

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – PPGCA**

**ANDERSON MOURA DA SILVA**

**CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM  
SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE  
RUMINANTES**

**LAGES  
2023**

**ANDERSON MOURA DA SILVA**

**CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM  
SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE  
RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.  
Orientador: Prof. Dr. Henrique M.N.R Filho  
Co-orientador: Dra. Fernanda Hentz

**LAGES**

**2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Silva, Anderson Moura  
CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE GRÃO-ÚMIDO DE  
CERVEJARIA EM SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E  
FARELO DE SOJA NA DIETA DE RUMINANTES / Anderson  
Moura Silva. -- 2023.  
48 p.

Orientador: Henrique M. N. R Filho  
Coorientadora: Fernanda Hentz  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação , Lages, 2023.

1. Grão úmido de cervejaria. 2. cevada. 3. consumo. 4.  
digestibilidade. I. Filho, Henrique M. N. R. II. Hentz, Fernanda.  
III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de  
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação . IV.  
Título.

**ANDERSON MOURA DA SILVA**

**CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM  
SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE  
RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.  
Orientador: Prof. Dr. Henrique M.N.R Filho  
Co-orientador: Dra. Fernanda Hentz

Lages, 27 de janeiro de 2023

**ANDERSON MOURA DA SILVA**

**CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJARIA EM  
SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE  
RUMINANTES**

**BANCA EXAMINADORA**

Dra Fernanda Hentz  
University of Florida

Dr. Gilberto Gilmar Kozloski  
UFSM – Santa Maria/RS

Dra. Vanessa Ruiz Favaro  
EPAGRI – Lages/SC

Lages, 27 de janeiro de 2023

Aos estudantes da Universidade  
do Estado de Santa Catarina, pela  
inspiração de sempre!.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador por aceitar conduzir o meu trabalho de pesquisa, por toda orientação, paciência e comprometimento que a mim foram depositados. A todos os meus professores do curso de da Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc pela excelência da qualidade técnica de cada um.

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória. Sou grato à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida.

A minha esposa, pois sem ela nada seria possível, por todo apoio, motivação e exemplo de perseverança e determinação que és pra mim. Por nunca ter me deixado esmorecer e sempre com uma força e determinação única me estimulou a dar o melhor de sob quaisquer situações. A ti agradeço por tudo.

Aos colegas que nunca mediram esforços para me ajudar e por toda a cumplicidade e amizade que construímos no decorrer dessa jornada.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.” (José de Alencar).*

## RESUMO

A utilização de resíduos da agroindústria na alimentação animal pode reduzir custos e eliminar dejetos advindos do processamento de matérias-primas. Objetivou-se avaliar a efetividade do sal comum (NaCl) na preservação do resíduo úmido de cervejaria (RUC) e o impacto da inclusão do RUC como substituto da silagem de milho e do farelo de soja em dietas para ovinos. Foram conduzidos dois ensaios. No primeiro, o RUC foi distribuído em caixas plásticas com três repetições por 30 dias. Os tratamentos consistiram em um controle negativo (sem aditivo), um controle positivo (formato de sódio, 3 g/kg de RUC) e três níveis de NaCl: 25, 30 e 35 g/kg de RUC. Amostras foram coletadas a cada três dias para análise da composição química, pH e composição microbiológica. No segundo ensaio foram utilizados oito cordeiros machos de seis meses de idade, com peso médio de  $58,5 \pm 5,2$  kg, colocados em gaiolas metabólicas individuais. O delineamento experimental foi um duplo quadrado latino 4x4, com quatro períodos de 14 dias (9 dias de adaptação e 5 de coletas). Os tratamentos avaliados foram: 0, 10, 20 e 30% de RUC em substituição à silagem de milho e farelo de soja. No primeiro ensaio, o controle negativo desenvolveu fungos e cheiro forte após 12 dias de armazenamento. Porém, a concentração de micotoxinas (200 µg/kg e 125 µg/kg de Desoxinivalenol e Fumonisinias, respectivamente) foi semelhante para todos os tratamentos ao longo de todo o experimento, com médias abaixo do limiar aceito pela Comunidade Europeia (800 µg/kg e 50000 µg/kg, respectivamente). Além disso, a adição de NaCl diminuiu os valores de pH, o que contribuiu para menor deterioração do RUC. No segundo ensaio, a inclusão de até 30% de RUC na dieta não afetou o consumo e a digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA. No mesmo sentido, o consumo e a digestibilidade dos compostos nitrogenados foram semelhantes nos diferentes tratamentos, mas a excreção urinária de N reduziu enquanto a retenção nitrogenada e a eficiência de uso do N aumentaram com a inclusão progressiva do RUC. Em conclusão, o sal comum se mostrou um aditivo eficaz para evitar a deterioração do estrato seco do RUC, enquanto a inclusão de até 30% de RUC em dietas totalmente misturadas podem ser recomendadas sem que ocorram reduções no consumo e na digestibilidade dos nutrientes. A utilização do RUC como ferramenta para melhorar a eficiência de uso do N e o desempenho animal deve ser melhor estudada.

**Palavras-chave:** resíduo úmido de cervejaria; conservação, resíduos industriais; consumo; digestibilidade; cevada.

## ABSTRACT

The use of byproducts in animal feed systems may increase the profitability and decrease environmental impact from raw materials processing. The aim of this work was to assess the common salt (NaCl) as a preservative of wet brewery grain (WBG) and the impact of including WBG as replacing corn silage and soybean meal in sheep diets. Two trials were performed. In the first one, the WBG was distributed in plastic boxes with three replications throughout 30 days. The treatments were a negative control (no additive), a positive control (sodium formate, 3 g/kg of WBG) and three levels of NaCl: 25, 30 and 35 g/kg of WBG. Samples were collected every three days to determine chemical composition, pH and microbiological composition. In the second trial, eight six-month-old male lambs, with an average body weight of  $58.5 \pm 5.2$  kg, were placed in individual metabolic cages. The experimental design was a 4x4 double Latin square, with four periods of 14 days (9 days of adaptation and 5 for measurements). The treatments were: 0, 10, 20 and 30% of WBG replacing corn silage and soybean meal. In the first trial, the negative control developed fungus and a strong smell after 12 days of storage. However, the concentration of mycotoxins (200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 125  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of Deoxynivalenol and Fumonisin, respectively) were similar for all treatments throughout the experiment, showing averages below the threshold accepted by the European Community (800  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 50000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively). Furthermore, the NaCl decreased pH values, which contributed to less deterioration of the WBG. In the second trial, the inclusion of up to 30% of WBG did not affect DM, OM, NDF and ADF intake and digestibility. Additionally, intake and digestibility of nitrogenous compounds were similar between treatments, but urinary N excretion decreased while N retention and N use efficiency increased with the progressive inclusion of WBG. In conclusion, common salt might be used as an additive to prevent the WBG deterioration, while the inclusion of up to 30% of WBG in mixed diets did not decrease nutrient intake and digestibility. The use of WBG as a tool to improve N use efficiency and animal performance should be better studied.

**Keywords:** wet brewery grain; byproducts; conservation; intake; digestibility; barley.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Distribuição de cervejarias por mesorregião em SC (MAPA, 2017). **Erro!**

**Indicador não definido.**

**Figura 2:** Efeito dos tratamentos RUC<sub>C-</sub> (●), RUC<sub>C+</sub> (◆), SAL<sub>2,5</sub> (▲), SAL<sub>3,0</sub> (■) e SAL<sub>3,5</sub> (x) sobre a composição química e pH do resíduo úmido de cervejaria armazenado em caixas por um período de 27 dias.

35

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição de aminoácidos essenciais do resíduo úmido de cervejria (RUC) em comparação ao farelo de soja (g/100 g de PB) (Clark et al., 1987). 21
- Tabela 2:** Formulação e composição química das dietas experimentais fornecidas para ovinos recebendo resíduo úmido de cervejria (RUC) em substituição à silagem de milho e farelo de soja. 31
- Tabela 3:** Comparativo da análise de produção de micotoxina do RUC e seus respectivos tratamentos com os níveis de tolerância da União Européia para o comércio de rações. 38
- Tabela 4:** Consumo e digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA em ovinos recebendo dietas com a inclusão progressiva do resíduo úmido de cervejria (RUC) em substituição à silagem de milho e o farelo de soja. 42
- Tabela 5:** Consumo, digestibilidade e retenção de compostos nitrogenados em ovinos recebendo dietas com a inclusão progressiva do resíduo úmido de cervejria (RUC) em substituição à silagem de milho e o farelo de soja. 44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CMS	Consumo de matéria seca
CT	Carboidratos totais
EE	Extrato etéreo
ELg	Energia líquida de ganho
ELI	Energia líquida de lactação
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
RUC	Resíduo úmido de cervejaria
L	Litros
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
PB	Proteína bruta
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PV	Peso vivo
SC	Santa Catarina
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
ZEA	Zearalenona

## LISTA DE SÍMBOLOS

μ	Micra
%	Porcento
°C	Graus Celsius
Ca	Cálcio
<	Menor que
>	Maior que

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
3.1	DISTRIBUIÇÃO DAS CERVEJARIAS EM SANTA CATARINA .....	18
3.2	UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES.....	19
3.3	RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJRIA .....	20
3.4	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO RUC .....	21
3.5	EFEITOS DO RUC NO AMBIENTE RUMINAL .....	22
3.6	EFEITOS DO RUC SOBRE O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE .....	23
3.7	PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS NO RUC.....	24
<b>4</b>	<b>HIPÓTESES.....</b>	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
5.1	ENSAIO 1: EFEITO DA ADIÇÃO DE SAL BRANCO A CONSERVAÇÃO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO GRÃO ÚMIDO DE CERVEJARIA 29	
5.2	ENSAIO 2: POTENCIAL NUTRICIONAL DO RUC EM SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE RUMINANTES – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE USO DO NITROGÊNIO .....	30
<b>5.2.1</b>	<b>Animais, dietas, delineamento experimental e análises químicas.....</b>	<b>30</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>33</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
6.1	ENSAIO 1: EFEITO DA ADIÇÃO DE SAL COMUM SOBRE O CRESCIMENTO MICROBIANO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJRIA .....	34
6.2	6.2 ENSAIO 2 - POTENCIAL NUTRICIONAL DO RUC EM SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE RUMINANTES – CONSUMO E DIGESTIBILIDADE ‘IN VIVO’. .....	41

<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O alto custo dos ingredientes energéticos e proteicos tem se apresentado como um desafio à rentabilidade da produção animal, especialmente em momentos de crise. Nesse sentido, utilização de resíduos de menor custo é uma alternativa para melhoria do desempenho econômico dos sistemas produtivos

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja (~14,1 bilhões de litros/ano), e Santa Catarina ocupa a 4ª posição no ranking nacional, com 148 cervejarias distribuídas pelo estado (MAPA, 2020). Para cada litro de cerveja produzido são gerados aproximadamente 300 g do subproduto resíduo úmido de cervejaria (RUC), tornando-se este um subproduto abundante e com distribuição ao longo de todo o ano. O RUC possui teor de proteína bruta (PB) variando de 25 a 30% da MS e em média 65% de proteína não degradável no rúmen (PNDR) (National Research Council, 2001), sendo uma fonte de PNDR que pode substituir o farelo de soja na alimentação de ruminantes (Clark et al., 1987). Contudo, o alto teor de umidade deste subproduto (65 a 75%) dificulta a conservação e favorece sua rápida deterioração (3 a 5 dias), tornando seu uso *in natura* viável somente em propriedades localizadas à pouca distância das cervejarias. A conservação inadequada deste resíduo úmido de cervejaria (RUC), além de resultar em grande perda de matéria seca (MS) e nutrientes devido à deterioração por microrganismos (Moriel et al., 2015), pode promover a ocorrência de doenças metabólicas e reprodutivas em bovinos (Brust et al., 2015).

A ensilagem é um método comum de conservação de ingredientes úmidos. Entretanto, no caso do RUC, boa parte dos açúcares solúveis são removidos durante a fermentação da cerveja, deixando esse material pobre em substratos que determinam o início da fermentação e abaixamento do pH, resultando em falhas na ensilagem (Ferraretto et al., 2018). Adicionar ingredientes que aumentam a MS e o teor de açúcares solúveis é uma opção que pode melhorar a fermentação do RUC. Contudo, os resultados são controversos e efeitos negativos relacionados à perda de MS e nutrientes têm sido reportados (Moriel et al., 2015; Parmenter et al., 2018). Desse modo, a conservação do produto natural parece ainda ser o melhor método. Estudos

objetivando melhorar a preservação do RUC através de diferentes inoculantes microbianos (Schneider et al., 1995) e conservantes (Marston et al., 2009; Lv et al., 2020) têm sido conduzidos. Porém, pouca informação existe sobre a preservação do RUC com cloreto de sódio (NaCl), e como ele se compara a outros inoculantes. O NaCl inibe a ação de bactérias aeróbias por desidratação, plasmólise, toxicidade por cloreto (Taormina, 2010) ou ainda pela redução da atividade de água (Albarracín et al., 2011), e foi efetivo em conservar o RUC, promovendo aumento na degradabilidade *in situ* da MS deste ingrediente em comparação a um conservante comercial (Hatungimana e Erickson, 2019).

Na alimentação de ruminantes, o RUC foi utilizado como substituto parcial do farelo de soja (Murdock et al., 1981; Miyazawa et al., 2007; Imaizumi et al., 2015), ou da MS de forragens (Firkins et al., 2002) e silagem de milho (Stefanello et al., 2019). Contudo, por seu teor proteico e energético, o RUC apresenta potencial de substituição conjunta do farelo de soja e da silagem de milho na dieta de ruminantes. Todavia, o impacto da substituição concomitante sobre o consumo e a digestibilidade em dietas totalmente misturadas, para o nosso conhecimento ainda não foi testada.

Em virtude do seu menor valor comercial comparado ao farelo de soja é economicamente vantajoso incluir RUC na dieta o máximo possível, porém, níveis inadequados desse subproduto podem reduzir o consumo de MS e o teor de energia da dieta (Wang et al., 2014), e promover efeitos negativos sobre a digestibilidade e síntese proteica microbiana ruminal devido à interações com outros substratos no rúmen e/ou alterações no pH ruminal. Os estudos citados acima com ruminantes utilizaram níveis variados de substituição, com resultados igualmente variáveis sobre o consumo e desempenho dos animais. Nesse contexto, a substituição concomitante da silagem de milho e farelo de soja por RUC e o efeito de níveis de inclusão deste subproduto na dieta sobre o consumo e digestibilidade em ruminantes precisa ser melhor avaliado.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso do sal comum como método de conservação do RUC e o potencial de inclusão do RUC em substituição à silagem de milho e farelo de soja em dietas para ruminantes.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Gerar recomendações para a conservação do RUC *in natura* a nível de propriedade, e o tempo máximo para utilização do subproduto conservado na alimentação sem que haja prejuízos à produção e saúde dos animais;
- Avaliar o efeito de níveis crescentes de inclusão do RUC na dieta sobre o consumo, digestibilidade, e eficiência de uso do nitrogênio (N) em ovinos.

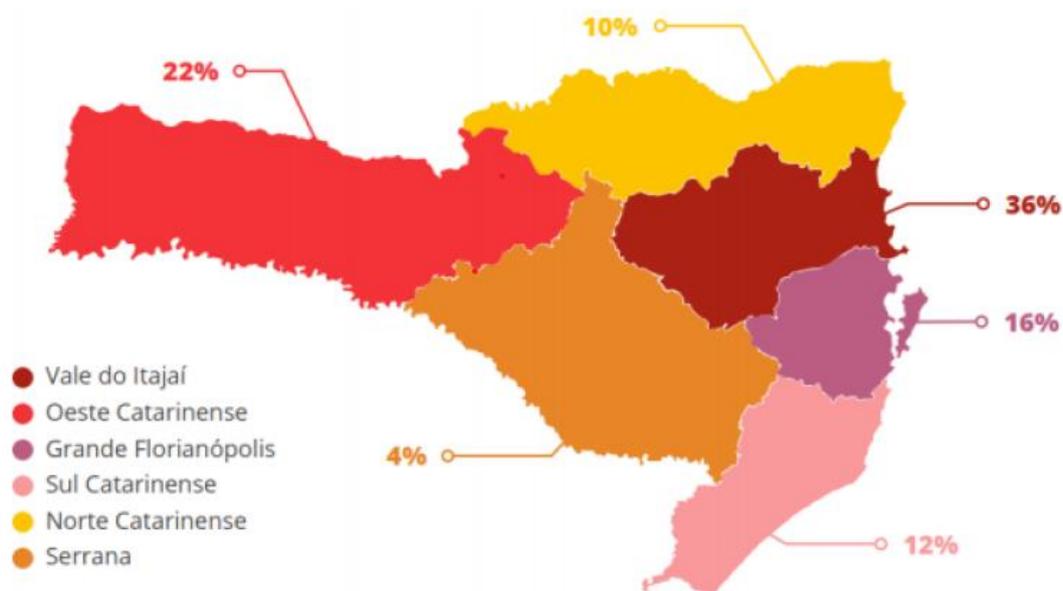
### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 DISTRIBUIÇÃO DAS CERVEJARIAS EM SANTA CATARINA

Ainda que diante de um cenário desafiador, o número de cervejarias cresceu 14,4% no Brasil em 2021. O ano terminou com 1.383 fábricas de cerveja operando no país. Santa Catarina atualmente possui 175 cervejarias, apresentando um crescimento de 31,3% em relação ao ano de 2019 e de 124% em relação a 2017. O estado hoje ocupa o 4º lugar no ranking nacional de maior número de cervejarias, e o 1º em densidade de cervejarias por habitantes, sendo uma para cada 41,4 mil habitantes.

As cervejarias estão distribuídas em todo o estado de SC, com maior concentração no Vale do Itajaí e Oeste (Figura 1).

Figura : Distribuição de cervejarias por mesorregião em SC (MAPA, 2017).



### 3.2 UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Da mesma forma que aconteceu com a indústria, o desenvolvimento do agronegócio e dos processos de transformação de alimentos, levaram à geração de muitos resíduos. Sendo que estes são um dos principais problemas ambientais, no Brasil e no mundo (Giordano, 2000). Assim esses resíduos gerados nos processos agroindustriais representam perdas econômicas no setor produtivo e, na falta de um destino adequado podem proporcionar problemas ambientais.

A maior parte desses resíduos é indevidamente depositado no meio ambiente, compondo a carga poluidora em áreas urbanas e rurais. Evidentemente que a atividade agropecuária é fundamental para a sobrevivência da espécie humana, ainda mais em um país primário como o Brasil (Naime e Garcia, 2004).

O princípio de qualidade de vida e meio ambiente está cada vez mais presente no cotidiano dos brasileiros, onde há um consenso pelo respeito e preservação da natureza e meio ambiente (Konzen, 2004). A produção de alimentos saudáveis requer preservação ambiental, daí a preocupação por desenvolver e utilizar tecnologias poupadoras, reutilizadoras e recicladoras de matéria prima e insumos (Santiago, 2000).

Os resíduos gerados nos processos agroindustriais além de apresentarem perdas ao setor produtivos, se não forem adequadamente destinados podem proporcionar problemas ambientais. Dentre esses resíduos, podemos citar a polpa cítrica, a casca e o farelo de arroz, a torta de algodão e o resíduo úmido de cervejaria. Sendo este último, destacado devido sua abundância durante todo o ano.

Os resíduos gerados pela indústria cervejeira poder ser utilizados na alimentação de ruminantes, como concentrado proteico a ser introduzido na dieta. Como ingrediente de rações o resíduo pode ser considerado suplemento proteico de valor médio contendo 23 a 30% de proteína bruta, sendo parte de sua fração proteica insolúvel e de baixa degradabilidade, sendo assim, uma

fonde de proteína by pass, passando pela degradação ruminal e sendo absorvida no intestino. (Souza, 2004).

### 3.3 RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJRIA

A cevada (*Hordeum vulgares* pp. *vulgare*) é um dos cereais de inverno mais cultivados, sendo considerado o quinto em importância do mundo. A cevada pode servir não só para a produção de forragem e fabricação de rações utilizadas na alimentação animal, mas também utilizada na industrialização de bebidas como cerveja e destilados (Vieira & Braz, 2009).

O RUC, também conhecido como bagaço de cevada, é um coproduto da indústria cervejeira, onde a principal matéria prima utilizada no processo, além de água, são os cereais malteados, sendo a cevada o mais utilizado. Esse processo de fabricação da cerveja envolve inicialmente a produção do malte, etapa chamada de malteação, que consiste em promover a germinação do grão através de condições de temperatura e umidade controladas. Após essa etapa de germinação concluída, malte e outros grãos são fervidos em água para que ocorra hidrólise do amido por ação de enzimas e disponibilização dos açúcares (maltose e dextrinas) na mistura líquida, extraindo aproximadamente 65% dos sólidos totais no malte, e de 80 a 90% nos cereais (Brochier e Carvalho, 2009).

O malte (cevada), lúpulo, água e levedura são os ingredientes básicos da cerveja pois são utilizados em todos os estilos, mas outros grãos como centeio, milho e arroz têm sido utilizados em larga escala em adição à cevada para reduzir o custo de produção. Esses grãos são considerados ingredientes adjuntos e tem por objetivo contribuir para o fornecimento de amido e açúcares para a ação de microrganismos no processo fermentativo da cerveja. Isso é um aspecto importante, pois determina variações na composição nutricional do RUC de acordo com o tipo de grãos utilizados. Para cada litro de cerveja produzido são gerados em média 300 g do co-produto RUC, e para cada kg de malte e outros grãos secos que ingressam no processo de elaboração da cerveja, são gerados em média 1,3 kg do co-produto RUC (Brochier and Carvalho, 2009), o que acontece devido ao ganho de umidade dos grãos secos. No Brasil, o

coproduto grãos-de- cerveja é comercializado majoritariamente na forma úmida. A forma seca é menos utilizada devido aos altos custos no processo de secagem do material na indústria.

A utilização do RUC na alimentação animal possui tanto interesse econômico, por parte de pecuaristas, pelo menor custo em comparação a fontes tradicionais de proteína, quanto ambiental, devido à remoção dos dejetos gerados pela indústria. O RUC é caracterizado como agente de alta carga poluidora, quando descartados de maneira inadequada no meio ambiente (Brochier and Carvalho, 2009).

Dessa forma, cada vez mais o RUC vem sendo utilizado como opção para alimentação animal, porém devido à sua alta produção e necessidade de escoamento de dentro da indústria, as vendas se concentram em grandes quantidades de resíduo úmido de cervejaria. Assim o produtor precisa armazenar de forma adequada esse resíduo para sua utilização na propriedade (Allen et al., 1975).

### 3.4 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO RUC

O resíduo úmido de cervejaria é um coproduto com alto teor proteico, rico em fibra, em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CT) e extrato etéreo (EE) (Geron et al., 2008). Por apresentar um elevado teor de FDN e de umidade, o RUC pode ser definido como um alimento volumoso com bom conteúdo proteico, sendo assim, podendo substituir de forma conjunta parte do volumoso e do concentrado da dieta.

O RUC possui elevado teor de umidade (~75 a 80%), apresentando portanto entre 20 e 25% de MS. De acordo com o National Research Council (2001), o RUC possui em torno de 95% de matéria orgânica, com 1,71 Mcal/kg de energia líquida de lactação (ELI) e 1,03 Mcal/kg de energia líquida de ganho (ELg); as principais medidas de energia para dietas de bovinos de leite e ruminantes de corte (bovinos de corte, ovinos). O teor de proteína bruta (PB) varia entre 24 e 30% da MS, com aproximadamente 65% de PNDR. O elevado teor de PNDR é determinado pela solubilização das proteínas solúveis dos grãos durante o processo de fervura na fase de mosturação da cerveja. Fontes de

menor degradabilidade ruminal da proteína são muito importantes na nutrição de ruminantes, pela maior quantidade de aminoácidos que escapam à degradação ruminal e são disponibilizados para absorção no intestino delgado. Em algumas categorias como vacas em lactação, a síntese de proteína microbiana no rúmen não é suficiente para atender a alta demanda por proteína metabolizável (aminoácidos disponíveis para absorção no intestino delgado), podendo essas fontes serem combinadas com fontes de nitrogênio não proteico para o atendimento das exigências a nível de rúmen e do hospedeiro (Clark et al., 1987). Comparando o perfil de aminoácidos essenciais do RUC com o do farelo de soja, Clark et al. (1987) observaram valores inferiores no RUC somente para lisina, histidina e arginina (Tabela 1).

**Tabela 1:** Composição de aminoácidos essenciais do resíduo úmido de cervejaria (RUC) em comparação ao farelo de soja (g/100 g de PB).

<b>Aminoácido</b>	<b>RUC</b>	<b>Farelo de Soja</b>
Metionina	1,53	1,48
Lisina	4,49	6,49
Treonina	4,17	3,86
Isoleucina	5,54	5,68
Histidina	2,28	2,50
Valina	6,19	5,45
Leucina	8,25	7,73
Arginina	6,27	7,73
Fenilalanina	5,68	5,00

(Clark et al., 1987).

O teor de (FDN) do RUC gira em torno de 47% da MS, fibra em detergente ácido (FDA) 23%, e lignina 4,3%. O último componente de interesse no RUC é o extrato etéreo ou gordura, entre 5-6%, que contribui para o teor de energia do co-produto.

### 3.5 EFEITOS DO RUC NO AMBIENTE RUMINAL

O rúmen é um ambiente complexo, que abriga um ecossistema microbiano diverso, no qual determinadas características necessitam ser

preservadas para que haja manutenção de ambiente ruminal saudável aos microrganismos e ao animal hospedeiro. Seu meio é predominantemente anaeróbio, o pH varia entre 6,0 a 7,0, temperatura em torno de 39 a 42°C, e com presença permanente de substratos e atividade fermentativa (Kozloski, 2011).

Avaliar os efeitos dos alimentos no ambiente ruminal é extremamente importante para a caracterização nutricional destes. Devido ao seu tamanho de partícula pequeno, animais consumindo grandes quantidades de RUC podem apresentar efeitos adversos sobre o ambiente ruminal e atividade fermentativa microbiana, incluindo diminuição do pH e redução na digestibilidade das dietas. Silva et al., (2015) observaram redução linear na digestibilidade aparente da MS e MO com níveis crescentes de RUC (0, 25, 50, 75 e 100%) em substituição ao alimento concentrado. Cabral Filho et al., (2007), também observaram ausência de efeito da inclusão de RUC sobre a digestibilidade da MS, destacando que os baixos valores de digestibilidade (477, 528, 449 g de MS digestível/kg, para os tratamentos com inclusão de 0, 33 e 67% de RUC, respectivamente.

### 3.6 EFEITOS DO RUC SOBRE O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE

Os resíduos oriundos da industrialização da cerveja podem ser utilizados na alimentação de ruminantes, como ingrediente protéico a ser introduzido na dieta. Como já mencionado o RUC apresenta valor médio de PB entre 24 a 30%, onde boa parte de sua fração proteica é insolúvel e de baixa degradabilidade, sendo assim, uma boa fonte de proteína *bypass*, onde a proteína escapa da degradação ruminal sendo absorvida diretamente no intestino (Souza, 2004).

Devido ao alto teor de umidade, uma das preocupações com a inclusão de RUC na dieta de ruminantes é a diminuição no consumo total de MS pelos animais. Quando o RUC foi utilizado como substituto do concentrado em até 23,5% da MS da dieta houve redução no consumo de MS, o que não aconteceu quando este substituiu o volumoso (Younker et al., 1998). A inclusão de até 24% da MS de RUC como substituto da silagem de milho por um período de 2

meses manteve o consumo de MS e a produção e composição do leite de vacas de média produção (Mahnken, 2010). Quando incluído em até 20% da MS na dieta de novilhas substituindo o concentrado, o RUC não prejudicou o consumo, mas reduziu a digestibilidade aparente da MS quando comparado à dieta controle, sem RUC (Hatungimana et al., 2020). Em ovinos, a digestibilidade aparente da MS aumentou com a inclusão de RUC como substituto em até 40% da MS da forragem da dieta (Bovolenta et al., 1998).

Os microrganismos do rúmen degradam a proteína da dieta originando precursores para a síntese de proteína microbiana ruminal. O fornecimento de alimentos ricos em PNDR aumenta o fluxo de proteína que escapa à degradação ruminal para o duodeno, desde que a síntese de proteína microbiana ruminal não seja prejudicada. O RUC possui um alto teor de PNDR no rúmen, porém, os efeitos desse co-produto sobre a síntese proteica microbiana são pouco conhecidos. Brochier(2009) observou comportamento quadrático no consumo de MS com a substituição de alimento concentrado por RUC, onde o maior consumo foi com a substituição de 31,1% do concentrado por RUC.

Carvalho et al. (2005a) realizaram um estudo com ovinos, onde substituíram com níveis crescentes o concentrado da dieta (milho e farelo de soja) por RUC (0%, 33%, 66%, 100%). Os autores verificaram que o aumento da inclusão de grão-úmido de cervejaria proporcionou uma redução linear ( $P \leq 0,01$ ) do consumo de matéria seca (CMS), porém sem diferenças significativas para peso vivo final, ganho de peso médio diário e conversão alimentar. Este trabalho mostra que existe um grande potencial de utilização deste resíduo na alimentação de cordeiros de corte em confinamento.

### 3.7 PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS NO RUC

Para garantir um RUC de alta qualidade, dois objetivos principais devem ser alcançados. Em primeiro lugar, a atividade aeróbica das enzimas vegetais e dos microrganismos aeróbios deve ser inibida para reduzir as perdas de matéria seca. Em segundo lugar, deve ocorrer uma rápida produção láctica para provocar uma redução do pH a um nível que iniba o crescimento clostridial (Carpintero et al., 1969). Bactérias formadoras de esporos do gênero *Clostridium*

são responsáveis pelo odor excessivo presente no RUC de má qualidade. Clostrídios proteolíticos e sacarolíticos podem ser encontrados no material, o primeiro causando desaminação e descarboxilação de aminoácidos com a subsequente liberação de amônia, enquanto as bactérias sacarolíticas fermentam o ácido láctico em ácido butírico, dióxido de carbono e hidrogênio (Carpintero et al., 1969) . Como os clostrídios são sensíveis a baixos níveis de pH, o controle desses microrganismos indesejáveis geralmente pode ser alcançado em um pH de 4,0-4,2 (Breirem e Ulvesii 1960).

Porém no Brasil, o RUC é tradicionalmente armazenado em condições de aerobiose, em tanques abertos, o que contribui para a sua rápida degradação e perda da qualidade, favorecendo o desenvolvimento de fungos e leveduras que, ao utilizarem o ácido láctico e açúcares, competem com as bactérias ácido-láticas no início do processo fermentativo formando etanol, ocasionando assim perdas de matéria seca e baixa preservação do material (Cabral Filho et al., 2007).

O isolamento e a identificação da microbiota contaminante são essenciais para o controle da qualidade higiênica e sanitária de matérias primas ou produtos que são susceptíveis à colonização por diferentes microrganismos. A estimativa da contaminação fúngica do grão de cevada é de grande importância, já que os fungos podem proliferar durante o armazenamento e nos 4-5 dias que dura o processo de malteação (Clarke & Hill, 1981). A contaminação fúngica de alimentos destinados ao consumo animal com consequente formação de micotoxinas constitui um problema de grande importância em nível mundial. As micotoxinas, metabólitos secundários produzidos por fungos, causam efeitos adversos tais como carcinogênese, mutagênese, teratogênese, nefrotoxicidade e imunossupressão provocando diversas patologias e grandes perdas econômicas agropecuárias (Hussein & Brasel, 2001). As espécies com forte implicação toxicológica que aparecem com maior frequência nesses alimentos pertencem aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, afetando parâmetros produtivos, com graves perdas econômicas e riscos para a saúde humana e animal. As principais micotoxinas produzidas pelas espécies toxicogênicas são as aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FB), deoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA)

Devido ao seu baixo teor de MS (que pode variar de 9,2 a 30%) o resíduo úmido de cervejaria é suscetível a alta proliferação fúngica durante o armazenamento de 4 a 5 dias (Clarke & Hill, 1981). A contaminação fúngica de alimentos destinados ao consumo animal com conseqüente formação de micotoxinas constitui um problema de grande importância a nível mundial. As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos que provocam inúmeras patologias e grandes perdas econômicas no setor agropecuário (Hussein & Brasel, 2001). *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* são as espécies que aparecem com maior frequência nestes alimentos e, afetam parâmetros produtivos com grandes perdas econômicas.

Como se sabe as micotoxinas atacam órgãos e tecidos vitais, possuindo propriedades cancerígenas, induzindo imunossupressão e problemas reprodutivos em animais e humanos (CAST, 2003).

As aflatoxinas (Afs) são produzidas por diferentes fungos *Aspergillus* (*A. Flavus*, *A. Parasitous* e *A. Nomius*). São compostos potencialmente tóxicos, carcinogênicos, mutagênicos e imunossupressores. Existem mais de 18 tipos diferentes de Afs, sendo os principais AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 e AFM2, sendo dessas a AFB1 a de maior importância na produção de RUC. Pois pode ser encontrada na cerveja, matéria prima de cevada e milho utilizado para a produção de cerveja. Assim a AFB1 pode ser encontrada em subprodutos cervejeiros que podem ser utilizados na alimentação animal e causar problemas de saúde aos animais (Mastanjević et al., 2019).

O desoxinivalenol (DON) é a micotoxina mais prevalente em cereais, sendo identificado como um dos indicadores de qualidade da cevada e do trigo utilizados para a maltagem. O DON é um inibidor de síntese de proteínas devido à sua capacidade de se ligar a ribossomos. Concentrações moderadas de DON podem afetar a saúde dos animais, causando anorexia (Rotter e Prelusky, 1996).

A zearalenona (ZEA) é uma das micotoxinas que atua de forma semelhante ao estrogênio e está relacionada com manifestações clínicas de vários efeitos estrogênicos de humanos e animais de fazenda. Embora seja determinada principalmente no milho, ela pode ser facilmente encontrada em outros cereais, como trigo e cevada. Em bovinos afetam diretamente a

reprodução trazendo retorno ao cio, abortos e infertilidade (Mastanjević et al., 2019).

As fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*. Existem muitas fumonisinas detectadas, mas as fumonisinas do tipo B são as mais prevalentes em alimentos e cadeias alimentares. Os sintomas de intoxicação por fumonisinas são variados entre as espécies animais. Em suínos, por exemplo, podem sofrer de edema pulmonar, e equinos podem manifestar lesões cerebrais liquefativas hemorrágicas. De acordo com Voss e Riley (2013), fumonisinas do tipo B1 podem ser caracterizadas com um potente carcinógeno, pois alguns relatos associam a exposição de altas doses de FB1 a cânceres de estômago em humanos, em bovinos de leite afeta diretamente a microbiota ruminal influenciando na deposição de sólidos no leite, e traz queda repentina na produção.

As ocratoxinas (OTA) são metabólitos secundários produzidos principalmente por espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*. A OTA é nefrotóxica, carcinogênica, teratogênica, genotóxica e imunotóxica. A OTA é uma das micotoxinas de maior ocorrência e é incorporada em recomendações e regulamentos legislativos (Mastanjević et al., 2019). Conforme relatado por Huff e Doerr (1981) a OTA e a aflatoxina podem atuar sinergicamente e retardar significativamente o crescimento de frangos de corte.

Alguns fatores que influenciam a produção de micotoxinas são: composição do substrato, temperatura, umidade relativa do ar, teor de MS, pH e competição microbiana (Bullerman et al., 1984).

#### **4 HIPÓTESES**

- O sal comum pode ser utilizado como conservante para evitar a proliferação de microrganismos e a deterioração do substrato seco do RUC durante o seu processo de armazenamento.
- O RUC pode ser utilizado em substituição à silagem de milho e ao farelo de soja em níveis de até 30% da MS total de dietas totalmente misturadas, sem que ocorram prejuízos ao consumo e a digestibilidade dos nutrientes.
- A inclusão progressiva do RUC em dietas totalmente misturadas diminui as perdas urinárias de N com aumento da eficiência de uso do N.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 ENSAIO 1: EFEITO DA ADIÇÃO DE SAL BRANCO A CONSERVAÇÃO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO GRÃO ÚMIDO DE CERVEJARIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC. O RUC *in natura* foi obtido de uma cervejaria local e amostras do material foram coletadas para determinação da sua composição química inicial. O RUC foi transferido para caixas plásticas de 50 L sem tampa, não compactado e distribuído em cinco tratamentos com três repetições, em um delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram: RUC sem tratamento (controle negativo, C-), adição do conservante formiato de sódio 98%, na proporção de 3 g/kg de matéria natural de RUC (controle positivo, C+), e sal comum nas proporções de 2,5% (Sal<sub>2,5</sub>), 3,0% (Sal<sub>3,0</sub>) e 3,5% (Sal<sub>3,5</sub>) da matéria natural do RUC. O RUC foi misturado com os tratamentos e armazenado à sombra, em temperatura ambiente durante 27 dias. O pH das amostras foi mensurado com pHmetro digital utilizando amostras coletadas e congeladas para posterior análise. A temperatura do material armazenado nas caixas foi mensurada 1 vez/dia com auxílio de termômetro digital portátil tipo espeto. Uma amostra de aproximadamente 200 g foi coletada por unidade experimental a cada três dias e dividida em duas subamostras; uma para determinação do pH e dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), e outra para a análise de micotoxinas.

Para a análise da composição química, as amostras foram coletadas, levadas à estufa a 55°C por 72 horas para obtenção da matéria parcialmente seca, moídas em moinho tipo Wiley em peneira de 1mm e armazenadas em embalagens plásticas. O teor de MS das amostras foi determinado por secagem em estufa a 105 °C durante pelo menos 16 h. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600 °C durante 3 h. O nitrogênio total (N) foi determinado pelo método Dumas (Dumas, 1883). A concentração de FDN e FDA

das amostras de alimento foi determinada de acordo com a AOAC (1997, método 973.18).

Para análise de concentração de micotoxinas foram coletadas amostras de 200 g de RUC por tratamento em cada dia de coleta, secas a 55°C por 72 horas, moídas em peneiras de 1 mm e armazenadas em embalagens plásticas. Três amostras compostas foram feitas por tratamento: uma do período inicial do experimento contemplando os dias 0, 3 e 6, uma do período intermediário com os dias 9, 12 e 15, e outra do período final dias 18, 21 e 27, de forma a obter um parâmetro da concentração de micotoxinas no RUC durante todo o período experimental. As amostras foram enviadas ao laboratório de micotoxinas da Universidade Federal de Santa Maria (LAMIC – UFSM) para análise da concentração de fumonisina, aflatoxina, ocratoxina, desoxinivalenol (DON) e zearalenona pelo método multi-analítico LC-MS/MS. A escolha destas toxinas para a análise foi baseada em revisão de literatura sobre as principais micotoxinas presentes em subprodutos de fermentação da cerveja.

## 5.2 ENSAIO 2: POTENCIAL NUTRICIONAL DO RUC EM SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE RUMINANTES – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E EFICIÊNCIA DE USO DO NITROGÊNIO

### 5.2.1 Animais, dietas, delineamento experimental e análises químicas

O RUC utilizado para esse ensaio teve origem da mesma indústria cervejeira do resíduo utilizado no primeiro ensaio. Com o objetivo de manter a conservação do material, e garantir sua utilização em boas condições, o RUC foi armazenado em embalagens plásticas à temperatura de -20°C durante o período experimental. Sendo descongelado semanalmente para a utilização nas dietas.

Oito cordeiros machos castrados ( $58,5 \pm 5,2$  kg de peso vivo (PV)) das raças Poll Dorset e Milchscharf foram distribuídos em um delineamento

experimental duplo Quadrado Latino 4 × 4. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas com livre acesso à água. A dieta basal foi constituída de feno de tifton 85 (*Cynodon* spp). O RUC foi incluído na dieta em substituição à silagem de milho e farelo de soja em quatro diferentes níveis (% MS): sem a inclusão de RUC (controle, **RUC<sub>0</sub>**), 10% de RUC (**RUC<sub>10</sub>**), 20% de RUC (**RUC<sub>20</sub>**) ou 30% de RUC (**RUC<sub>30</sub>**). As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais de ovinos utilizando o pacote computacional Small Ruminant Nutrition System (SRNS)(Tabela 2).

Após um período pré-experimental de aproximadamente duas semanas, com a finalidade de adaptar os animais às gaiolas metabólicas e ao sistema de alimentação e manejo, o experimento foi conduzido, em quatro períodos de 14 dias, sendo os primeiros 9 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e os 5 últimos à coleta de dados e amostras, totalizando 56 dias de período experimental . As dietas experimentais foram ofertadas duas vezes ao dia (08:00 e 17:00h) na forma de ração total misturada. A quantidade ofertada foi ajustada diariamente baseada no consumo observado no dia anterior, de modo a manter sobras em torno de 10% do oferecido. As sobras foram coletadas diariamente, pesadas e armazenadas secas em estufa a 55°C por 72 horas, moídas em moinho do tipo Wiley com peneira de 1 mm e armazenada em embalagens plásticas para posterior análise de composição química. Ao final de cada período experimental, as amostras de cada tratamento foram homogeneizadas para compor uma amostra composta por tratamento por período.

**Tabela 2:** Formulação e composição química das dietas experimentais fornecidas para ovinos recebendo resíduo úmido de cervejaria (RUC) em substituição à silagem de milho e farelo de soja.

Ingrediente	Tratamentos			
	RUC <sub>0</sub>	RUC <sub>10</sub>	RUC <sub>20</sub>	RUC <sub>30</sub>
	g/kg MS			
Feno de Tifton 85 ( <i>Cynodon spp</i> )	301	301	301	300
Silagem de milho	301	201	100	0
Resíduo úmido de cervejaria	0	101	201	300
Milho, grão	203	261	299	333
Farelo de soja	122	62,1	28,4	0
Melaço	4,9	4,9	5	4,9
Megalac	9,1	8,5	8,9	8,5
Bicarbonato de Sódio	9,8	9,9	9,2	9,9
Núcleo Mineral	30	30	31	31
Ureia	7,7	7,8	4,3	0
Calcário Calcítico	4,9	4,9	5	4,9
Fosfato Dicalcico	7	7,1	7,1	7,1
Composição química				
Matéria seca	510	476	444	387
Matéria orgânica	933	931	933	934
Proteína bruta	123	139	150	151
Fibra em detergente neutro	439	456	494	510
Fibra em detergente ácido	240	228	217	222
Energia metabolizável (Mcal/kg)	2.360	2.383	2.401	2.381

Tratamentos: RUC<sub>0</sub>, sem a inclusão de RUC; RUC<sub>10</sub>, 10% de RUC na MS; RUC<sub>20</sub>, 20% de RUC na MS; RUC<sub>30</sub>, 30% de RUC na MS.

Nos últimos cinco dias de cada período experimental, as fezes excretadas foram coletadas individualmente, pesadas e uma subamostra de 10% do total foi designada para formação de uma amostra composta por animal e período, a qual foi seca em estufa com ventilação forçada a 55°C, moída em peneira com porosidade de 1 mm e armazenada para análise. O volume diário excretado de urina foi medido individualmente nos últimos cinco dias de cada período experimental. A urina foi coletada em recipientes contendo 100 ml de uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3,6M, suficiente para reduzir o pH a valores abaixo de 2,0. Após mensurado o volume diário eram retiradas amostras de 10% do

volume total produzido. As amostras foram transferidas para balões de 200 mL, completado com água destilada e armazenado a -20°C para análises.

O teor de MS nas amostras de alimento sobras e fezes foram determinados por secagem em estufa a 105°C durante pelo menos 16 h. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600 °C durante 3 h. Os teores de N foram determinados pelo método de Dumas. As concentrações de FDN, FDA foram determinadas de acordo com o AOAC (1997, método 973.18). As amostras de urina foram analisadas para teor de N de acordo com o método de Kjeldahl.

### 5.2.2 Análise estatística

Os dados de composição química do RUC com ou sem adição de sal comum foram submetidos à análise de variância, de acordo com o modelo:

$$Y_i = \mu + T_i + D_j + T \times D_{jk} + e_{ijk},$$

onde  $Y_i$  = variável dependente,  $\mu$  = média das observações  $T$  = efeito fixo de tratamento,  $D_j$  = efeito fixo do período  $T \times D$  = efeito da interação tratamento dia e  $e_{ijk}$  o erro residual.

Os dados de consumo, digestibilidade total dos nutrientes e balanço nitrogenado foram analisados de acordo com o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + QL_i + A_{j(i)} + T_k + P_l + (T \times P)_{kl} + e_{ijkl},$$

onde:  $Y_{ijkl}$  = variável dependente,  $\mu$  = média das observações,  $QL$  = efeito aleatório do Quadrado latino,  $A_{j(i)}$  = efeito aleatório de animal aninhado em  $QL$ ,  $T_k$  = efeito fixo dos tratamentos,  $P_l$  = efeito fixo do período e  $(T \times P)_{kl}$  = efeito fixo da interação tratamento e período e  $e_{ijkl}$  = erro residual. A diferença entre médias foi comparada pelo teste de Tukey, considerando o nível de 5 % de probabilidade, utilizando o pacote estatístico SAS (SAS, 2001).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 ENSAIO 1: EFEITO DA ADIÇÃO DE SAL COMUM SOBRE O CRESCIMENTO MICROBIANO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO RESÍDUO ÚMIDO DE CERVEJRIA

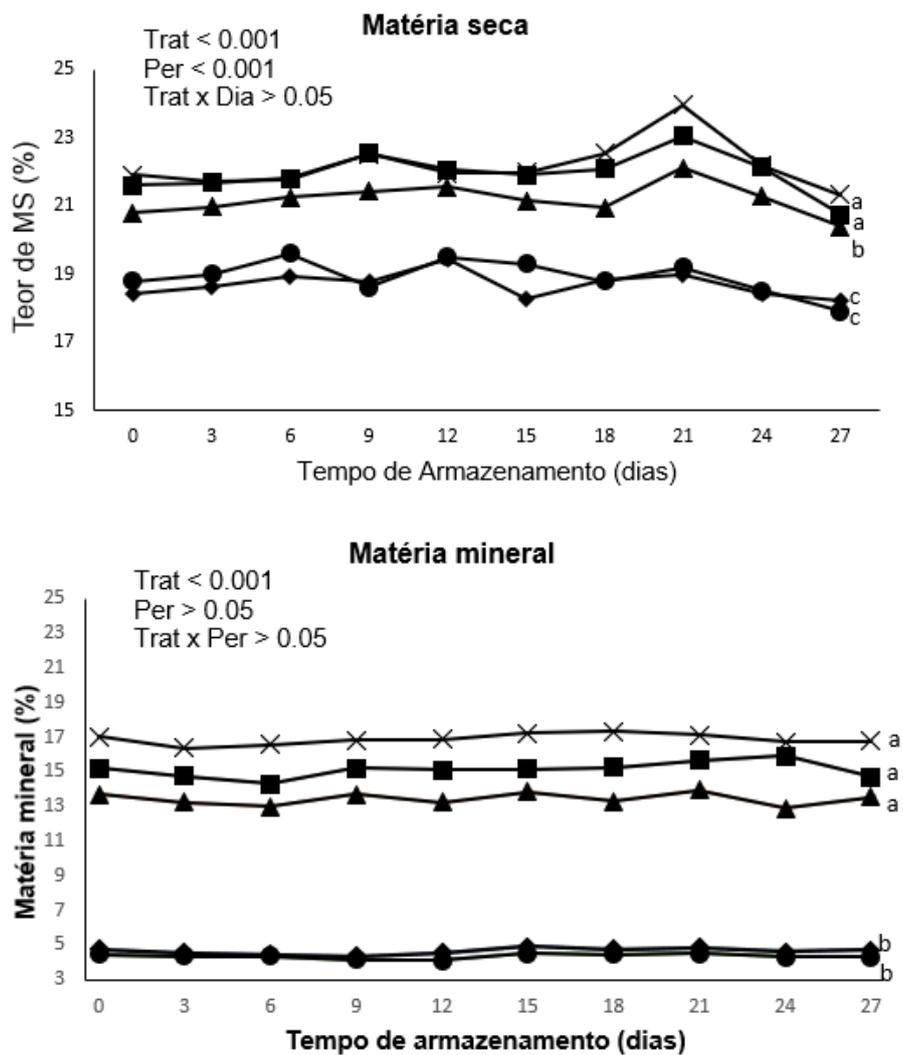
A adição de sal comum aumentou ( $P < 0,001$ ) o teor de MS do RUC em aproximadamente 3 pontos percentuais em comparação tratamento controle e formiato de sódio (Figura 2). Este resultado era relativamente esperado, uma vez que o sal comum possui elevado teor de MS. No mesmo sentido, Marston et al. (2009) avaliaram níveis crescentes de um conservante comercial (contendo bactérias formadoras de ácido láctico, antifúngico e antioxidantes) adicionado ao RUC (0, 0,45 e 0,90 kg/900 kg), e observaram que os teores de MS aumentaram com a inclusão do conservante, o que também foi explicado pela adição de substrato com elevado teor de MS às amostras. Ao longo do período de avaliação, a concentração de MS no tratamento controle reduziu 5%, enquanto que nos tratamentos SAL<sub>3,0</sub> e SAL<sub>3,5</sub>, os teores de MS aumentaram em média 8%. Observamos que os tratamentos com a adição de sal comum apresentaram comportamento de aumento do teor de MS até o dia 21 do experimento, sendo que a partir desse o teor de MS desses tratamentos apresentaram comportamento similar aos tratamentos RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub>. O modesto aumento da concentração de MS nos tratamentos com a adição de sal é atribuída a um atraso na deterioração do substrato seco. Allen et al. (1975), observaram redução na deterioração de RUC armazenado por 14 dias com adição de ácido propiônico a 0,40% do peso úmido do RUC. A redução nos teores de MS observada no tratamento RUC<sub>C-</sub> é consideravelmente menor que a perda de 37% do peso úmido do RUC encontrada por Marston et. al. (2009) após 28 dias de armazenamento. A discrepância entre estudos pode ser parcialmente atribuída ao fato que Marston e colaboradores armazenaram o material em silos com aproximadamente 970 kg, o que permitiu provavelmente maior exposição do RUC ao oxigênio que em nosso estudo. A maior deterioração do substrato seco no tratamento RUC<sub>C-</sub> relativo aos demais tratamentos está possivelmente associada às diferenças de pH, levando a diferentes atividades de

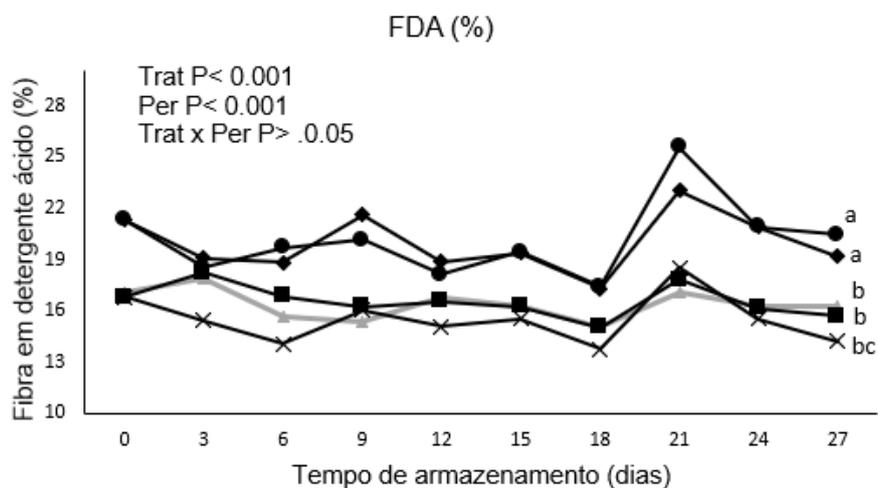
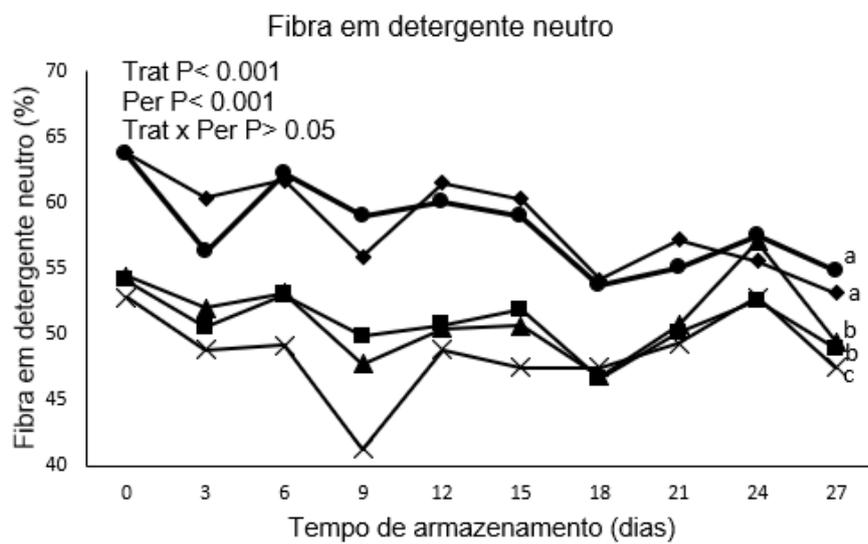
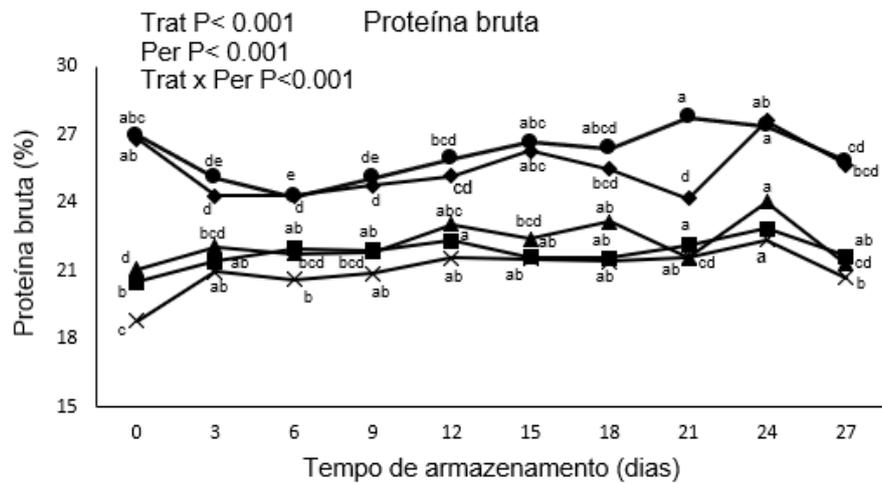
microrganismos responsáveis pela deterioração da matéria orgânica (Lowe et al., 2000). Moriel et al. (2015) observaram pH abaixo de 4,0 durante os 7 primeiros dias de armazenamento do RUC. Em nosso estudo, observou-se redução no pH nos primeiros 3 dias, onde SAL<sub>2,5</sub>, SAL<sub>3,0</sub> e SAL<sub>3,5</sub> não diferem entre si, mas possuem pH menor do que os tratamentos RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub> ( $P < 0,001$ ). Assim, o menor pH de SAL<sub>2,5</sub>, SAL<sub>3,0</sub> e SAL<sub>3,5</sub> comparado a RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub> provavelmente inibiu parcialmente a proliferação de microrganismos indutores de deterioração, o que resultou em maior conservação da MS do RUC com a adição de sal (McDonald et al., 1991).

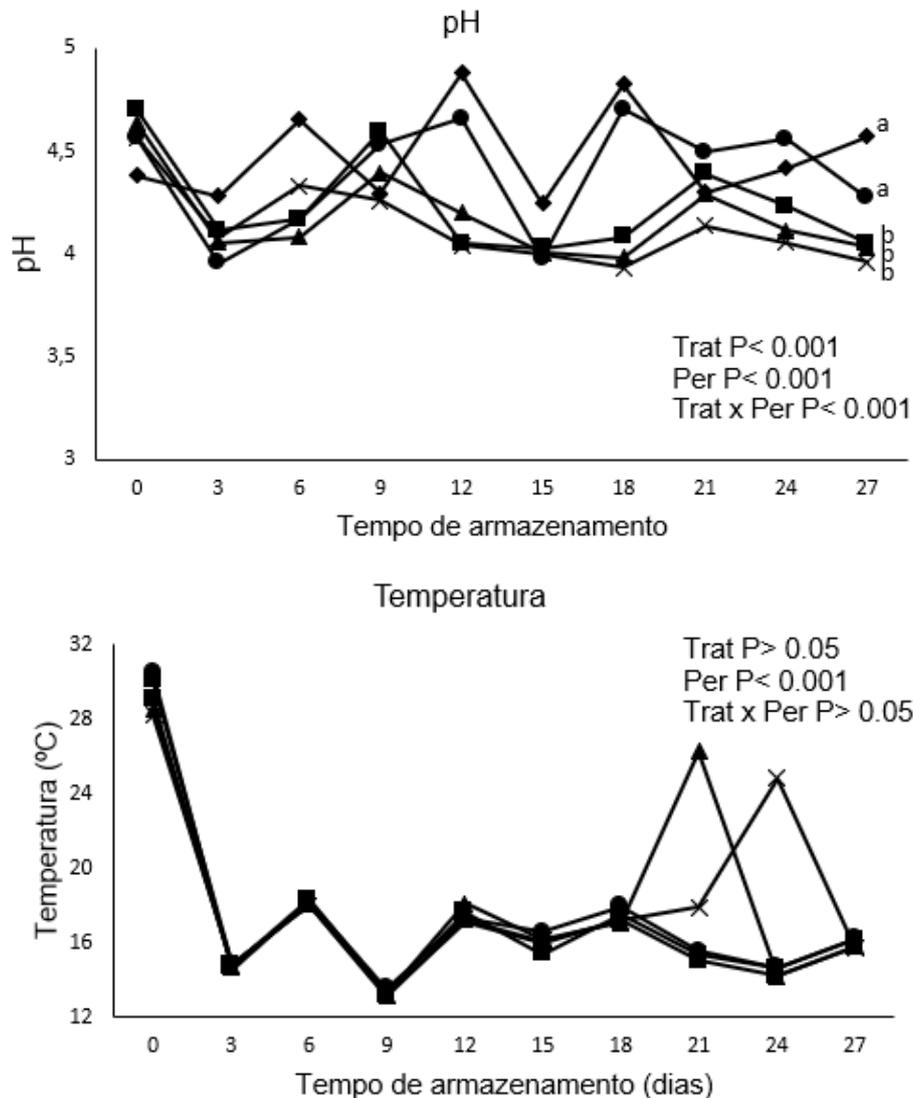
As maiores concentrações de PB, FDN e FDA foram (Figura 2) encontradas nos tratamentos RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub> comparado aos tratamentos com adição de sal. Isso se deu provavelmente por um efeito de diluição da matéria orgânica do material com matéria mineral (sal) nos tratamentos com sal, aspecto que não foi previsto no momento do planejamento do ensaio. Independentemente do tratamento, as concentrações de FDN e FDA diminuíram ( $P < 0,001$   $P < 0,001$ , respectivamente), enquanto os teores de PB tiveram leve aumento conforme o tempo de armazenamento progrediu.

Observou-se nos tratamentos controle RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub> redução nos teores de FDN e FDA de aproximadamente 14 e 10 %, respectivamente, que possivelmente pode ser explicado pela instalação do processo de deterioração do RUC, confirmado pela redução nos teores de MS do RUC nestes tratamentos. Já nos tratamentos com a adição de sal, observa-se uma redução de menor magnitude nas concentrações de FDN e FDA ao longo do tempo, o que sugere um efeito positivo do sal na conservação da MO do RUC. Marston et al. (2007), observaram aumento gradativo dos teores de NDT, FDN, FDA e PB à medida que os dias de experimento avançaram. Porém, estes autores observaram aumentos nos teores de MS com o passar do tempo.

**Figura 2:** Efeito dos tratamentos RUC<sub>C-</sub> (●), RUC<sub>C+</sub> (◆), SAL<sub>2,5</sub> (▲), SAL<sub>3,0</sub> (■) e SAL<sub>3,5</sub> (×) sobre a composição química e pH do resíduo úmido de cervejaria armazenado em caixas por um período de 27 dias.







Houve efeito de interação tratamento x período ( $P < 0.001$ ) para a concentração de proteína do RUC, com os teores aumentando com a progressão do tempo de armazenagem, e esse aumento sendo maior nos tratamentos com sal comparado aos controles. Nos tratamentos SAL<sub>2,5</sub>, SAL<sub>3,0</sub> e SAL<sub>3,5</sub>, o aumento da concentração de proteína ao longo do tempo foi de aproximadamente 5, 6 e 12% respectivamente, e nos tratamentos RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub> foi de aproximadamente 3% até o dia 21, onde, a partir desse observamos uma queda de 8%. A explicação para esse efeito não é aparente. Possivelmente, o sal inibiu o crescimento de microrganismos degradadores de proteína, e pela redução nos teores de FDN ao longo tempo, houve concentração da proteína na MS.

Foi observado efeito de tratamento ( $P < 0.001$ ) para o teor de MM (Figura 2), porém essa variável não sofreu influência do período. Observa-se que a adição crescente de sal aumentou as concentrações de MM das amostras provavelmente devido à adição de NaCl. Diferente dos resultados encontrados por Moriel et al., 2015, que observou redução nas concentrações de Ca, P, Mg, Na e K ( $P \leq 0,05$ ) e aumento nas concentrações de S, Cu, Fe, e Zn com o tempo de armazenamento, independente do tratamento.

Efeito do período de armazenamento ( $P < 0,001$ ), mas não de tratamento foram encontrados para os valores de temperatura do material ensilado. O comportamento observado reflete as condições de temperatura ambiente dos dias de coleta. Vale ressaltar que mesmo com aumento de temperatura do RUC em certos momentos do estudo, esses valores não ultrapassaram a casa dos  $30^{\circ}\text{C}$  mesmo depois de 27 dias de armazenamento, indicando que o aumento de pH pode ter sido o responsável por uma possível deterioração por bacilos, mofo e enterobactérias (Dimperio, 2005).

**Tabela 3:** Comparativo da análise de produção de micotoxina do RUC e seus respectivos tratamentos com os níveis de tolerância da União Européia para o comércio de rações.

Micotoxina	Achados Laudo ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Tolerância Européia para o comércio de rações ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Aflatoxina	< 1	de 5 a 20
Desoxinivalenol (DON)	< 200	800
Fumonisinias	< 125	50000
Ocratoxinas (OTA)	< 2	250
Zearalenona	< 20	2000

Os valores achados na análise referem-se a todos os tratamentos e todos os períodos de coleta.

A concentração de micotoxinas não diferiu significativamente entre os tratamentos e dias de coleta (Tabela 3). Os resultados obtidos mostram que as produções das principais micotoxinas se enquadram muito abaixo dos níveis de tolerância aceitos pela União Europeia para a utilização de ingredientes em rações animais. Acreditamos que esse seja um dos resultados mais importantes

de nosso trabalho, pois observamos que a concentração de micotoxinas, nas condições do experimento, não apresentaram-se como um limitante para o uso de RUC na dieta de ruminantes quando este foi armazenado por 27 dias.

Durante o decorrer do experimento observamos algumas características visuais do resíduo de cervejaria. Percebemos que os tratamentos sem adição de sal (RUC<sub>C-</sub> e RUC<sub>C+</sub>) começaram a apresentar crescimento fúngico a partir do 6º dia de experimento, e a partir do 12º dia iniciou a presença de odor característico de deterioração de MO. Nos tratamentos com sal o início da formação de bolores e leveduras foi observado a partir do dia 12. Contudo, não se verificou produção significativa de micotoxinas, o que nos leva a crer que o resíduo obtido para a condução do experimento foi de alta qualidade e que este foi recebido com baixa contaminação fúngica, colaborando para os dados observados. Outro aspecto pode estar relacionado ao tipo de microrganismos crescendo no RUC após o início do experimento; possivelmente fungos e leveduras não produtores de micotoxinas.

Cavaglieri et al., (2009), confirmaram a existência de correlação entre o crescimento fúngico e a produção de micotoxinas em radículas de cevada, onde foi encontrada 100% das amostras contaminadas por Fumonisina, apresentando ainda níveis elevados dessa toxina no substrato (254-2043 µg/kg).

Gonzalez Preyra et al., (2011), detectou Fumonisina B e Aflatoxina B (AFB) em grãos gastos de cervejaria. Embora os níveis de fumonisina estivessem abaixo do limite permitido (104-145 µg/kg), observou-se contaminação de 100% das amostras por fumonisina. No presente estudo os achados para Fumonisinias (<125 µg/kg) foi igual para todos os tratamentos e todos os dias de coleta, muito similar aos níveis apresentados por Gonzalez e colaboradores.

A presença de biomassa fúngica visível não indica necessariamente contaminação por toxinas. Da mesma forma, a ausência de fungos detectáveis não significa que as toxinas estejam ausentes, visto que os mesmos podem ter desaparecido após a produção de micotoxinas.

O metabolismo secundário geralmente é ativado por fatores ambientais. Os fungos produzem micotoxinas em condições de estresse, principalmente por temperatura, ou para combater uma agressão externa, como um fungicida. Hope

e Magan (2003) reportam que as condições ideais para a produção de desoxinivalenol (DON) ocorre em temperaturas médias de 25°C, e que a produção de toxina foi significativamente maior nessa faixa de temperatura do que a 15°C. Isso pode ter contribuído para os baixos teores de micotoxinas no presente estudo, uma vez que a temperatura média de todos os tratamentos durante o período experimental foi de 15,9°C. É importante ressaltar que esse ensaio foi conduzido em na região Serrana de SC, onde as temperaturas nessa época do ano tendem a ser mais baixas. Em condições com temperaturas mais elevadas, a produção de micotoxinas possivelmente seria diferente das encontradas no presente estudo.

Assim a utilização de 2,5% de NaCl na matéria natural do RUC se mostrou eficiente em manter sua composição e qualidade, mas não influenciou na produção de micotoxinas por um período de 27 dias. No entanto a produção de fungos e odor a partir do 15º dia de armazenamento pode ser limitante para sua utilização na dieta dos animais a partir desse tempo de armazenagem.

## 6.2 6.2 ENSAIO 2 - POTENCIAL NUTRICIONAL DO RUC EM SUBSTITUIÇÃO À SILAGEM DE MILHO E FARELO DE SOJA NA DIETA DE RUMINANTES – CONSUMO E DIGESTIBILIDADE 'IN VIVO'.

O consumo e a digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA não foram influenciados pela inclusão progressiva do RUC em substituição à silagem de milho e farelo de soja ( $P < 0.001$ ) (Tabela 3). A semelhança observada para o consumo de MS e MO, independente do nível de inclusão de RUC concorda parcialmente com resultados obtidos por Cabral Filho et al., (2007), o qual demonstraram que pode ser feita a inclusão máxima de RUC de até 33% da MS total da dieta, e que acima disso o consumo pode ser afetado devido ao aumento do teor de FDN da dieta. No presente estudo, o teor de FDN aumentou em aproximadamente 60 g/kg MS na dieta com 30% de inclusão do RUC em comparação ao tratamento controle (Tabela 1), valor este que se mostrou insuficiente para que houvesse redução no consumo.

Por outro lado, Frasson (2015) avaliando 4 níveis de substituição de silagem de sorgo por RUC (0%, 33,5%, 66,5% e 100%) verificou que a inclusão de RUC na dieta dos animais não influenciou o consumo de MS independentemente do níveis de inclusão. Silva et al. (2010) avaliando consumo e digestibilidade a partir da inclusão de RUC em substituição ao alimento concentrado na dieta (0, 25, 50, 75 e 100%) observou efeito quadrático sobre o consumo de MS, o qual aumentou até o nível de inclusão de 25%, sendo que as dietas com 75 e 100% de substituição apresentaram os menores valores de consumo de MS, em razão dos diferentes níveis de MS das dietas oferecidas, onde a dieta com a máxima inclusão de RUC apresentou aproximadamente 20 pontos percentuais a menos de MS que a dieta controle. Segundo os autores, esse menor consumo poderia estar relacionado a maior ingestão de água e ao elevado teor FDN da dieta com 100% de inclusão de RUC (693 g/kg MS). No presente trabalho o teor de FDN da dieta com a máxima inclusão de RUC foi de somente 510 g/kg MS, o que está muito próximo aos valores observados por Silva e colaboradores na dieta com 25% de substituição do alimento concentrado.

**Tabela 4:** Consumo e digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA em ovinos recebendo dietas com a inclusão progressiva do resíduo úmido de cervejaria (RUC) em substituição à silagem de milho e o farelo de soja.

Variável	Tratamentos					Valor de P
	RUC <sub>0</sub>	RUC <sub>10</sub>	RUC <sub>20</sub>	RUC <sub>30</sub>	EP	
<b>Consumo</b>						
Matéria seca (kg/dia)	1,47	1,53	1,64	1,53	0,276	0,74
Matéria orgânica (kg/dia)	1,37	1,42	1,53	1,43	0,258	0,74
FDN (g/dia)	600	689	802	741	152,2	0,20
FDA (g/dia)	343	346	365	314	58,8	0,54
<b>Digestibilidade (g/g ingerido)</b>						
Matéria seca	0,68	0,64	0,64	0,61	0,059	0,27
Matéria orgânica	0,71	0,67	0,67	0,63	0,056	0,26
FDN	0,57	0,56	0,59	0,53	0,124	0,79
FDA	0,66	0,57	0,52	0,55	0,094	0,16
Consumo MO digestível (kg/dia)	0,97	0,95	1,02	0,90	0,221	0,83

RUC<sub>0</sub> = sem a inclusão de RUC; RUC<sub>10</sub> = 10% de RUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja, RUC<sub>20</sub> = 20% de RUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja, RUC<sub>30</sub> = 30% de RUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja; EP = Erro padrão.

Brochier e Carvalho (2009) avaliando diferentes níveis de inclusão de RUC em substituição ao alimento concentrado da dietas de cordeiros em terminação, observaram diminuição no consumo de MS a média que aumentou a inclusão de RUC, indicando que o maior CMS se deu com uma inclusão de RUC de 31,1% da MS da dieta. Bovolenta (1998), ao trabalhar com níveis crescentes de RUC (0, 200, 400, 600 e 800 g/kg de MS) observou efeito linear decrescente no consumo de MS. Os estudos citados acima trabalharam com a inclusão de RUC substituindo o alimento volumoso ou o alimento concentrado da dieta. No presente estudo, o RUC foi incluído substituindo as duas frações, e os resultados corroboram as observações anteriores indicando que o RUC pode ser incluído em valores de aproximadamente 30% da MS total da dieta sem afetar negativamente o consumo.

A inexistência de diferença na digestibilidade entre tratamentos reforça a ideia que a inclusão de quantidades moderadas de RUC na dieta de ruminantes pode ser recomendada. Cabral Filho et al., (2007) verificou variação significativa para a digestibilidade da MO, onde a inclusão de 67% da MS da dieta de resíduo de cervejaria ensilado, reduziu em aproximadamente doze pontos percentuais a digestibilidade da matéria orgânica. De outra forma, o melhor resultado para esta variável ocorreu quando a inclusão de RUC foi na ordem de 33% na MS substituindo feno de Tifton 85. Segundo os autores a explicação para esses resultados estaria relacionada à diminuição do consumo voluntário dos animais quando o subproduto foi oferecido em níveis mais elevados na dieta. No mesmo sentido, Silva et al., (2015) observaram redução linear na digestibilidade aparente da MS e MO com níveis crescentes de RUC (0, 25, 50, 75 e 100%) em substituição ao alimento concentrado. No presente estudo a inclusão máxima de RUC foi de 30% da MS total da dieta, o que se mostrou insuficiente para afetar o consumo e a digestibilidade da MO e seus constituintes. Cabral Filho et al., (2007), também observaram ausência de efeito da inclusão de RUC sobre a digestibilidade da MS, destacando que os baixos valores de digestibilidade (477, 528, 449 g de MS digestível/kg, para os tratamentos com inclusão de 0, 33 e 67% de RUC, respectivamente) seriam explicados pela qualidade do feno utilizado, sendo que este apresentou 37% do nitrogênio total ligado à porção FDA e portanto considerado indisponível para os ruminantes.

O consumo e a digestibilidade aparente dos compostos nitrogenados foram semelhantes nos diferentes tratamentos, mas a excreção urinária de N reduziu, enquanto a retenção nitrogenada e a eficiência de uso do N aumentaram com a inclusão progressiva do RUC em substituição à silagem de milho e o farelo de soja (Tabela 4). O consumo de N foi em média 35,1 g/dia, o que equivale a 220 g PB/dia, valor muito próximo ao predito pelo NRC (1985) para animais dessa categoria (240 g/dia).

As menores excreções urinárias de N nos tratamentos com a inclusão do RUC podem ser, ao menos parcialmente, atribuídas a menor degradabilidade ruminal da proteína do RUC, o que levaria a menor produção e absorção ruminal de amônia. Segundo Merchen et al. (1979), aproximadamente 50% da proteína do RUC pode estar em forma de proteína não degradável no rúmen. Dessa

forma, menores perdas ruminais de N, com aumento do fluxo intestinal de proteína metabolizável e aumentos na retenção nitrogenada e eficiência do uso do N seriam esperados quando o RUC é utilizado em substituição a ingredientes com maior degradabilidade ruminal da proteína.

**Tabela 1:** Consumo, digestibilidade e retenção de compostos nitrogenados em ovinos recebendo dietas com a inclusão progressiva do grão úmido de cervejaria (GUC) em substituição à silagem de milho e o farelo de soja.

Variável	Tratamentos					Valor de P
	GUC <sub>0</sub>	GUC <sub>10</sub>	GUC <sub>20</sub>	GUC <sub>30</sub>	EP	
Consumo total de N (g/dia)	29,7	33,9	39,3	37,6	6,76	0,13
Excreção urinária de N (g/dia)	9,1 <sup>a</sup>	6,0 <sup>b</sup>	5,7 <sup>b</sup>	7,3 <sup>ab</sup>	1,98	0,07
Excreção fecal de N (g/dia)	9,0	10,0	10,0	9,5	2,04	0,82
Digestibilidade (g/g N consumido)	0,69	0,71	0,75	0,75	0,05	0,18
Retenção de N (g/dia)	11,7 <sup>b</sup>	17,8 <sup>ab</sup>	23,6 <sup>a</sup>	20,8 <sup>a</sup>	6,57	0,05
Eficiência uso N (g/g N consumido)	0,37 <sup>b</sup>	0,52 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,50 <sup>ab</sup>	0,125	0,07

Médias seguidas de letras desiguais diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ); GUC<sub>0</sub> = sem a inclusão de GUC; GUC<sub>10</sub> = 10% de GUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja, GUC<sub>20</sub> = 20% de GUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja, GUC<sub>30</sub> = 30% de GUC na MS em substituição à silagem de milho e o farelo de soja; EP = Erro padrão.

## 7 CONCLUSÕES

O sal comum se mostrou eficaz para auxiliar na redução do pH e evitar a deterioração do substrato seco no processo de armazenamento do RUC na inclusão de 2,5% da matéria natural.

A inclusão de sal comum não modificou a concentração de micotoxinas no RUC, no entanto características sensoriais mostram que a partir de 15 dias de armazenamento possa ver restrição de uso na alimentação animal.

A inclusão de até 30% de RUC em dietas totalmente misturadas para ovinos, em substituição parcial à silagem de milho e ao farelo de soja, pode ser recomendada sem que ocorram reduções no consumo e na digestibilidade dos nutrientes.

Aumentos na eficiência de uso do N com a inclusão progressiva do RUC em dietas para ruminantes e seus efeitos sobre o desempenho produtivo devem ser melhor estudados.

## 8 REFERÊNCIAS

Aguilera-Soto, J.I., Ramirez, R.G., Arechiga, C.F., Mendez-Llorente, F., Lopez-Carlos, M.A., Piña-Flores, J.A., Medina-Flores, C.A., Rodríguez-Frausto, H., Rodríguez-Tenorio, D., Gutiérrez-Bañuelos, H., 2009. Effect of Feed Additives on Digestibility and Milk Yield of Holstein Cows Fed Wet Brewer Grains. *Journal of Applied Animal Research* 36, 227-230.

Albarracín, W., Sánchez, I.C., Grau, R., Barat, J.M., 2011. Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science & Technology* 46, 1329-1336.

Allen, W. R., K. R. Stevenson, and J. G. Buchanan-Smith. 1975. Influence of additives on short-term preservation of wet brewers' grains stored in uncovered piles. *Can. J. Anim. Sci.* 556:609–618.

Bovolenta, S., Piasentier, E., Peresson, C., Malossini, F., 1998. The utilization of diets containing increasing levels of dried brewers' grains by growing lambs. *Animal Science* 66, 689-695.

Breirem, K. and Ulvesli, O. 1960. Ensiling methods. *Herbage Abstr.* 30: 1-8.

Brochier, M. A. Environmental, productive and economic aspects of use of brewery residue as food of lamb feedlots in finishing phase. *Ciênc. agrotec., Lavras*, v. 33, n. 5, p. 1392-1399, set./out., 2009.

Brochier, M.A., Carvalho, S., 2009. Aspectos ambientais, produtivos e econômicos do aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros em sistema de confinamento. *Ciência e Agrotecnologia* 33, 1392-1399.

Brust, L.A.C., Aragão, A.P., Bezerra Jr, P.S., Galvão, A., França, T.N., Graça, F.A.S., Peixoto, P.V., 2015. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35, 956-964.

Bullerman, L.B.; Schroeder, L.L. & Park, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Prot.*, 47: 637-646, 1984.

Cabral Filho, S. L. S.: Bueno, I. C. S; Abdalla, A I. Substituição de feno de Tifton pelo réiduo de cervejaria úmido em dietas de ovinos em manutenção. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p. 65-73, 2007.

Carpintero, M. C., Holding, A. J. and McDonald. P. 1969. Fermentation studies on lucerne. *J. Sci. Food Agric.* 20: 677-681.

Cavaglieri, L.R.; Keller, K.M.; Pereya, C.M.; Gonzalez Pereya, M.L.; Alonso, V.A.; Rojo, F.G.; Dalcerro, A.M.; Rosa, C.A.R. Fungi and natural incidence of selected mycotoxins in barley rootlets. *J. Stored Prod. Res.* **2009**, 45, 147–150.

Clark, J.H., Murphy, M.R., Crooker, B.A., 1987. Supplying the Protein Needs of Dairy Cattle from By-Product Feeds<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science* 70, 1092-1109.

Clarke, J.H. & Hill, S.T. Mycofloras of Moist Barley During Sealed Storage in Farm and Laboratory Silos. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 77: 557-565. 1981.

Dhiman, T.R., Bingham, H.R., Radloff, H.D., 2003. Production response of lactating cows fed dried versus wet brewers' grain in diets with similar dry matter content. *J Dairy Sci* 86, 2914-2921.

Dimperio, A.S. Adição de diferentes níveis de farelo de palma (*Opuntia fícus indica* (L.) Mill) sobre a composição químico-bromatológica e estabilidade aeróbica de silagens de maniçoba (*Manihot glaziovii* Pax e Hiffman). 43f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal da Paraíba, 2005.

Ferraretto, L.F., Silva Filho, W.I., Fernandes, T., Kim, D.H., Sultana, H., 2018. Effect of ensiling time on fermentation profile and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated corn with or without varied concentrations of wet brewers grains. *J Dairy Sci* 101, 4643-4649.

Firkins, J.L., Harvatine, D.I., Sylvester, J.T., Eastridge, M.L., 2002. Lactation performance by dairy cows fed wet brewers grains or whole cottonseed to replace forage. *J Dairy Sci* 85, 2662-2668.

Frasson, M. F. 2015. Resíduo úmido de cervejaria em substituição ao alimento volumoso na terminação de cordeiros em confinamento. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria.

Gonzalez Pereyra ML, Rosa CAR, Dalcerro AM, Cavaglieri LR Micobiota e micotoxinas em cevadamaltada e grãos de cervejaria de cervejarias argentinas. *Lett. Aplic. Microbiol.* 2011; 53 :649-655. doi:10.1111/j.1472-765X.2011.03157.x.

Hatungimana, E., Stahl, T.C., Erickson, P.S., 2020. Growth performance and apparent total tract nutrient digestibility of limit-fed diets containing wet brewer's grains to Holstein heifers. *Transl Anim Sci* 4, txaa079.

Huff, W.E.; Doerr, J.A. Synergism between aflatoxin and ochratoxin A in broiler chickens. *Poult. Sci.* 1981, 60, 550–555.

Hussein, H.S. & Brasel, J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167: 101-134, 2001.

Imaizumi, H., Batistel, F., de Souza, J., Santos, F.A., 2015. Replacing soybean meal for wet brewer's grains or urea on the performance of lactating dairy cows. *Trop Anim Health Prod* 47, 877-882.

Jouany, J. P; Yiannikouris, A and Bertin. G. Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. *Options Méditerranéennes*, A / no. 85, 2009. Nutritional and foraging ecology of sheep and goats

KONZEN, E.A. Arranjo Produtivo de Grãos, Aves e Suínos: Manejo de Dejetos e Impactos Ambientais. Disponível em <[www.plasudoeste.hpg.ig.com.br/documentos/egidio\\_arno\\_embropa.doc](http://www.plasudoeste.hpg.ig.com.br/documentos/egidio_arno_embropa.doc)> Acesso em 04 jun 2004.

Kozloski, G.V., 2011. *Bioquímica dos Ruminantes*, Editora UFSM, Santa Maria, RS.

Lowes, K. F., C. A. Shearman, J. Payne, D. MacKenzie, D. B. Archer, R. J. Merry, Lowes, K. F., Shearman, C. A., Payne, J., Mackenzie, d., Archer, D. B., Feliz, R. J. and M. J. Gasson. 2000. Prevention of yeast spoilage in feed and food by the yeast mycocin HMK. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1066–1076.

- Lv, J., Fang, X., Feng, G., Zhang, G., Zhao, C., Zhang, Y., Li, Y., 2020. Effects of Sodium Formate and Calcium Propionate Additives on the Fermentation Quality and Microbial Community of Wet Brewers Grains after Short-Term Storage. *Animals* 10, 1608.
- Marston, S.P., Spangler, D.A., Whitehouse, N.L., Erickson, P.S., 2009. Addition of a Silage Preservative Reduces Spoilage in Wet Brewers Grain<sup>1</sup>. *The Professional Animal Scientist* 25, 388-392.
- Mastanjević, K.; Lukinac, J.; Jukić, M.; Šarkanj, B.; Krstanović, V. and Mastanjević, K. Multi-(myco)toxins in Malting and Brewing By-Products. A review. *Toxins* 2019, 11, 30; [www.mdpi.com/journal/toxins](http://www.mdpi.com/journal/toxins).
- McDonald, P.; Herderson, A.R.; Heron, S.J.E. *Biochemistry of silage* 2.ed. Marlow: Chalcombe Publication, 1991. 340p.
- Miyazawa, K., Sultana, H., Hirata, T., Kanda, S., Itabashi, H., 2007. Effect of brewer's grain on rumen fermentation, milk production and milk composition in lactating dairy cows. *Animal Science Journal* 78, 519-526.
- Moriel, P., Artioli, L.F.A., Poore, M.H., Ferraretto, L.F., 2015. Dry matter loss and nutritional composition of wet brewers grains ensiled with or without covering and with or without soybean hulls and propionic acid. *The Professional Animal Scientist* 31, 559-567.
- Murdock, F.R., Hodgson, A.S., Riley, R.E., 1981. Nutritive Value of Wet Brewers Grains for Lactating Dairy Cows<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science* 64, 1826-1832.
- Naine, R.; Garcia, A.C.A. *Percepção ambiental e diretrizes para compreender a questão do meio ambiente*. Novo Hamburgo: FEEVALE, 2004. 136p.
- National Research Council, N. R. C., 1985. *Nutrient Requirements of Sheep*. 6<sup>th</sup> Edn, National Academies Press, Washington, DC.
- National Research Council, N.R.C., 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7<sup>th</sup> Edn, National Academies Press, Washington, DC.
- P. Moriel, L. F. A. Artioli, M. H. Poore and L. F. Ferraretto. 2015. Dry matter loss and nutritional composition of wet brewers grains ensiled with or without covering and with or without soybean hulls and propionic acid. *The Professional Animal Scientist* 31: 559–567.
- Parmenter, R.T., James, D.M., Townsend, H.E., Rickard, J.W., 2018. 444 Effectiveness of Ensiling Wet Brewer's Grains. *Journal of Animal Science* 96, 238-239.
- Resíduo úmido de cervejaria - tópicos importantes sobre ele ([agrocereasmultimix.com.br](http://agrocereasmultimix.com.br)).
- Rotter, B.A.; Prelusky, D.B. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health* 1996, 48,1–34.
- Santiago, T. O ambiente é responsabilidade de toda a sociedade. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.21, nº202, p1-2, jan/fev de 2000.
- Schneider, R.M., Harrison, J.H., Loney, K.A., 1995. The Effects of Bacterial Inoculants, Beet Pulp, and Propionic Acid on Ensiled Wet Brewers Grains. *Journal of Dairy Science* 78, 1096-1105.

Silva, V. B., Fonseca, C. E. M., Morenz, M. J. F., Peixoto, E. L. T., Moura, E. S., Carvalho, I. N. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.7, p.1595-1599, 2010

Stefanello, F.S., Fruet, A.P.B., Trombetta, F., da Fonseca, P.A.F., dos Santos da Silva, M., Stefanello, S., Nörnberg, J.L., 2019. Stability of vacuum-packed meat from finishing steers fed different inclusion levels of brewer's spent grain. *Meat Science* 147, 155-161.

Taormina, P.J., 2010. Implications of salt and sodium reduction on microbial food safety. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50, 209-227.

Voss, K.A.; Riley, R.T. Fumonisin toxicity and mechanism of action: Overview and current perspectives. *Food Saf.* 2013, 1, 49–69.

Wang, B., Luo, Y., Myung, K.H., Liu, J.X., 2014. Effects of Storage Duration and Temperature on the Chemical Composition, Microorganism Density, and In vitro Rumen Fermentation of Wet Brewers Grains. *Asian-Australas J Anim Sci* 27, 832-840.

Westendorf, M. L.; Wohlt, J. E., 2002. Brewing by-products: their use as animal feeds. *Vet. Clinics N. Am.: Food Anim. Pract.*, 18 (2): 233–252.

Woolford, M. K. Some aspects of the microbiology and biochemistry of silage making. *Herbage Abstracts, Wallingford*, v. 42, n. 2, p. 105-111, June 1972.

Yunker, R.S., Winland, S.D., Firkins, J.L., Hull, B.L., 1998. Effects of Replacing Forage Fiber or Nonfiber Carbohydrates with Dried Brewers Grains<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science* 81, 2645-2656.