al., 1999). O inóculo foi preparado com líquido ruminal obtido de uma vaca da raça Holandesa em lactação, mediante uso de cânula ruminal. O animal estava adaptado à dieta à base de silagem de milho, farelo de soja, milho triturado e polpa cítrica, com 18% de PB e relação concentrado/volumoso de 46/56, com base na MS, fornecida na forma de ração total. O conteúdo ruminal foi retirado antes do fornecimento da dieta e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas e imediatamente transportadas para o laboratório de nutrição animal.

As leituras de pressão foram realizadas às duas, quatro, seis, oito, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas após a inoculação. Os dados de pressão foram utilizados para o cálculo dos volumes de gases produzidos de acordo com Mauricio et al. (2003) e Nogueira et al. (2006).

Após a leitura da pressão realizada às duas, quatro, seis, 12, 24, 48 e 96 horas de fermentação, três frascos de fermentação (triplicata) foram retirados de cada tratamento. Os resíduos de fermentação foram obtidos mediante filtragem do material contido nos

frascos de fermentação em cadinhos de porosidade de um micron¹ acrescidos de lã de vidro.

Os resíduos de fermentação ainda foram secos por 24 horas em estufa a 100°C e pesados para cálculo dos valores de resíduo não degradado da matéria seca.

No momento da filtragem das amostras, cerca de 15ml do resíduo líquido da fermentação foram coletados em béquer de 20ml e utilizados para a mensuração do pH.

O delineamento estatístico, para avaliar a degradabilidade da matéria seca, variações no pH do meio e produção de gases, foi em blocos ao acaso no esquema de parcelas subdividida sendo a parcela composta por um fatorial 2x2 (com e sem MO e com e sem PG) e as subparcelas compostas pelos tempos de retirada dos frascos de fermentação (duas, quatro, seis, 12, 24, 48 e 96h).

Para verificar a normalidade e homocedasticidade de variâncias, utilizaram-se os testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. O teste estatístico utilizado para comparação de substratos foi o de Fisher com $\alpha = 0.05$. Para a

degradação de carboidratos totais, realizou-se o ajuste de modelo de regressão em função de tempos de avaliação. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAEG (Sistema ..., 1997).

O modelo de France et al. (1993) foi utilizado para descrever o potencial máximo de produção de gases (A), o tempo de colonização (L) e a taxa de produção de gases (µ) por meio do programa MLP (Oficial..., 1980).

Foram ainda calculadas as taxas de degradação efetiva dos carboidratos totais para as taxas de passagem de 2%, 5% e 8%/h para baixo, médio e alto consumo, respectivamente, conforme especificações do AFRC (Nutritive..., 1992), empregando-se a equação proposta por France et al. (1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de degradabilidade média dos carboidratos totais são apresentados na Tab 1. Não houve efeito significativo dos substratos e das interações (P<0,05) sobre a degradação média dos carboidratos totais da polpa cítrica durante todo o período experimental.

Tabela 1. Degradabilidade média dos carboidratos totais (%) da polpa cítrica associada ou não ao propilenoglicol e/ou monensina

Substrato		Tempo pós-inoculação (h)							
Substrato	2	4	6	12	24	48	96	geral	
PC	48,89	57,85	65,94	74,48	74,70	80,90	90,84	70,51	
PC+PG	52,82	60,54	65,62	72,04	74,55	82,31	90,09	71,14	
PC+MO	51,75	57,96	65,27	73,09	76,00	84,52	87,14	70,82	
PC+PG+MO	51,14	58,44	67,52	74,78	76,75	85,32	87,10	71,58	
Média geral	51,15	58,70	66,09	73,60	75,50	83,26	88,79	•	

PC: polpa cítrica; PG: propilenoglicol; MO: monensina.

Não houve diferença entre médias segundo o substrato pelo teste F (P<0,05). CV: 2,6%.

Nas primeiras duas horas de fermentação, 50% da polpa cítrica foram degradados (Tab. 1 e Fig. 1). O modelo de regressão para degradação de carboidratos totais foi log (degradação) = 1,69+0,1368*log (tempo) com r² = 94,2%. A taxa de degradação foi de 53,8; 59,2; 62,6; 68,8;

75,6; 83,2 e 91,1 %, para os tempos de duas, quatro, seis, 12, 24, 48 e 96 horas, respectivamente. Houve alta taxa de degradação nas primeiras seis horas, e diminuição até o final do período experimental, independente da presença ou não dos aditivos.

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.60, n.3, p.691-697, 2008

¹Pirex - Vidrotec Ltda. – São Paulo, Brasil.

A elevada taxa de degradação da polpa cítrica (próximas de 50%) às duas horas ocorreu provavelmente devido à pectina, um dos principais constituintes da polpa cítrica e que é, segundo Van Soest et al. (1991), um carboidrato estrutural de alta e rápida degradação ruminal.

As degradabilidades efetivas dos carboidratos totais da polpa cítrica, adicionada ou não de propilenoglicol e/ou monensina, calculadas para taxas de passagem de 0,02; 0,05 e 0,08/h são mostradas na Tab. 2.

A utilização de aditivos melhorou a degradação efetiva da polpa cítrica, principalmente com o propilenoglicol. Czerkawski e Breckerindge (1973), em experimento *in vitro*, observaram que a dieta exerceu efeito sobre a utilização do propilenoglicol. A metabolização desse aditivo foi maior (100%) em

animais alimentados com polpa de beterraba. Esse trabalho sugere que a população microbiana predominante pode afetar a degradação do propilenoglicol no rúmen e que isto estaria relacionado ao metabolismo da ramnose, uma vez que seriam metabolizados por rotas semelhantes (por via do lactaldeído).

Como a polpa de beterraba, a polpa cítrica, também, é rica em ramnose, um constituinte da pectina (Van Soest, 1994). O líquido rumenal foi obtido de um animal em cuja dieta havia polpa cítrica, propiciando uma microbiota adaptada à metabolização da ramnose. Essa maior população de microrganismos com a via do lactaldeído poderia justificar a maior degradação efetiva da matéria seca observada quando o propilenoglicol foi utilizado em conjunto com a polpa cítrica.

Tabela 2. Degradabilidades efetivas (%) da matéria seca da polpa cítrica associada ou não de propilenoglicol e/ou monensina calculadas para taxas de passagem de 0,02; 0,05 e 0,08/h

Substrato	Т	axa de passagem (%/	h)
	0,02	0,05	0,08
PC	71,46	56,26	48,44
PC+PG	76,67	63,88	56,49
PC+MO	74,25	62,43	55,52
PC+PG+MO	74,29	62,53	55,66

PC: polpa cítrica, PG: propilenoglicol, MO: monensina.

Os valores relativos à produção cumulativa de gases e os valores dos parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993) encontram-se na Tab. 3.

A utilização de monensina com ou sem propilenoglicol resultou em menor (P<0,05) produção cumulativa de gases somente às 96 horas de fermentação em relação aos grupos sem monensina.

O uso de aditivos, de maneira isolada ou associada, não promoveu alterações na velocidade de fermentação dos substratos, pois a taxa de produção de gases foi muito próxima entre os tratamentos, variando entre 0,09 (PC, PC+MO e PC+PG+MO) e 0,10 ml/g carboidratos totais (PC+PG).

Quanto ao potencial máximo de produção de gases, o tratamento PC+PG apresentou o maior valor (326ml/g carboidratos totais) seguido por PC e PC+MO (317 e 316ml/g carboidratos totais, respectivamente). Já a associação dos aditivos (PC+PG+MO) apresentou 311ml/g carboidratos totais como potencial máximo de produção de gases.

Tabela 3. Produção cumulativa de gases e parâmetros de produção de gases estimados pelo modelo de France et al. (1993) da polpa cítrica associada ou não ao propilenoglicol e/ou monensina

Trance et al. (1999) da polpa entrea associada ou não do prophenoglicor e/ou monensina								
	Produção cumulativa de gases							
Substrato		(ml/g de carboidrato total)				A	Lag	μ
	6h	12h	24h	48h	96h			
PC	111,90a	208,19a	276,75a	306,69a	332,97a	317	1,26	0,09
PC+PG	114,90a	211,45a	280,70a	312,72a	337,14a	326	1,30	0,10
PC+MO	112,71a	210,25a	277,76a	310,42a	323,41b	316	1,09	0,09
PC+PG+MO	113,42a	207,22a	273,85a	305,03a	318,61b	311	1,11	0,09

A: potencial máximo de produção de gás; Lag: tempo de colonização (h); μ: taxa de produção de gases (total/h); PC: polpa cítrica; PG: propilenoglicol; MO: monensina.

A utilização de monensina, com ou sem propilenoglicol, promoveu menor tempo de colonização, sendo de 1,09h para PC+MO e 1,11h para PC+MO+PG. O menor tempo de colonização pode estar relacionado às mudanças da microbiota causadas pela ação da monensina, uma vez que esse aditivo é um antimicrobiano capaz de diminuir a população de bactérias Gram positivo presentes no rúmen (Russel e Strobel, 1988). No entanto, a possível alteração na população microbiana pode ser a responsável pelo decréscimo do potencial máximo de produção de gases.

Wedeaertner e Johnson (1983) e Oscar et al. (1987) evidenciaram que a alteração da população microbiana do rúmen induzida por ionóforos leva a menor produção de metano. A extensão dessa redução é variável com valores encontrados valores na literatura, entre 4 e 31%.

Além dos efeitos sobre a produção de metano, Chalupa et al. (1980) observaram menor produção de dióxido de carbono quando foram utilizados altos níveis de ionóforos na dieta de ruminantes, o que também poderia ser responsável pelo menor potencial de produção de gases observado no presente experimento.

Observou-se alta correlação entre produção cumulativa de gases e degradabilidade dos carboidratos totais para todos os tratamentos, variando de r= 0,92,0 a 0,97 (P<0,01). Apesar dessa alta correlação, algumas diferenças foram observadas entre os resultados de degradabilidade e produção de gases.

Quando os valores de produção cumulativa de gases foram analisados estatisticamente, alguns tratamentos que eram semelhantes quanto à degradabilidade dos carboidratos totais apresentaram diferencas estatísticas (P<0.05).

Além do efeito antimicrobiano da monensina, outros pontos podem ter contribuído para a diferença de resultados. A menor acurácia nos valores de degradabilidade pode ter ocorrido, pois esse é um método gravimétrico (Pell e Schofield, 1997). Nesse tipo de mensuração observa-se o desaparecimento do substrato, mesmo que não contribua com a fermentação. Na técnica em que há mensuração dos gases produzidos, o que é medido, na realidade, é o produto da fermentação (Getachew et al., 1998).

De acordo com Blümmel e Ørskov (1993), os gases produzidos e mensurados na técnica *in vitro* são oriundos de duas fontes: produção direta (CO₂ e CH₄), a partir da fermentação microbiana dos substratos utilizados e produção indireta, quando os gases produzidos são originados da reação entre os ácidos graxos voláteis (AGV) e a solução tampão (CO₂ liberado a partir do bicarbonato presente no tamponante).

A relação entre a quantidade de gases produzidos direta e indiretamente não é constante, e pode variar conforme os tipos de alimentos e tamponantes utilizados, propiciando diferentes produções e proporções de AGV. Quando forragens são avaliadas em solução tampão de bicarbonato, cerca de 50% do total de gases produzidos é gerado por reação do tampão com os AGV; nos concentrados, esse valor sobe para cerca de 60% (Blümmel e Ørskov, 1993). Então, a diferença na produção indireta de gases estaria relacionada à proporção molar propionato (Getachew et al., 1998).

Classicamente os ionóforos são conhecidos por alterarem a proporção molar de AGV produzidos no rúmem, devido ao aumento do ácido propiônico (C₃) em detrimento dos ácidos acético (C₂) e/ou butírico (C₄), geralmente sem causar grandes alterações sobre a produção total de AGV (Schelling, 1984). A maior produção de propionato promovida pela utilização da monensina poderia estar relacionada à diferença encontrada entre a produção de gases e a degradabilidade da matéria seca.

A fermentação da polpa cítrica apresentou diferenças significativas (P<0,05) entre os tratamentos às 6 horas (Tab. 4), sendo o pH de PC+MO (6,83) mais elevado que os encontrados para PC (6,71) e PC+PG+MO (6,70).

A característica da monensina em manter o pH mais estável vem sendo utilizada na tentativa de diminuir a incidência de acidose subclínica em bovinos de leite e corte (McGuffey et al., 2001). Segundo Dennis et al. (1981), a monensina inibe a maioria das bactérias ruminais produtoras de lactato, enquanto as consumidoras de lactato são resistentes a essas substâncias.

Tabela 4. Variação do pH nos frascos de fermentação durante a degradação da polpa cítrica associada ou

não ao propilenoglicol e/ou monensina

Cubatrata		Tempo pós-inoculação (h)						
Substrato	2	4	6	12	24	48	96	
PC	6,86a	6,82a	6,71b	6,55a	6,55a	6,56a	6,59a	
PC+PG	6,92a	6,78a	6,75ab	6,59a	6,56a	6,54a	6,58a	
PC+MO	6,95a	6,82a	6,83a	6,57a	6,59a	6,59a	6,62a	
PC+PG+MO	6,93a	6,75a	6,70b	6,54a	6,59a	6,62a	6,59a	

PC: polpa cítrica, PG: propilenoglicol, MO: monensina.

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste F (P<0,05). CV: 0,5%.

Em experimentos realizados por Nagaraja et al. (1981; 1982), a utilização de lasalocida ou monensina possibilitou menores quedas no pH rumenal mesmo após a infusão *in vivo* de glicose ou grão de milho finamente moído. Ainda segundo estes autores, as contagens de colônias de *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* sp. (bactérias Gram positivo produtoras de lactato) foram menores no líquido ruminal colhido dos animais suplementados com ionóforos, enquanto o número de bactérias utilizadoras de lactato (Gram negativo) permaneceu inalterado.

Segundo Van Soest (1994), os microrganismos celulolíticos e pectinolíticos são muito sensíveis à queda no pH ruminal. Como essa microbiota é fundamental na degradabilidade da celulose e da

pectina, em ambientes com pH abaixo de 6,0, a degradação dessa substância se torna mais difícil. Devido à eficiência do tampão fosfato utilizado no meio de cultura da TIVSAPG, em nenhum momento os valores de pH apresentaram-se abaixo de 6,5, não interferindo, assim, na degradabilidade da fibra.

É importante salientar que *in vivo* a manutenção do pH ruminal não é tão eficiente quanto à observada na técnica *in vitro*. As pequenas variações de pH observadas neste experimento provavelmente não refletem as condições de um ruminante no período pós-prandial, em que a utilização de monensina pode ainda ser mais efetiva.

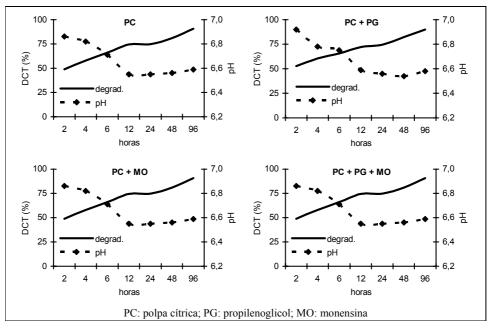


Figura 1. Degradação média dos carboidratos totais (DCT%) e mudanças no pH nos frascos de fermentação para polpa cítrica associada ou não ao propilenoglicol e/ou monensina.

A maior degradabilidade da MS ao longo do tempo (Fig. 1) foi acompanhada pela queda dos valores de pH em todos os tratamentos. O pH do meio foi inversamente relacionado ao aumento da degradabilidade dos carboidratos totais (r= -79%, P<0,01). Com o aumento da degradação dos substratos, houve maior produção de AGV. Como a TIVSAPG é um sistema fechado, os AGV se acumularam no meio de cultura, saturando-o e promovendo o abaixamento do pH.

CONCLUSÕES

A utilização de propileno glicol promove maior degradação efetiva dos carboidratos totais da polpa cítrica, podendo ser um bom aditivo a ser utilizado em associação com a polpa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO Brasileira dos Exportadores de Citrus, 2005. Disponível em: http://www.abecitrus.com.br>. Acessado em: 29 jun.2005.
- BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E.R. Comparation of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in prediction feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.40, p.109-119, 1993.
- CHALUPA W.; CORBETT, W.; BRETHOR, J.R. Effects of monensin and amicloral on rúmen fermentation. *J. Anim. Sci.*, v.51, p.170-179, 1980.
- CZERKAWISK, J.W.; BRECKERINDGE, G. Dissimilation of 1,2-propanediol by rumen microorganisms. *Br. J. Nutr.*, v.29, p.317-330, 1973.
- DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G; BARTLEY, E.E. Effect of lasalocid or monensin on lactate-producing or using rumen bacteria. *J. Anim. Sci.*, v.52, p.418-426, 1981.
- FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; THEODOROU, M.K. et al. A model to interpret gas accumulation profiles with in vitro degradation of ruminant feeds. *J. Theor. Biol.*, v.163, p.99-111, 1993.
- GETACHEW, G.; BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S. et al. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.72, p.261-281, 1998.
- MAURICIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants fedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.79, p.321-330, 1999.
- MAURÍCIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semiautomática de produção de gases na avaliação de

- forrageiras tropicais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.55, 2003.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKISON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy Sci.*, v.84, suppl.E, p.E194-E203, 2001.
- MERTENS, D. Physically effective NDF and its use in dairy rations explored. *Feedstuffs*, v.4, p.16-20, 2000.
- NAGARAJA, T.G; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E. et al. Prevention of latic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. *J. Anim. Sci.*, v.53, p.206-216, 1981.
- NAGARAJA, T.G; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E. et al. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.54, p.649-658, 1982.
- NAGARAJA, T.G., NEWBOLD, C.J., VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). *Rumen microbial ecosystem*. London: Blackie, 1997. p.523-631.
- 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. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p. 633-641, 2006.
- NUTRITIVE requirements of ruminant animal. AFRC. *Nutr. Abstr. Rev.*, n.9, p.65-71, 1992.
- OFFICIAL methods of analysis. 13.ed. Washington: AOAC, 1980. 1015p.
- OSCAR, T.P.; SPEARS, J.W.; SHIB, J.C.H. Performance, methanogenensis and nitrogen metabolism of finishing steers fed monensin and nickel. *J. Anim. Sci.*, v.64, p.887-896, 1987.
- PELL A.N.; SCHOFIELD, P. In vitro digestibility and gas production. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.110-132.
- RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Effects of additives on *in vitro* ruminal fermentation: a comprasion of monensin and bactracin, another gram-positive antibiotic. *J. Anim. Sci.*, v.66, p.552-558, 1988.
- SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.*, v.58, p.1518-1527, 1984.
- SISTEMA de análises estatísticas. SAEG. Viçosa: UFV, 1997. 52p.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of ruminant*. 2.ed. Ithaca: NY, 1994. 476p
- WEDEGAERTNER, T.C., JOHNSON, D.E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn silage diet fed to steers. *J. Anim. Sci.*, v.57, p.168-177, 1983.