

CÁSSIO JOSÉ DA SILVA

PROCESSAMENTO DE GRÃOS DE MILHO PARA USO NA
ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586p
2012

Silva, Cássio José de, 1982-

Processamento de grãos de milho para uso na alimentação
de vacas leiteiras / Cássio José de Silva. – Viçosa, MG, 2011.
xii, 86f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndices.

Orientador: José Carlos Pereira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Grãos - Processamento. 2. Milho - Processamento.
3. Umidade. 4. Bovino deleite. 5. Bovino de leite -
Alimentação e rações. 6. Produção animal. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 636.2085

CÁSSIO JOSÉ DA SILVA

PROCESSAMENTO DE GRÃOS DE MILHO PARA USO NA
ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 02 de Março de 2012.

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira
(Coorientador)

Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues
(Coorientador)

Prof. Hilário Cuquetto Mantovani

Prof. Fernando de Paula Leonel

Prof. José Carlos Pereira
(Orientador)

DEDICO

A Deus, pela saúde e fé, pelas vitórias e pela força concedida para realização deste trabalho;

A minha mãe, Nair Dias da Silva (in memoriam), que me apoiou e sempre me mostrou os caminhos corretos a seguir na vida, sempre com muita fé e carinho, amor e confiança;

Ao meu pai Natalício Dias da Silva por me dar suporte em todos os momentos e pelo apoio, carinho e amor;

Aos meus irmãos, por me mostrarem o caminho, pelo incentivo, amor, força e carinho;

A minha noiva Dayanne, pelo amor e por me mostrar novas oportunidades nesta reta final;

Aos meus amigos, por estarem junto em todo o caminho e por sempre me incentivar.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento desta pesquisa.

Ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da UFV, pela estrutura e apoio.

Ao professor José Carlos Pereira, pela amizade, orientação, apoio, confiança e sabedoria dedicados a mim, o que possibilitou realização deste trabalho.

Aos professores Ricardo Augusto Mendonça Vieira, Fernando de Paula Leonel, Marcelo Teixeira Rodrigues, Rogério de Paula Lana, Augusto César de Queiroz e Hilário C. Mantovani pelos ensinamentos e amizade.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de leite,

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Fernando, Monteiro, Mário e Welington pelo apoio e colaboração.

Aos estagiários: Leandro, Vinício, Tiago, Caren, Alayn e Randerson pelo auxílio imprescindível no experimento e nas análises laboratoriais.

Aos irmãos científicos Rogério, Franscine, Evanete, Tadeu, Claudilene e Wender por contribuírem na realização deste trabalho.

Ao meu irmão Cleber, o qual segui todos os caminhos e pela inestimável ajuda com as imagens.

Aos meus amigos Gustavo, Biel, Nery, Cléo, Ronan, Josmar e Fran pelo convívio, força e carinho durante todo nosso caminho.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização desta pequena contribuição a Nutrição Animal.

BIOGRAFIA

CÁSSIO JOSÉ DA SILVA, filho de Natalício Dias da Silva e Nair Dias da Silva, nasceu em Guanhães-MG, em 21 de janeiro de 1982.

Iniciou os estudos nas Ciências Agrárias na Escola Agrotécnica Federal de São João Evangelista em janeiro de 1998, formando-se Técnico Agrícola com Habilitação em Agropecuária em dezembro de 2000.

Em agosto de 2002, iniciou na Universidade Federal de Viçosa o Curso de Graduação em Zootecnia, concluindo-o em outubro de 2006.

Em outubro de 2006, ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação no dia 29 de julho de 2008, em Viçosa, MG.

Em março de 2009 ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia na mesma instituição, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes e submetendo-se à defesa de tese do dia 02 de março de 2012.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Características dos grânulos de amido	3
2.2. Processamento de grãos de milho	6
2.3. Digestão ruminal do amido.....	9
2.4. Reconstituição de grãos de milho	12
2.5. Referências bibliográficas	16
3. CAPÍTULO 1 - Estudo das características do amido do grão de milho reconstituído e moído grosseiramente.....	22
3.1. INTRODUÇÃO	22
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.2.1. Tratamentos.....	24
3.2.2. Caracterização do perfil granulométrico do milho reconstituído .	24
3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura dos grânulos de amido do milho reconstituído.....	25
3.2.4. Avaliação da digestão enzimática pela α -amilase sobre os grânulos de amido do milho reconstituído	26
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
4. CAPÍTULO 2 - Desempenho produtivo e cinética digestiva de nutrientes em vacas alimentadas com grãos de milho reconstituído.....	36
4.1. INTRODUÇÃO	36
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.2.1. Local, animais, tratamentos e coletas.....	38
4.2.2. Análises laboratoriais.....	43
4.2.3. Composição do Leite	43
4.2.4. Determinação da digestibilidade total da matéria seca e dos nutrientes	44
4.2.5. Determinação dos teores de amido nos alimentos e nas sobras	45
4.2.6. Delineamento experimental e análises estatísticas	46
4.2.7. Cinética de degradação da fibra em detergente neutro do volumoso e do milho reconstituído	47
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52

4.4. CONCLUSÕES.....	62
4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
5. CAPÍTULO 3 -Teores de amido fecal, parâmetros ruminais e síntese microbiana em vacas alimentadas com grãos de milho reconstituído.	67
5.1. INTRODUÇÃO	67
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	69
5.2.1. Local, animais, tratamentos e coletas.....	69
5.2.2. Determinação da digestibilidade e do teor de amido nas fezes..	70
5.2.3. Determinação de parâmetros ruminais	70
5.2.4. Estimativa da produção de compostos microbianos	71
5.2.5. Análises estatísticas	72
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5.4. CONCLUSÕES	77
5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
6. CONCLUSÕES GERAIS	81
7. APÊNDICE.....	82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

1	Relação de malha, abertura e espessura dos fios das peneiras padronizadas pela norma ISO - 3310/1.....	25
2	Determinação do perfil granulométrico das partículas do milho processado utilizado nos três períodos experimentais expresso em percentual acumulado nas peneiras.....	28

CAPÍTULO 2

1	Composição bromatológica dos ingredientes e suplementos (%MS).....	39
2	Composição dos concentrados experimentais (%MS).....	40
3	Composição bromatológica dos concentrados experimentais.....	46
4	Composição da dieta.....	41
5	Consumos médios diários de matéria seca e nutrientes obtidos para as dietas experimentais.....	52
6	Coeficientes de digestibilidade aparente obtidos para as dietas experimentais.....	54
7	Produção diária de leite (PL) e componentes do leite obtidas para as dietas experimentais.....	57
8	Fracionamento dos carboidratos totais dos alimentos utilizados como componentes da dieta e taxa de degradação das frações.....	59
9	Valores médios estimados para o período de latência (λ), porção indegradável (U) e volume final de gases da fermentação microbiana (Vf) para os alimentos utilizados.....	61

CAPÍTULO 3

1	Teores médios de amido fecal e digestibilidade do amido.....	73
2	Teores médios de ácido láctico (AL), ácido acético (AA), ácido butírico e pH ruminal obtidos para as dietas experimentais.....	74
3	Média da síntese de compostos nitrogenados microbianos (NM) e eficiência microbiana (EM).....	75

LISTA DE GRÁFICOS

1	Porcentual de partículas retidas nas peneiras.....	29
2	Efeito do processamento na digestão do amido de grãos de milho pela enzima α -amilase.....	32

LISTA DE FIGURAS

1	A - Milho moído fino a 1mm (MMF); B - Milho moído a 5mm e reconstituído (MRD) e C - Milho grão reconstituído e moído a 5 mm (MRA).....	30
2	Fotomicrografia eletrônica do milho processado.....	31

APÊNDICE

Tabela	- Perfil de ácidos graxos do leite, separados por tamanho da cadeia e número de ligações, obtidas para as dietas experimentais.....	82
Modelo 1	- Modelo utilizado para determinação dos parâmetros da degradação das frações A+B1 dos carboidratos.....	84

RESUMO

SILVA, Cássio José da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2012. **Processamento de grãos de milho para uso na alimentação de vacas leiteiras.** Orientador: José Carlos Pereira. Coorientadores: Ricardo Augusto Mendonça Vieira e Marcelo Teixeira Rodrigues.

Objetivou-se com este trabalho avaliar reconstituição da umidade associada à moagem grosseira do grão de milho sobre o desempenho produtivo e os parâmetros metabólicos de vacas de leite. O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite do DZO/UFV. Foram utilizadas 6 vacas da raça Holandesa com 600 kg de peso corporal médio e produção diária 30 kg de leite/dia (30 ± 5 kg), distribuídas em dois quadrados latinos 3 x 3. As dietas foram isonitrogenadas, com 18% de proteína bruta, com base na matéria seca (MS) variando o tipo de processamento do milho: milho reconstituído depois da moagem a 5 mm (MRD); milho reconstituído antes da moagem a 5 mm (MRA) e milho duro moído a 1 mm (MMF). Foram avaliadas as seguintes variáveis: consumo de matéria seca e nutrientes; produção de leite; parâmetros ruminais de pH, e ácidos graxos voláteis (propionato, acetato, butirato); composição do leite (gordura, proteína, lactose e perfil de ácidos graxos); digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes; amido fecal; estimativa da síntese microbiana ruminal. Em laboratório, foram realizados os ensaios de degradabilidade *“in vitro”* das frações dos carboidratos dos alimentos utilizados, avaliação da atividade da enzima α -amilase, microscopia eletrônica de varredura para os grãos de milho processados e avaliação da granulometria. Os dados coletados foram analisados segundo o procedimento MIXED do programa estatístico *“Statistical Analyses System”* (SAS, 2007). O MRA apresentou maior número de partículas com tamanho acima de 1,19 mm devido ao fato da reconstituição ocorrer antes do processo de moagem, o que favorece a liberação da maior parte do pericarpo aderido ao grão de milho. Microscopicamente, os grânulos de amido não apresentaram grandes diferenças com relação a sua estrutura sendo que algumas alterações observadas nas imagens de microscopia eletrônica de varredura foram devidas à preparação das amostras para visualização. Não se verificou diferenças com relação à quantidade de amido

liberado ao longo do tempo sob a ação da enzima α -amilase (Novozymes, Termamyl 2x). A utilização do MRA e do MRD não altera o consumo de MS. O MMF tende a promover maior consumo de carboidratos não fibrosos (CNF) e amido (AM) em porcentagem dos carboidratos totais (CHOT), porém apresenta menores valores de digestibilidade da fibra. Entre os tratamentos verificou-se aumento na digestibilidade da MS para o MMF e MRD, sendo que as dietas contendo MRA e MRD causaram maior variação no consumo de FDNcp, CNF e AM, sendo o consumo de AM mais estável e constante nas dietas com MMF. Os processamentos estudados também não melhoraram a produção, a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos do leite em relação ao tratamento convencional, neste caso o MMF. O uso do MRD e MRA promoveu maior perda de amido nas fezes, porém não ocorreram alterações na digestibilidade do amido. A velocidade de degradação das frações A+B₁ para o MRA foi em média 30% superior ao MMF, indicando que provavelmente a umidade das partículas reconstituídas e a ausência do pericarpo favoreceu a atividade enzimática microbiana. As concentrações de ácido acético, propiônico e butírico não variaram com os processamentos utilizados, sendo que a dieta contendo MMF promoveu menor variação no pH ruminal entre os períodos experimentais. Em geral o MMF apresentou uma menor variação de resultados para consumo e digestibilidade entre períodos, indicando que a moagem mais uniforme e a superfície específica dos grãos são fatores importantes para evitar flutuações no metabolismo ruminal. Apesar de causar grandes alterações físicas macroscópicas e também microscópicas na estrutura dos grãos de milho, a reconstituição antes ou depois da moagem a 5 mm não promove melhorias no desempenho e nos parâmetros digestivos avaliados em vacas de leite.

ABSTRACT

SILVA, Cássio José da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march, 2012. **Processing of corn grain for use in feeding of dairy cows.** Advisor: José Carlos Pereira. Co-advisors: Ricardo Augusto Mendonça Vieira and Marcelo Teixeira Rodrigues.

The objective of this study was to evaluate the reconstitution of moisture associated to coarse grinding of the corn grain on the productive performance and metabolic parameters of dairy cows. The experiment was carried out in the Dairy Cattle Rearing Sector of the Department of Animal Science of UFV. A total of six cows of the Holstein breed, of 600 kg average body weight and production of 30 kg milk/day (30 ± 5 kg) were distributed in two 3×3 Latin squares. Diets were isonitrogenous, with 18% crude protein, on a dry matter (DM) basis, by varying the type of corn processing: corn reconstituted after grinding to 5 mm (CRA); corn reconstituted before grinding to 5 mm (CRB) and corn finely ground to 1 mm (CFG). The following variables were evaluated: dry matter and nutrient intake; milk yield; rumen parameters of pH, propionate, acetate, butyrate and lactate; milk composition (fat, protein, lactose and the fatty acid profile); dry matter and nutrient digestibility; fecal starch; and estimate of rumen microbial synthesis. *"In vitro"* degradability assays of the fractions of carbohydrates from the feedstuffs utilized, evaluation of the α -amylase enzyme activity, scanning electron microscopy for the processed corn grains and granulometry evaluation were carried out in laboratory. The data collected were analyzed according to the MIXED feature of the statistical software "Statistical Analysis System" (SAS, 2007). The flint corn grain reconstituted and ground to 5 mm presented greater number of particle of size above 1.19 mm because reconstitution occurred before the grinding process, which fosters the release of the biggest part of the pericarp attached to the corn grain. Microscopically, the starch granules do not present big differences as for their structure; some alterations seen on the scanning electron microscopy are due to preparation of the samples for visualization. No differences concerning the amount of starch released over time with the action of enzyme α -amylase (Novozymes, Termamyl 2x) were verified. The utilization of CRB and CRA does not alter

the DM intake. The flint corn ground to 1 mm tends to promote greater non-fibrous carbohydrates (NFC) and starch intake in percentage of TCHO; however, it presents lower fiber digestibility values. Among the treatments, increase in the DM digestibility was verified for CFG and CRA; diets containing CRB and CRA caused greater variation in the intake of NDFap, NFC and starch, but and the starch intake was more linear and constant in diets with CFG. The processing options studied also did not improve production, centesimal composition or the fatty acid profile of milk in comparison with the standard treatment (CFG). The use of CRA and CRB promoted higher loss of starch in the feces; however, there were no big alterations in starch digestibility. The degradation speed of fractions A+B₁ for CRB was, on average, 30% superior to CFG, which indicates that, probably, the moisture of reconstituted particles and the absence of pericarp fostered microbial enzyme activity. Concentrations of acetic, propionic and butyric acid did not vary with the processing methods utilized; the diet containing CFG promoted lower variation in the rumen pH in the experimental periods. Overall, CFG presented smaller variation of results for intake and digestibility over the periods, which indicates that the most uniform grinding and the specific surface of the diet are important factors for less fluctuation in rumen metabolism. In spite of causing great macroscopical and also microscopical physical alterations in the structure of corn grains, reconstitutions before and after grinding to 5 mm do not promote improvement in performance or digestibility parameters assessed in dairy cows.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Um grande número de métodos de processamento de grãos para ruminantes tem sido investigados, resultando em várias revisões sobre o assunto (HUNTINGTON, 1997; OWENS et al., 1997; THEURER et al., 1999; ZINN et al., 2002). Hale (1973) relaciona 18 diferentes métodos de processamento e conclui que o processamento apropriado leva à utilização mais eficiente do amido nos grãos de cereais. Quando grãos de milho inteiros são fornecidos, a digestibilidade ruminal do amido é reduzida (NICHOLSON et al., 1971; MACLEOD et al., 1972; AHMED et al., 1973; HALE, 1973; WILSON et al., 1973; BROADBENT, 1976), mas as opiniões divergem quanto ao grau de processamento a ser utilizado, como a moagem por exemplo, o que pode ser explicado em parte pelas diferenças nos grãos de cereais, contudo é consenso que algum processamento é necessário para melhorar a utilização do amido.

Os grãos de milho são classificados quanto à textura em amiláceo ou farináceo, dentado, duro ou cristalino; pipoca; doce e ceroso (PAES, 2006). Nas regiões produtoras dos EUA, o milho dentado (textura macia com endosperma farináceo) é o mais cultivado, já no Brasil ocorre o inverso onde o milho duro é mais cultivado (textura dura com endosperma vítreo). No endosperma vítreo, os grânulos de amido são revestidos por uma densa matriz de proteína altamente resistente a hidrólise enzimática, já no endosperma farináceo a matriz proteica é delgada e mais susceptível a hidrólise enzimática (PAES, 2006). Desta forma, é importante entender as diferenças entre estes endospermas, dos efeitos do processamento sobre estes grãos e das possíveis implicações da utilização destes alimentos para ruminantes.

Trabalhos experimentais mostram que quanto maior a dureza do grão menor a degradação ruminal do amido (PHILIPPEAU et al., 1999). O endosperma do grão de milho é composto por 86% de amido e 10% de proteína, sendo a fração protéica que envolve os grânulos de amido, no milho tipo duro uma importante barreira para a ação microbiana. Assim, a moagem dos grãos de milho para a alimentação dos ruminantes visa a aumentar a área superficial dos grãos para facilitar os processos digestivos,

sejam eles fermentativos ou enzimáticos. No entanto, a moagem excessiva do milho levaria a extensa produção de ácidos graxos voláteis e queda no pH ruminal, podendo interferir na digestão da celulose. Preston (1963) observou que, quando novilhos foram alimentados exclusivamente com grãos, houve maior incidência de acidose e timpanismo quando os grãos eram finamente moídos em relação aos grãos quebrados. No entanto, deve ser feito um tratamento mínimo para evitar que quantidade excessiva de grãos não digeridos seja eliminada nas fezes.

Theurer et al. (1986) afirma que todos os métodos de processamento de grãos tem como fundamentos a quebra de barreiras que impedem o acesso dos microrganismos e enzimas aos componentes nutricionais, localizados no interior do grão, sendo que se obtém maior sucesso quando se utiliza calor e umidade, porém métodos de processamento de grãos de milho como tratamento a vapor, floculação ou laminação oneram ainda mais os custos do milho, a principal fonte energética das dietas para ruminantes no Brasil. Torna-se então importante avaliar novas estratégias de processamento que não aumentem os custos da alimentação, como também melhorem a eficiência dos métodos já rotineiramente utilizados, a exemplo da moagem.

Um método de processamento simples e de fácil execução em nível de campo consiste na reconstituição da umidade do grão de milho, que pode ser combinado com a moagem grosseira. Buscando-se informações sobre a combinação destes métodos, verifica-se que há carência de informações.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos da reconstituição da umidade associada à moagem grosseira dos grãos de milho sobre o consumo, desempenho produtivo e determinados parâmetros do metabolismo de carboidratos em vacas leiteiras. Objetivou-se também avaliar as alterações na estrutura dos grânulos de amido do milho processados com esta combinação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características dos grânulos de amido

A qualidade do milho é avaliada normalmente por características físicas, tais como dureza e cor, porcentagem de pericarpo, endosperma e o gérmen, índice de flutuação, densidade e umidade. A composição química ou características micro estruturais do grão geralmente não são considerados.

O amido é o componente principal do grão de milho e consiste em um polissacarídeo não estrutural de elevada massa molecular. Os grânulos de amido são estruturas complexas, consistindo de macromoléculas de polissacarídeos parcialmente dispostas em conformações ordenadas (hélices duplas e simples) e ligadas entre si para formar grandes estruturas moleculares. Grânulos de amido são a reserva de energia mais importante em plantas superiores. Eles são compostos principalmente de amilopectina e amilose. A sua estrutura consiste de camadas concêntricas alternadas semicristalina rígida e em camadas macias amorfas.

A amilose consiste em um polímero linear, formado por unidades de α -D-glicopiranosose ligadas em α -(1,4), com poucas ligações α -(1,6) (0,1% a 2,2%) (BULEÓN et al., 1998). Essa molécula possui em média 500-5000 unidades de resíduos de glicose (OATES, 1997). A massa molecular é da ordem de 250.000 Daltons (1500 unidades de glicose), variando entre as espécies de plantas e dentro de uma mesma espécie. Moléculas de amilose de cereais normalmente são geralmente menores do que de tubérculos e leguminosas.

Já a amilopectina é o componente ramificado do amido. Sendo formada por cadeias de α -D-glicopiranosose (17 a 25 unidades) unidos em α -(1,4), sendo fortemente ramificada, com 4% a 6% das ligações em α -(1,6). A massa molecular da amilopectina varia entre 50 e 500×10^6 Daltons (VANDEPUTTE e DELCOUR, 2004). A amilopectina é, estrutural e funcionalmente, a mais importante que a amilose, pois sozinha é suficiente para formar o grânulo. Quanto à amilose, sua localização exata dentro do grânulo ainda é indeterminada. Acredita-se que ela esteja localizada entre as

cadeias da amilopectina e aleatoriamente entremeada entre as regiões amorfas e cristalinas (DENARDIN e SILVA, 2008).

Os grânulos de amido são sintetizados em uma estrutura semicristalina com morfologia e propriedades características dependendo da origem botânica, do órgão e da planta. As estruturas internas de grânulos de amido não são homogêneas e variam com as localizações radiais, a partir do hilo para a periferia. No endosperma vítreo, os grânulos de amido são densamente compactados dentro de uma matriz de proteína, enquanto que na região do endosperma farináceo, os grânulos de amido são fracamente associados à matriz proteica.

As moléculas de amilose e amilopectina encontram-se empacotadas e depositadas dentro das células do endosperma dos grãos na forma de pequenos grânulos, e são mantidas unidas através de pontes de hidrogênio (NOCEK e TAMMINGA, 1991). Devido a grande quantidade de pontes de hidrogênio inter e intramoléculas de amilose e amilopectina, os grânulos íntegros apresentam baixa capacidade de absorção de água. Diversos tipos de processamentos são aplicados aos grãos de cereais com a finalidade de romper as pontes de hidrogênio dentro dos grânulos de amido e melhorar a sua capacidade de hidratação. Dessa forma, o amido torna-se mais susceptível à digestão enzimática (FLINT e FORSBERG, 1995).

No grão de milho, o endosperma representa aproximadamente 83% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido (88%), organizado na forma de grânulos (PAES, 2006). No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (8%) do tipo prolaminas, chamadas zeínas. Essas proteínas formam os corpos protéicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma em qualquer cereal. Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo (PAES, 2006).

No primeiro, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz protéica circundando essas estruturas, o que resulta em espaços vagos durante o processo de secagem do grão, a partir dos espaços onde antes era ocupado pela água, durante o desenvolvimento do grão. Por outro lado, no endosperma vítreo, a matriz protéica é densa,

com corpos proteicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas.

No endosperma, especificamente, na camada de aleurona e no endosperma vítreo, estão presentes os carotenóides, substâncias lipídicas que conferem a cor aos grãos de milho. Zeaxantina, luteína, betacriptoxantina, alfa e beta carotenos são os principais carotenóides nos grãos de milho.

Cada espécie vegetal produz grânulos de amido com determinadas características, como tamanhos, formas e propriedades. Os grânulos são pseudocristais com áreas organizadas (cristalinas), e com outras relativamente não organizadas (amorfas). Segundo Chesson e Forsberg (1988), a penetração de água e das enzimas é mais rápida nas regiões amorfas dos grânulos onde, provavelmente, ocorre o início da rápida mobilização de todo o grânulo de amido pelas enzimas amilolíticas.

A relação amilose:amilopectina influencia a degradabilidade do amido. Guibot & Mercier (1985) demonstraram que o amido "seroso", de baixa amilose, é mais degradável que o amido de milho comum. A menor digestibilidade das variedades de alta amilose pode estar relacionada com a capacidade da amilose de limitar a incubação e/ou devido à orientação das moléculas de amilose em direção ao interior dos cristais de amilopectina, causando um aumento nas pontes de hidrogênio, o que limitaria o umedecimento e a hidrólise enzimática. A outra teoria que explica a menor digestibilidade da amilose reside no fato de que a mesma está localizada principalmente na região amorfa onde é complexada com lipídeos (ROONEY e PFLUGFELDER, 1986).

Outro dos principais fatores que afetam a utilização do amido pelos animais é a presença de uma matriz protéica ao redor do grânulo de amido, a qual dificulta a ação das enzimas digestivas (KOTARSKI et al., 1992). A presença dessa matriz protéica é mais significativa nos grãos de sorgo e milho que nos demais cereais (SNIFFEN et al., 1987). O grão inteiro, com o pericarpo intacto, é altamente resistente à digestão pelos ruminantes, por não permitir a adesão de bactérias (BEAUCHEMIN et al., 1994; MCALLISTER et al., 1994), assim como por possuir uma matriz protéica intacta ao redor dos grânulos de amido. Visando aumentar a susceptibilidade

da molécula de amido ao ataque enzimático no rúmen, várias formas de processamento de grãos vêm sendo estudadas. Estas alterações na estrutura do grânulo de amido aumentam a digestão amilolítica por parte das enzimas de microrganismos ruminais. O processamento físico na presença de umidade e vapor quebra a matriz e corpos protéicos, que dificultam a degradação do amido, permitindo uma maior digestão enzimática (NOCEK e TAMMINGA, 1991).

2.2. Processamento de grãos de milho

O uso de grãos processados na alimentação de ruminantes vem sendo estudado com frequência (NOCEK e TAMMINGA, 1991; HUNTINGTON, 1997; THEURER et al., 1999; FIRKINS et al., 2001; HARMON e MCLEOD, 2001, 2005; OWENS e ZINN, 2005), onde o processamento visa aumentar a disponibilidade do amido e conseqüentemente da energia para o animal, melhorando aspectos de manejo e performance animal. O processamento aumenta o acesso dos microrganismos aos grânulos de amido pela eliminação de barreiras primárias como o pericarpo e redução da infulência da matriz proteica que envolve estes grânulos (OWENS et al., 1986).

Existem diversas maneiras de processar os grãos e segundo Hale (1973), os métodos são classificados em processamento a seco como quebra, moagem, tostagem e peletização, e processamentos úmidos como floculação, explosão e cozimento sob pressão.

Durante o processamento, a matriz protéica do endosperma do grão é rompida, permitindo o acesso mais fácil das enzimas microbianas ou intestinais ao grânulo de amido, o que pode ser comprovado em estudos histológicos com grãos processados com uso de calor e pressão, que mostram desorganização da matriz protéica ao redor dos grânulos de amido (HALE, 1973).

O efeito do método de processamento escolhido sobre o local e extensão de digestão do amido será determinado pelas condições de processamento (tamanho de partícula, extensão da fermentação de grãos ensilados com alta umidade, tempo de fermentação, densidade de

floculação e extensão da gelatinização), bem como pela variedade ou híbrido utilizado (OWENS e ZINN, 2005).

A seguir são apresentados alguns dos principais métodos de processamento.

A moagem é o processo pelo qual o grão é reduzido a partículas menores pelo impacto ou atrito, podendo causar significativas mudanças na digestibilidade do amido e da proteína. É o método de preparação dos grãos mais comum, simples e barato e é usualmente realizado por meio de um moinho de martelo, onde o impacto reduz o tamanho da partícula do grão até que ele passe através de uma peneira (ENSMINGER et al., 1990). Os fatores que influenciam natureza do alimento moído são o tamanho da peneira, tamanho do moinho, capacidade e velocidade deste moinho, tipo de grão e conteúdo de umidade do grão.

A laminação refere-se ao processo pelo qual o grão é comprimido em partículas achatadas pela passagem deste entre rolos. A laminação pode ser realizada sem adição de água (laminação a seco) ou após submeter o grão ao vapor (laminação a vapor). Na laminação a seco ocorre a passagem do grão, entre uma série de cilindros de aço. O tamanho da partícula varia de muito fina até muito grossa e é influenciado pela pressão dos rolos e do espaço entre eles, conteúdo de umidade do grão, e taxa de fluxo do grão (ENSMINGER et al., 1990). Já na laminação a vapor ocorre a exposição do grão ao vapor por um curto período de tempo, geralmente de 1 a 8 minutos, seguido da laminação, sendo que o vapor serve para amolecer a semente. O conteúdo de umidade do grão laminado vapor é aumentado em 6% (ENSMINGER et al, 1990). Pode ocorrer aumento na palatabilidade do grão, e aumento na digestibilidade (SIMAS, 1997).

A micronização consiste de expor os grãos de cereais a ação de raios infravermelhos durante certo tempo que varia entre 25 segundos e 2 minutos, conforme o cereal. Os raios infravermelhos penetram nos grãos e produzem uma vibração de frequência elevada nas moléculas do seu interior, originando um aquecimento interno muito rápido e uma elevação da pressão de vapor de água; os grãos se tornam gelatinosos, se incham e finalmente estalam, após essa etapa os grãos são passados entre cilindros

aplastadores, os quais dão forma estável de flocos, e na continuação são refrigerados para reduzir sua temperatura (BENEDÍ, 1989).

O cozimento é um processamento pela aplicação de calor úmido. Observa-se que este processamento, em muitos trabalhos de pesquisa, diminui a digestibilidade da proteína e aumenta levemente a digestibilidade do amido e geralmente não melhora o desempenho animal. Em geral os alimentos cozidos não melhoram o valor nutritivo para monogástricos, entretanto o grão de soja é uma exceção, pois o seu valor aumenta significativamente (ENSMINGER et al., 1990).

A floculação consiste numa modificação da laminação a vapor, pois neste processo a aplicação de vapor é mais bem monitorada, fazendo com que a umidade do grão aumente até níveis próximos a 18%. A espessura do grão floculado é menor (0,9 a 1,1 mm) do que o grão laminado (1,5 a 2,4 mm) devido aos grãos passarem por um segundo par de rolos ajustados para comprimirem ainda mais os grãos. É necessário aproximadamente 12 minutos de vapor para grãos de milho e no mínimo o dobro de tempo para grãos de sorgo. A temperatura do grão eleva a aproximadamente 100 °C no momento em que entram no primeiro rolo de prensagem, o que causa a gelatinização (hidratação e ruptura do complexo molecular) dos grânulos de amido (ENSMINGER et al., 1990). A floculação dos grãos causa melhoria na degradação ruminal e na disponibilidade do amido em relação a laminação a seco ou vapor (ENSMINGER et al., 1990). Conforme estes autores, ocorre aumento da palatabilidade e consumo de matéria seca com o uso do milho floculado.

Na reconstituição, é feita uma adição de água ao grão seco, com o intuito de elevar o conteúdo de umidade a 25 a 30%, o que ocorre num tempo médio de 24 a 48 horas. A água é importante no processamento e preparação dos grãos. Algumas vezes o conteúdo de água de um alimento pode ser alterado para proporcionar melhor o armazenamento na forma de silagem. Quando o grão maduro que é colhido com um nível de umidade normal (10 a 14% de umidade), seguido da adição de água até o nível de umidade de 25 a 30%, é possível armazenar o produto em uma estrutura adequada durante 15 a 21 dias antes do fornecimento aos animais; assim, o grão reconstituído envolve processamento que se assemelha a um

encharcamento o qual resulta em um produto final similar ao grão com alta umidade.

A escolha do processamento a se utilizar deve levar em consideração as alterações no valor nutritivo do grão processado e também os custos envolvidos em aquisição de maquinários, operação e manutenção.

2.3. Digestão ruminal do amido

Devido a sua predominância numérica e diversidade metabólica, as bactérias ruminais são responsáveis pela maior parte da digestão do amido no rúmen. *Streptococcus bovis*, *Ruminobacter amylophilus*, *Prevotella ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Succinimonas amylolytica* e *Selenomonas Ruminantium* são bactérias no rúmen que digerem o amido (COTTA, 1988).

Embora o tipo de endosperma (vítreo ou farináceo) possa ter uma considerável influência sobre a capacidade de ação das enzimas amilolíticas isoladas na digestão do amido (ZHANG et al., 2006), esta limitação de ação é menos acentuada quando grânulos de amido isolados estão sujeitas à digestão por um população microbiana mista rúmen (MCALLISTER et al., 1993a; FONDEVILA e DEHORITY, 2001). Isso reflete a diversidade de amilases produzidas por microrganismos ruminais, bem como a formação de um “consórcio” microbiano que frequentemente é observado sobre a superfície de grânulos de amido. Esse grupo microbiano pode secretar todas as enzimas necessárias para superar as barreiras digestivas adicionais que existem na superfície dos grânulos de amido, tais como a matriz proteica que envolve os grânulos de amido.

A digestão microbiana dos grânulos de trigo e cevada inicia-se partir de um ponto central de fixação microbiana na superfície do grânulo (MCALLISTER e CHENG, 1996). Em contraste, com amido do milho, forma-se um túnel da superfície para o interior dos grânulos de amido onde a digestão se dá de dentro para fora. Como consequência, o interior dos grânulos muitas vezes fica vazio, com apenas a camada exterior resultante (MCALLISTER e CHENG, 1996). Embora existam diferenças na velocidade de digestão de diferentes tipos de grânulos de amido, o maior impacto sobre

se dá pela influência de barreiras primárias, tais como a matriz protéica, o pericarpo e casca. Fungos e protozoários são capazes de degradar o amido sendo que os protozoários podem ser responsável por até 50% do amido digestão no rúmen (JOUANY e USHIDA, 1999). Protozoários engolfam grandes quantidades de grânulos de amido e causam impacto significativo digestão de grãos de cereais. Assim, possuem a capacidade de modular pH (USHIDA et al., 1991) como resultado da sua capacidade de engolfar grânulos de amido e de preda bacterias amilolíticas (NAGARAJA et al., 1992). Uma vez engolfados, os grânulos de amido podem levar até 36 h para ser completamente metabolizado por protozoários (COLEMAN, 1986).

A inclusão de altos níveis de concentrado na dieta pode causar o declínio no numero de protozoários, um fator que pode agravar o abaixamento do pH ruminal e aumentar o risco de acidose.

Já os fungos ruminais são muitas vezes considerados apenas em relação à digestão de parede celular de plantas, porém sua contribuição para biomassa biomassa do rúmen aumenta quando grãos são incluídos na dieta (FAICHNEY et al., 1997). Apesar de fungos ruminais não serem verdadeiramente importantes para a digestão ruminal do amido, muitas espécies de fungos apresentam atividade amilolítica e a sua capacidade característica de penetrar através de barreiras primárias é muito importante para a digestão do endosperma vítreo e posterior colonização por bacterias (MCALLISTER e CHENG, 1996).

Com a colonização pelos microrganismos, inicia-se a hidrólise enzimática do amido. Várias enzimas estão envolvidas na digestão do amido e embora haja muitas informações sobre as enzimas envolvidas na digestão ruminal da parede celular das plantas, existem poucos estudos sobre enzimas amilolíticas. A maioria destes têm-se centrado na alfa-amilases de *S. bovis* (CLARK et al., 1992; COTTA e WHITEHEAD, 1993; SATOH et al., 1993). Depois que grânulos de amido liberam cadeias menores de polissacarídeos, estes são rapidamente hidrolisados no fluido ruminal (CONE, 1991).

Bacterias ruminais preferencialmente colonizam grânulos de amido expostos pelo processamento ou como produtos de digestão por outros microrganismos. No grão de milho, a digestibilidade do amido está

negativamente correlacionada com as concentrações de proteína (PHILIPPEAU et al., 2000) sendo que as relações entre vitreosidade do endosperma e digestão do amido são identificados constantemente (KOTARSKI et al., 1992).

Em síntese, a digestão de amido ruminal começa com a fixação bacteriana à superfície da molécula de amido. Os fungos são muitas vezes instrumentos de quebra das camadas exteriores de grãos e permitem o acesso bacteriano ao interior dos grânulos de amido (MCALLISTER et al., 1994; MENDOZA et al., 1993; VAN SOEST, 1994). Em seguida, diversas espécies de bactérias começam a secretar amilases e outras enzimas digestivas. Com a hidrólise da molécula de amido ocorre liberação das moléculas de glicose que são absorvidos pelas células bacterianas.

Como o aumento na quantidade de amido na dieta, a quantidade de amido digerido no rúmen também aumenta, no entanto, a proporção de amido digerido no rúmen, em comparação com a digestão do trato total, diminui (HUNTINGTON, 1997; RUSSELL et al., 1981b). A maior parte da digestão do amido no rúmen ocorre no prazo de cinco horas após a ingestão (OWENS, 1988). A passagem do amido do rúmen para o intestino depende dos padrões de motilidade ruminal, da taxa global de passagem e do tamanho de partícula.

Altos níveis de amido, inicialmente causam um aumento na atividade microbiana, tanto de bactérias amilolíticas, como celulolíticas. Há um aumento rápido na quantidade de AGVs produzidos 0,5 a 4 horas depois da alimentação (VAN SOEST, 1994). Geralmente, com a fermentação de carboidratos oriundos de forragem, ocorre aumento na produção de acetato de (OWENS, 1988), enquanto que a fermentação de amido produz predominantemente propionato. Como a quantidade de AGVs produzido pode exceder a capacidade de absorção do animal ou o poder tampão da saliva produzida, o pH do rúmen diminui. Abaixo de pH 6,0, algumas espécies de bactérias começam a produzir lactato. Abaixo do pH 5,0-5,5, a produção de lactato é aumentada, e produção de AGVs é reduzida (OWENS, 1998; SLYTER, 1976). Isto porque o lactato é um ácido mais forte que o AGVs (pKa de 3,8 vs 4,8-4,9), o que provoca uma maior queda de pH em relação aos AGVs (VAN SOEST, 1994). Assim, deve-se respeitar os

limites de fermentação ruminal através da combinação de fatores como relação volumoso:concentrado, nível de processamento utilizado nos grãos e tipo de grão utilizado na limentação dos ruminantes.

2.4. Reconstituição de grãos de milho

A reconstituição consiste no reumedecimento dos grãos de milho até um determinado teor de umidade desejado. A princípio pode parecer um processo “energeticamente desfavorável”, desprezando a energia térmica consumida durante o processo de secagem, porém pode facilitar o acesso dos microrganismos ruminais ao endosperma e melhorar a digestibilidade do amido.

A dureza do endosperma está relacionada com a composição química, basicamente a composição protéica (albuminas, proteínas solúveis em água; globulinas que podem extraídas com solução salina; com álcool e água, as prolaminas). Os grânulos de amido dentro das células estão envoltos por uma matriz protéica. A densidade da matriz varia com a localização da célula no grão. A matriz é esparsa e fragmentada no endosperma farináceo e densa e bem desenvolvida na região vítrea.

Na porção farinácea os grânulos de amido estão mais acessíveis ao ataque enzimático. A interação com a proteína pode reduzir a susceptibilidade do amido à hidrólise enzimática, reduzindo a digestibilidade deste carboidrato, além da presença do pericarpo. O pericarpo representa, em média, 5% do grão, sendo a estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos.

Jobim (1996) afirmou que os grãos de milho, mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, são protegidos pelo pericarpo, o qual é muito resistente à degradação microbiana e digestão enzimática no intestino delgado devido à proteção parcial pelo pericarpo e a matriz proteica que envolve os grânulos de amido dificultando o acesso de enzimas microbianas. Assim acreditamos que reconstituição associada a uma moagem grosseira dos grãos de milho podem trazer benefícios no sentido de facilitar o acesso das enzimas microbianas aos grânulos de amido.

Em outras ocasiões específicas, o processo de reconstituição pode apresentar benefícios. Nas propriedades rurais podem ocorrer graves problemas de infraestrutura e armazenagem local, acarretando em significativas perdas qualitativas e quantitativas. Esta situação pode ser revertida com o reumedecimento de grãos secos e confecção de silagem de grãos úmidos obtendo-se um sistema de armazenamento mais duradouro e seguro da safra, além da disponibilização de um alimento de elevada qualidade para os animais.

Outro ponto importante associado ao processamento do milho é que o milho tem participado normalmente com 70 a 80% da composição total da ração, sendo este normalmente moído a 1 mm. Estima-se que 3% de toda a energia consumida no mundo seja gasta para a redução do tamanho de partículas, incluindo minérios e insumos para as indústrias química, farmacêutica e alimentícia (TAVARES, 2001). Desse modo, apesar da moagem proporcionar uma mistura homogênea dos ingredientes, facilitar o processo de digestão e melhorar a qualidade final dos produtos, também é responsável por uma grande parcela do custo de produção das rações.

Healy et al. (1994) estudaram a influência da redução do tamanho da partícula na produtividade e consumo de energia. Os resultados demonstraram que a energia elétrica gasta para a moagem do grão de milho a 900 mm foi de 5,3 kWh/t, com uma produção de 1,76 t/h. Com a redução do tamanho da partícula para 300 mm ocorreu aumento no consumo de energia elétrica para 24,5 kWh/t e uma redução na produção de ração para 0,65 t/h.

Esses resultados demonstraram a necessidade de aperfeiçoar a moagem de forma a maximizar o aproveitamento do alimento e racionalizar o uso da energia. Assim a reconstituição de grãos de milho moídos grosseiramente, pode auxiliar no processo de digestão e ao mesmo tempo causar reduções significativas de consumo de energia para moagem dos grãos.

Outro objetivo da reconstituição dos grãos de milho seria para armazenamento. Na situação de armazenagem de milho seco é comum o aparecimento de vários insetos e mesmo de ratos, acarretando prejuízos em relação a qualidade do grão. Normalmente esses insetos não são

detectados na silagem de grãos úmidos em razão da falta de oxigênio e da própria acidez do meio.

A composição química da silagem de grãos úmidos de milho pode variar em função do teor de umidade no momento da ensilagem sendo que teores acima de 35% favorecem as perdas de MS, podendo alterar significativamente os conteúdos de nitrogênio e de carboidratos solúveis. Os estudos (PHILIPPEAU, 1999) com silagem de grãos úmidos de milho têm constatado que há aumento na digestibilidade da matéria orgânica, devido ao aumento na digestão do amido, principal componente do grão.

A maior digestibilidade do amido dos grãos ensilados deve-se, sobretudo, a fragilização da matriz protéica que recobre os grãos de amido do endosperma periférico (DEMARQUILLY e ANDRIEU, 1996). Além disto, o endosperma dos cereais, em especial a região periférica, é cercado por uma parede celular rica em compostos β -glucanos que prejudica a atividade microbiana; e também a matriz protéica que envolve os grânulos de amido dificulta a atividade das amilases, visto que deve ocorrer uma proteólise simultânea, para que as bactérias possam utilizar o amido. Desta forma, quando o pericarpo é separado no caso da moagem grosseira, as características da matriz protéica e do endosperma do grão irão determinar a taxa de adesão e fermentação do amido pelas bactérias ruminais (KOTARSKI et al., 1992, McALLISTER et al., 1993a).

O amido pode sofrer gelatinização (rompimento dos grãos de amido) mediante aplicação de calor e de umidade, porém o custo para utilização de água quente tornaria o processo inviável. Segundo Simas (1997), o grau de gelatinização vai determinar a susceptibilidade do amido à degradação enzimática. Segundo Owens e Goetsch (1988), o amido quando submetido à água quente (60 a 80°C) se expande de forma irreversível (gelatinização). Com a gelatinização ocorre o rompimento da matriz protéica e das estruturas dos grânulos de amido, com conseqüente solubilização da matriz protéica. Este fenômeno melhora a digestão enzimática do amido.

Embora a gelatinização do amido pelo aquecimento possa favorecer a sua digestibilidade, é possível que isso dificilmente ocorrerá em condições normais de ensilagem dos grãos de milho ou simplesmente moagem seguida de reconstituição. Segundo Colonna et al. (1995), a gelatinização do

amido do milho começa à temperatura de 62°C e termina em 72°C, temperaturas que não são atingidas nem durante a ensilagem nem durante a armazenagem para reconstituição e os benefícios deste processo se resumem naqueles mostrados acima.

Com base nas informações relatadas, a hipótese considerada neste trabalho é que reconstituição da umidade associada à moagem grosseira do grão de milho poderá aumentar a utilização do amido e melhorar o desempenho e os parâmetros metabólicos de vacas de leite.

2.5. Referências bibliográficas

- AHMED, F.A., TOPPS, J.H. and DEMPSTER, D.G. The digestibility by Friesian steers of dry and acid-treated moist barley offered either whole or rolled in diets containing roughage. **Anim. Prod.** 17: 157-162. 1973.
- BALCH, C.C. Factors affecting the utilisation of food by dairy cows, 1. The rate of passage of food through the digestive tract. **British Journal of Nutrition.** 4: 361-388. 1950.
- BENEDÍ, J. M. H. **Manual de nutrición y alimentación del ganado.** Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid. 3 ed. Servicio de Extensión Agrária, p 495. 1989.
- BEAUACHEMIN, K. A.; McALLISTER, T.A.; DONG, Y.; FARR, B.I.; CHENG, K.J. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 236 - 246, 1994.
- BROADBENT, P.J. The utilisation of whole or bruised barley grain of different moisture contents given to beef cattle as a supplement to a forage-based diet. **Anim. Prod.** 23:165-171. 1976.
- BULÉON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.
- CLARK, R. G., Y. J. HU, M. F. HYNES, R. K. SALMON, and K-J. CHENG. Cloning and expression of an amylase gene from *Streptococcus bovis* in *Escherichia coli*. **Archives Microbiology.** 157:201-204. 1992.
- CHANDRASEKHER, G. E KIRLEIS, A.W. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum, **American Association of Cereal Chemistry.**, 65:457-462. 1988.
- CHESSON, A. and FORSBERG, C. W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson, P.N. (Ed.). **The rumen microbial system.** London: Elsevier Applied Science, p. 251 - 283. 1988.
- COLEMAN, G. S. The metabolism of rumen ciliate protozoa. **FEMS Microbiol. Letters.** 39:321-344. 1986.
- COLONNA, P., BULEON, A.; LELOUP, V.; et al. Constituantes des céréales, des graines, des fruits et de leurs sous-produits. In: Jarrige et al. (1995). **Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion.** Editions INRA, Paris,1995. Chapitre 3, p; 83 - 122, 1995. 921p.
- CONE, J. W. Degradation of starch in feed concentrates by enzymes, rumen fluid and rumen enzymes. **Journal of Science Food Agricultural.** 54:23-34. 1991.

- COTTA, M. A. Amylolytic activity of selected species of ruminal bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 54:772-776. 1988.
- COTTA, M. A., and T. R. WHITEHEAD. Regulation and cloning of the gene encoding amylase activity of the ruminal bacterium *Streptococcus bovis*. **Appl. Environ. Microbiol.** 59:189-196. 1993.
- DEMARQUILLY, C.; ANDRIEU, J. Quelques rappels sur les mesures effectuees pour connaitre la valeur nutritive des ensilages de maïs. In: **Colloque maïs ensilage**, 1996. Nantes-France, p. 23 - 33, Nantes, 1996.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria. 2008.
- ENSMINGER, M. E; OLDFIELD, J. E; HEINEMANN, W. W. Feed processing. In: **Feeds & nutrition**. 2 ed. The ensminger publishing company, Cap 14, p 527-552. 1990.
- FAICHNEY, G. J., C. PONCET, B. LASSALAS, J. P. JOUANY, L. MILLET, J. DORE, and A. G. BROWNLEE. Effect of concentrates in a hay diet on the contribution of anaerobic fungi, protozoa and bacteria to nitrogen in rumen and duodenal digesta of sheep. **Animal Feed Science and Technology**. 64:193-213. 1997.
- FIRKINS, J.L., M.L. EASTRIDGE, N.R. ST-PIERRE, AND S.M. NOFTSGER. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**. E218-E238. 2001.
- FLINT, H.J.; FORSBERG, C.W. Polysaccharide degradation in the rumen: Biochemistry and genetics. In: ENGELHARDT, W.W.; LEONHARD-MAREK, S.; BREVES, G. et al. (Eds.). **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction**. Stuttgart: Enke., p.43-70, 1995.
- FONDEVILA, M., and B. A. DEHORITY. In vitro growth and starch digestion by *Entodinium exiguum* as influenced by the presence or absence of live bacteria. **Journal of Animal Science**. p79. 2001.
- GUILBOT, A.; MERCIER, C. **Starch in the polysaccharides**. Orlando: Academic Press, 121 p. 1985.
- HALE, W.H. Influence of processing on the utilisation of grains (starch) by ruminants. **Journal of Animal Science**. p37. 1973.
- HARMON, D. L., and K. R. MCLEOD. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: Implications and whole-body energetics. **Journal of Animal Science**. p. 79. 2001.

- HARMON, D. L., and K. R. MCLEOD. Factors influencing assimilation of dietary starch in beef cattle. Plains Nutrition Council Spring Conference. **Pub. No. 05-20. Texas A&M University**, Amarillo. p. 69-89. 2005.
- HEALY, B.J. et al. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2227-2236, 1994.
- HOSENEY, R.C.; DAVIS, A.B. E HARBERS, L.H. Pericarp and endosperm structure of sorghum grain shown by scanning electron microscopy, **American Association of Cereal Chemistry**., 51:552-558.1974.
- HOSENEY, R.C. Minor constituents of cereals. In: HOSENEY, R.C. Principles of cereal science and technology. 2nd ed. St Paul: **American Association of Cereal Chemistry**. 1994.
- HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v.75, p.852-867, 1997.
- JOBIM, C. C. **Avaliação das características microbiológicas, químicas e digestibilidade das silagens de grãos úmidos e de espiga de milho**. Tese (Doutorado e Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.
- JOUANY, J. P., and K. USHIDA. The role of protozoa in feed digestion – review. **Asian Australasian Journal of Animal Science**. 12:113-128. 1999.
- KOTARSKI, S.F., WANISHA, R.D., THUR, K.K. Starch hydrolysis by ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, 122:178-190, 1992.
- MACLEOD, N.A., MACDEARMID, A. and KAY, M. A note on the use of field beans (*Vicia (aba)*) for growing cattle. **Anim. Prod.** 14: 111-113. 1972.
- McALLISTER, T. A., and K.-J. CHENG. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. **Animal Feed Science and Technology**. 62:29-36. 1996.
- McALLISTER, T. A., R. C. PHILLIPPE, L. M. RODE, and K.-J. CHENG. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science** 71:205-212. 1993a.
- McALLISTER, T.A.; RODE, L.M.; MAJOR, D.J. CHUNG, K.J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 3004 - 3012, 1994.
- MENDOZA, G. D., R. A. BRITTON, and R. A. STOCK. Effect of feeding mixtures of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum on ruminal fermentation and starch digestion. **Small Ruminant Research**. 32:113-118. 1999.

- NAGARAJA, T. G., G. TOWNE, and A. A. BEHARKA. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet. **Appl. Environ. Microbiol.** 58:2410-2414. 1992.
- NOCEK, J.E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, p. 3598-3629, 1991.
- OATES, C.G. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p.375-382, 1997.
- OWENS, F. N. Ruminal fermentation. Page 564 in **The ruminant animal: Digestive physiology and nutrition**. 1 ed. D. C. Church, ed. Waveland Press, Inc., Prospect Heights, Illinois. 1988.
- OWENS, F.N., GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: O. & Books Inc. p.146-171. 1988.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science**. V.75, p.868-879, 1997.
- OWENS, F. N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal Animal Science**. V.63, p.1634-48, 1986.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A. Corn grain for cattle: influence of processing on site and extent of digestion. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**, p.86-112, 2005.
- PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Circular Técnica**, Embrapa Milho e Sorgo. 2006
- PHILIPPEAU, C. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain, **Journal of Animal Science**. 77:238, 1999.
- PHILIPPEAU, C., J. LANDRY, and B. MICHALET-DOREAU. Influence of protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal of Science Food Agricultural**. 80:404-408. 2000.
- PHILIPPEAU, C., and B. MICHALET-DOREAU. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch digestion. **Animal Feed Science and Technology**. 68:25-35. 1997.

- ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R.L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1607 - 1617, 1986.
- RUSSELL, J. B., M. A. COTTA, and D. B. DOMBROWSKI. Rumen bacterial competition in continuous culture: *Streptococcus bovis* versus *Megasphaera elsdenii*. **Appl. Environ. Microbiol.** 41:1394-1399. 1981a.
- SATOH, E., Y. NIIMURA, T. UCHIMURA, M. KOZAKI, and K. KOMAGATA. Molecular cloning and expression of two alphaamylase genes from *Streptococcus bovis* 148 in *Escherichia coli*. **Appl. Environ. Microbiol.** 59:3669-3673. 1993.
- SEKINGER, H.L. E WOLF, M.J. Sorghum protein ultrastructure as it relates composition, **American Association of Cereal Chemistry.** 50:455-465. 1973.
- SIMAS, J.M. Processamento de grãos para rações de vacas leiteiras. In: Anais... Simpósio Sobre Produção Animal, 9, Piracicaba, FEALQ, 1997. p. 7-32. 1996.
- SLYTER, L. L. Influence of acidosis in rumen function. **Journal of Animal Science.** 43: 910-929. 1976.
- SNIFFEN, C.J.; ROBINSON, P.H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 425 – 434, 1987.
- TAVARES, L.M. Um método para o cálculo da eficiência energética de moinhos industriais. **Revista Matéria. Periódico científico virtual da área de materiais.** 2001. Disponível em :<www.materia.coppe.ufrj.br>. Acesso em 1 de agosto de 2009.
- THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science.** V.63, p.1649-62, 1986.
- THEURER, C.B.; LOZANO, O.; ALIO, A.; DELGADO-ELORDUY, A.; SADIK, M.; HUBER, J.T.; ZINN, R.A. Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. **Journal Animal Science.** V.77, p.2824-31, 1999.
- USHIDA, K., J. P. JOUANY, and D. I. DEMEYER. Effects of presence or absence of rumen protozoa on the efficiency of utilisation of concentrate and fibrous feeds. Pages 625-654 in **Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants.** T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima (Eds). Academic Press, Tokyo. 1991.

- VANDEPUTTE, G.E.; DELCOUR, J.A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.245-266, 2004.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p, 1994.
- WILSON, G.F., ADEEB, N.N. and CARNPLING , R.C. The apparent digestibility of maize grain when given in various physical forms to adult sheep and cattle. **Journal of Agricultural Science**. 80: 259-267. 1973.
- ZHANG, G., Z. A. ZHANG, and B. R. HAMAKER. Slow digestion property of native cereal starches. **Biomacromolecules** 7:3252-3258. 2006.
- ZINN, R. A. Influence of steam-processing of corn, sorghum, barley and oats on nutrient utilization in cattle. In: **Simpósio Internacional de Ruminantes**, Lavras-MG. Anais... Lavras, 1992, p146-187. 1992.
- ZINN, R. A.; OWENS, F. N.; WARE, R. A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.80, p. 1145-1156, 2002.

3. CAPÍTULO 1

Estudo das características do amido do grão de milho reconstituído e moído grosseiramente

3.1. INTRODUÇÃO

O grão de milho pode ser classificado segundo sua dureza (PAES, 2006). O endosperma do grão (região em que localizam os grânulos de amido) se divide em duas partes de composição semelhante no que diz respeito ao teor de proteína e amido, mas totalmente distintas sob o ponto de vista de sua estrutura física, podendo ser vítreo ou farináceo. O endosperma representa aproximadamente 83% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido (88%), organizado na forma de grânulos (PAES, 2006). No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (8%) do tipo prolaminas, chamadas zeínas. Essas proteínas formam os corpos protéicos que compõem a matriz que envolve os grânulos de amido dentro das células no endosperma em qualquer cereal. Com base na distribuição dos grânulos de amido e da matriz de proteína, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo.

No endosperma farináceo os grânulos de amido são arredondados e dispersos, não havendo matriz protéica circundando essas estruturas, o que resulta em espaços vagos durante o processo de secagem do grão, a partir dos espaços onde antes era ocupado pela água, durante o desenvolvimento do grão. Já no endosperma vítreo, a matriz protéica é densa, com corpos proteicos bem formados, circundando os grânulos de amido e não permitindo espaços entre estas estruturas (DENARDIN e SILVA, 2008). Esses mesmos corpos proteicos tornam o grânulo de amido resistente a hidrólise por enzimas microbianas, além de dificultar penetração de água no grânulo de amido.

O gérmen representa 11% do grão de milho e concentra quase a totalidade (83%) dos lipídeos (óleo e vitamina E) e dos minerais (78%) do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%). O pericarpo representa, em média, 5% do grão, sendo a

estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos. A ponta é a menor estrutura, 2% do grão, e é responsável pela conexão do grão ao sabugo, sendo a única área do grão não coberta pelo pericarpo. Sua composição é essencialmente de material lignocelulósico.

O pericarpo e a matriz proteica que envolve os grânulos de amido no endosperma vítreo consistem nas duas principais barreiras ao ataque microbiano, sendo que a maioria dos processamentos tem como objetivo eliminar essas barreiras primárias. Assim, o processamento do milho serve para expor os grânulos de amido à digestão (BEAUCHEMIN et al., 1994), formando fissuras, quebrando, ou expandindo o amido, por meio da eliminação da película externa do grão, o pericarpo, que constitui uma barreira física que dificulta o acesso dos microrganismos e a ação das enzimas digestivas microbianas e do animal (KOTARSKI et al., 1992).

Considerando que a umidade pode facilitar a ação enzimática microbiana, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos da reconstituição associada a moagem grosseira dos grãos de milho sobre as características macroscópicas e microscópicas dos grãos, bem como a disponibilidade do amido a ação enzimática.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Tratamentos

Os tratamentos foram compostos pela combinação de diferentes formas de processamento do milho tipo duro, sendo:

- 1: MMF - Milho moído fino (1mm);
- 2: MRA - Milho reconstituído antes da moagem (5 mm);
- 3: MRD - Milho reconstituído depois da moagem (5 mm).

No caso dos tratamentos envolvendo a reconstituição, objetivou-se elevar o teor de umidade a 33%. Os procedimentos foram baseados na equação, adaptada de Ferreira (1983):

$$\Delta H_2O = \left[MU * \frac{(Uf - Ui)}{100 - Ui} \right] / \rho$$

onde: ΔH_2O = Volume de água a ser adicionado (litros); MU = Massa do produto úmido (kg); Uf = Umidade final (% base úmida); Ui = Umidade inicial (% base úmida); ρ = Massa específica da água (kg/L).

- MRD = milho duro - moído a 5 mm >>> Adição de água seguido de período de descanso por 24 horas
- MRA = milho duro - grão reconstituído >>> Adição de água seguido de período de descanso por 24 horas >>> moagem a 5 mm

3.2.2. Caracterização do perfil granulométrico do milho reconstituído

A determinação do perfil granulométrico das partículas do milho processado foi feito com o uso de peneiras padronizadas, optando-se pelas peneiras com abertura de 4,76 mm; 2,38 mm; 1,19 mm; 0,70 mm e 0,297 mm, além de bandeja inferior com a finalidade de recolher as partículas menores do que 0,297 mm.

Tabela 1 - Relação de malha, abertura e espessura dos fios das peneiras padronizadas pela norma ISO – 3310/1

Malha	Abertura (mm)	Tolerância	Diâmetro do fio	Tolerância
4	4,76	4,60 a 4,90	1,6mm	1,3 a 1,9
8	2,38	2,28 a 2,44	1,0mm	0,85 a 1,15
16	1,19	1,14 a 1,22	0,63mm	0,54 a 0,72
18	1,0	0,97 a 1,03	0,56mm	0,48 a 0,64
25	0,71	0,685 a 0,735	0,45mm	0,38 a 0,52
50	0,297	0,288 a 0,312	0,20mm	0,17 a 0,23

As amostras foram pesadas em porções de 140 g e dispensadas nas peneiras, essas foram movimentadas por agitador mecânico modelo Produtest® em intensidade máxima, durante um minuto, segundo Felisberto (2011). Ao final da agitação o material retido em cada peneira foi pesado em balança digital de precisão com duas casas decimais.

O peso do material retido em cada peneira foi então expresso como percentual do peso total de amostra avaliada, enquanto o peso de material considerado fisicamente efetivo foi o percentual do peso total retido em peneiras com abertura maior que de 1,19 mm.

3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura dos grânulos de amido do milho reconstituído

A análise microscópica dos grânulos de amido é de grande importância para uma melhor compreensão dos efeitos do processamento sobre os grãos de milho. A microscopia eletrônica foi utilizada para estudar as características de forma, tamanho dos grânulos, e distribuição do amido.

Assim, amostras de MRA, MRD e MMF foram secas em estufa a 105 °C e preparados para observação em microscopia eletrônica de varredura.

Devido ao fato das amostras já estarem secas não foi necessário a fixação com glutaraldeído e paraformaldeído, em tampão fosfato (KARNOVSKY, 1965). Assim, as amostras foram cobertas com ouro em metalizador (FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein). A captura de imagens foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura com

câmera digital acoplada (Zeiss, LEO 1430 VP), localizado no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

3.2.4. Avaliação da digestão enzimática pela α -amilase sobre os grânulos de amido do milho reconstituído

Dependendo da localização relativa da ligação sob ação da enzima, como contados a partir da extremidade da cadeia, os produtos deste processo digestivo são dextrina, maltotriose, maltose, e glicose. Dextrinas são mais curtos, os segmentos de amido quebrados que formam, como resultado da hidrólise aleatória de ligações glicosídicas. Uma molécula de maltotriose é formada, se o terceiro laço da extremidade de uma molécula de amido é clivado; uma molécula de maltose é formada se o ponto de hidrólise é a segunda ligação; uma molécula de glicose resulta se a ligação clivado é o terminal um e assim por diante. As fases finais da despolimerização são principalmente a formação de mono, di e tri-sacarídeos. Este processo é chamado de sacarificação, devido à formação de sacarídeos.

Para verificar possível alteração na velocidade do processo de digestão pela enzima α -amilase causada pelos processamentos foi realizado um ensaio seguindo o protocolo de determinação de amido conforme a metodologia proposta por Bach Knudsen (1997), com modificações no tempo de atuação da α -amilase.

As determinações de amido no MMF, MRA, MRD e silagem de milho foram feitas colocando-se em tubos de ensaio de 40 mL, aproximadamente 0,20 g de amostra. Nos tubos previamente pesados foram dispensados 30 mL de solução tampão de acetato de sódio ($\text{pH} = 5,00 \pm 0,05$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e adicionada 50 μL da enzima α -amilase (Novozymes, Termamyl 2x). Todos os tubos de ensaio foram homogeneizados em agitador e posteriormente, incubados em banho-maria a 100°C por 0, 15, 30, 45 e 60 minutos, com homogeneização de todos os tubos em cada tempo de retirada. A cada retirada do banho-maria era esperado que os tubos atingissem a temperatura ambiente. A partir daí foi adicionado 1 mL da solução contendo 100 unidades da enzima amyloglucosidase por mL (Megazyme, E-AMGDF).

Os tubos foram novamente agitados e colocados em banho-maria a 60°C, permanecendo durante 2 horas, sendo agitados após 1 hora de incubação. Após as 2 horas, os tubos foram colocados na bancada até atingirem temperatura ambiente. Posteriormente os mesmos foram pesados (para correção do volume) e a solução transferida para tubos de 50 mL, centrifugados a 2.060 g por 10 minutos a uma temperatura de 10°C. Em seguida utilizou-se 10 µL de cada tubo centrifugado para reagir com 1 mL de uma solução estável de um kit comercial de glicose GOD PAP (Laborlab, 06400), numa diluição de 1:100. Após 15 minutos de reação a 23°C, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (Shimadzu, UV – 1601 PC) a 505 nm. O conteúdo de amido foi calculado multiplicando o resultado final de glicose por 0,9 (para converter glicose livre em amido), e apresentado como porcentagem da matéria seca.

Para cada reação foi feita uma curva padrão com solução de glicose padrão. Para cada ensaio foram utilizados duas amostras padrões (amido puro e fubá de milho) e um branco.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na tabela 2 que a maior parte do material fluiu pela peneira de 4,76 mm indicando que o processo de moagem foi eficiente. Observa-se também que independente do processamento efetuado, aproximadamente 50% das partículas foram retidas em peneiras de 1,19 mm, tamanho este considerado crítico para a elegibilidade de escape do compartimento rúmen-retículo. O tamanho de partícula teve influência sobre o porcentual retido nas peneiras de 1,19mm, sendo em média 54,35% para o milho processado a 5 mm.

Tabela 2 - Determinação do perfil granulométrico das partículas do milho processado utilizado nos três períodos experimentais expresso em percentual acumulado nas peneiras

Abertura (mm)	ALIMENTO					
	MRA 1º PER	MRA 2º PER	MRA 3º PER	MRD 1º PER	MRD 2º PER	MRD 3º PER
4,76	1,25	1,00	0,66	0,42	0,51	0,39
2,38	36,08	37,54	26,00	36,15	41,00	38,26
1,19	51,10	47,04	54,33	62,46	61,46	49,69
1	72,59	74,17	66,93	83,10	87,12	84,80
0,71	80,50	82,49	76,60	92,40	94,29	92,48
0,297	91,61	92,99	88,95	98,48	98,70	98,27
Fundo	100	100	100	100	100	100
EF	0,51	0,47	0,54	0,62	0,61	0,50
DGM	1,23	1,23	1,11	1,30	1,38	1,30
DPG	3,31	3,35	3,13	3,71	3,82	3,63

MRA = Milho reconstituído antes da moagem (5 mm); MRD = Milho reconstituído depois da moagem (5 mm); EF = Efetividade física; DGM = Diâmetro geométrico médio; DPG = Desvio padrão geométrico.

No caso de dietas com alta concentração de energia e/ou secas, contendo volumosos com fibra de baixa qualidade como feno de algumas forrageiras ou bagaço de cana cru, pode ocorrer segregação da dieta com a moagem fina. A moagem mais grosseira com mais da metade das partículas acima de 1,19 mm aumenta a retenção do milho no rúmen e reduz a velocidade da fermentação, em relação à moagem fina. Embora uma parte escape e seja eliminada via fezes, porém ocorre maior prevenção da acidose ruminal subclínica.

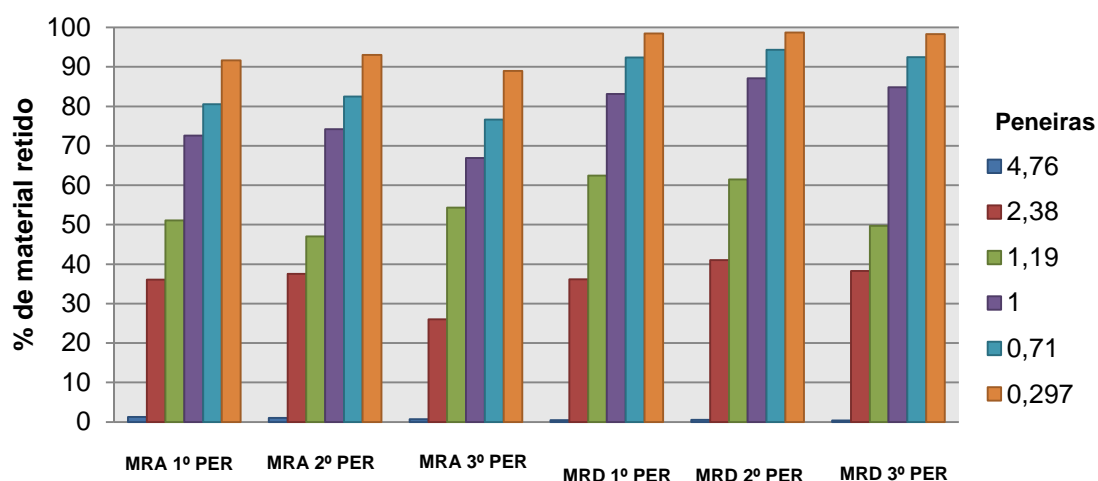


Gráfico 1 - Porcentual de partículas retidas nas peneiras.

Pode ser verificado no gráfico 2 que o MRD apresentou uma leve aumento (57,87%) no número de partículas com tamanho maior que 1,19mm, contra (50,83%) do MRA. Isso se deve a grande mudança física que ocorre durante o processamento. Como dito anteriormente, Jobim (1996) afirmou que os grãos de milho, mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, são protegidos pelo pericarpo. Assim, no MRD o pericarpo continuou aderido as partículas de milho durante a moagem, consequentemente este foi reduzido a partículas maiores.

A proteção pelo pericarpo foi parcialmente comprovada neste estudo, onde no milho reconstituído como grão integral por 24 h, seguido de moagem grosseira a 5 mm, ocorreu a liberação de todo o pericarpo (Figura 1, letra C). Este constitui-se na principal barreira primária a colonização microbiana e ação enzimática. Assim a menor porcentagem do MRA na peneira de 1,19 mm se deve a parte das partículas de pericarpo retidas neste diâmetro de furo, como observado durante o peneiramento.

Por outro lado, quando os grãos de milho foram inicialmente moídos grosseiramente e em seguida passaram pelo processo de reconstituição, não ocorreu a liberação do pericarpo (Figura 1, letra B).



Figura 1 - A - Milho moído fino (1mm); B - Milho reconstituído depois da moagem (5mm) e C - Milho reconstituído antes da moagem (5 mm).

Foi observada uma pequena elevação da temperatura das partículas de milho durante o processo de reconstituição do MRD, provavelmente devido a um início de fermentação.

Com a elevação da temperatura pode ocorrer uma liberação do amido preso a matriz proteica, processo denominado gelatinização. Embora a gelatinização do amido pelo aquecimento possa favorecer a digestibilidade do milho, é pouco provável que isso ocorra com a moagem seguida de reconstituição. Segundo Colonna et al. (1995), a gelatinização do amido do milho começa à temperatura de 62°C e termina em 72° C, temperaturas que não são atingidas nem durante a ensilagem nem durante a armazenagem para reconstituição e os benefícios deste processo se resumem naqueles mostrados acima.

No nosso estudo, ocorreram alterações na estrutura física macroscópica e microscópica do milho, porém verificou-se que as alterações microscópicas não ocorreram devido ao processamento. As imagens obtidas para o milho processado utilizado no experimento são apresentadas a seguir.

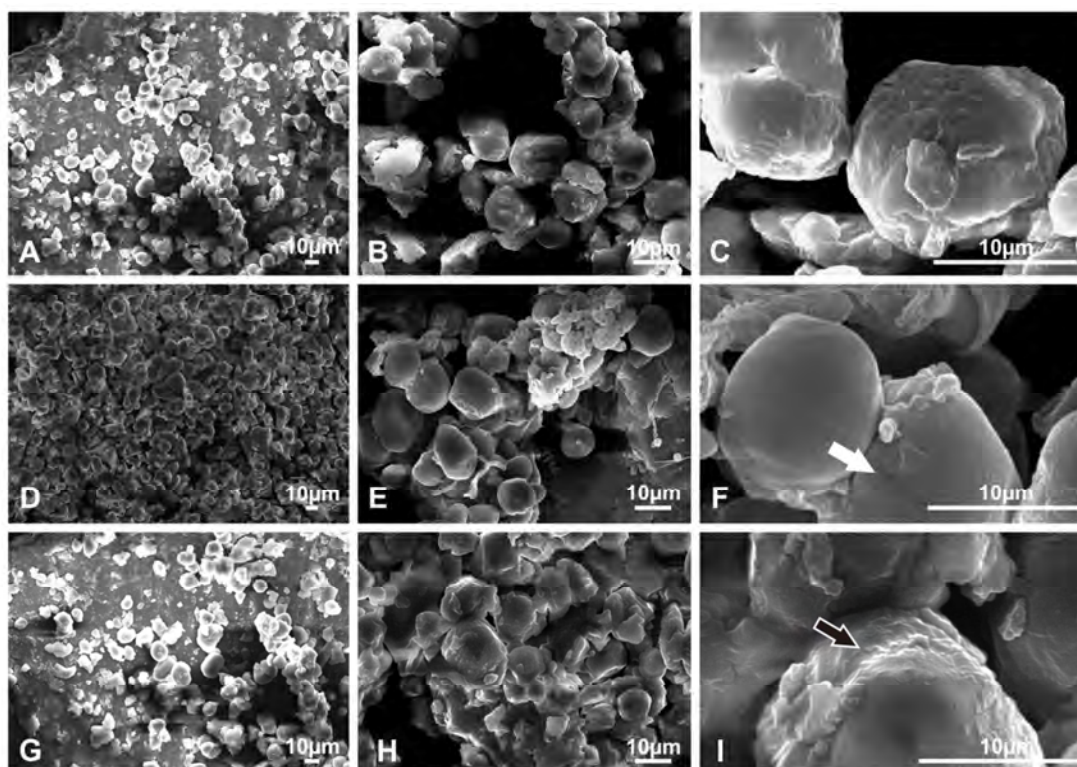


Figura 2 - Fotomicrografia eletrônica do milho processado. A, B e C - Milho reconstituído antes da moagem (5 mm); D, E e F - Milho moído fino (1mm) e G, H e I - Milho reconstituído depois da moagem (5mm).

O amido do milho apresentou uma mistura de grânulos de diversos tamanhos predominantemente arredondados. O tamanho e a forma dos grânulos de amido estão em acordo com as características previamente conhecidas. Nota-se que nos tratamentos envolvendo a reconstituição (Figura 2, letra A, B, C e G, H, I), os grânulos se encontram mais espaçados e com a superfície mais irregular, provavelmente devido ao espaço ocupado pela água antes do processo de secagem para preparação das amostras.

A técnica foi adequada para detectar irregularidades de superfície e fissuras visíveis sobre os grânulos mostrados pela seta branca na Figura 2, letra F. A superfície dos grânulos se mostra plana e sem traços marcantes, exceto por algumas estrias em alguns grânulos (seta preta na Figura 2, letra I), seguindo a base para os modelos atuais proposta por Oates (1997), descrita como uma “bola de bilhar peluda”, em que a superfície do grânulo não é lisa, mas caracterizada por cadeias projetadas para fora. Os tratamentos envolvendo a reconstituição não causaram alterações que possam melhorar o acesso dos microrganismos ao amido no interior do

grânulo, como por exemplo, o rompimento da matriz proteica que envolve os grânulos de amido.

A organização anatômica peculiar do grânulo intacto impede a entrada de água fria. Esta restrição anatômica se deve a disposição paralela das macromoléculas de cadeia longa, caracterizadas por ligações de hidrogênio. Acreditamos que após a secagem o grânulo encolhe, até voltar ao estado completamente anidro causado então por um estado de contração completa, originando então os espaços observados nos tratamentos envolvendo a reconstituição.

Atualmente, a morfologia e a visualização de componentes secundários da superfície de alguns grânulos de amido têm sido realizadas por meio de microscopia de força atômica (AFM – atomic force microscopy) (BULEÓN et al., 1998).

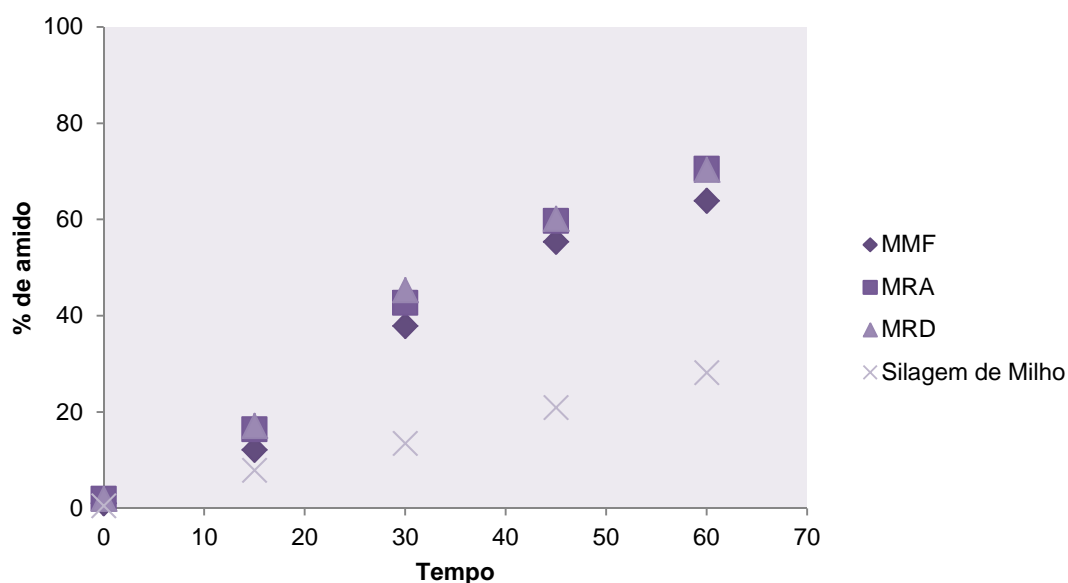


Gráfico 2 - Efeito do processamento na digestão do amido de grãos de milho pela enzima α -amilase. MMF = Milho Moído Fino (1 mm); MRA = Milho reconstituído antes da moagem (5 mm); MRD = Milho reconstituído depois da moagem (5 mm) e Silagem de Milho.

A quantidade de amido medido ao longo do tempo foi igual para o milho reconstituído (MRA e MRD) e o milho não reconstituído (MMF). As curvas acima confirmam o fato de que o amido é geralmente insolúvel em água à temperatura ambiente. Devido a isso, o amido na natureza é

armazenado em células como pequenos grânulos que podem ser visualizadas com auxílio de microscópio, como apresentadas no item 3.3 deste capítulo.

Grânulos de amido parecem ser bastante resistentes à penetração por água e enzimas hidrolíticas, pois de acordo com a Figura 3, a umidade não causa a ação mais rápida da α -amilase. Segundo Denardin e Silva, 2008 ocorrem pontes de hidrogênio dentro de uma mesma molécula de amilose e com outras moléculas vizinhas. No entanto, estas ligações podem tornar-se fracas quando a temperatura da suspensão é elevada. Porém isso não ocorreu significativamente nos processamentos utilizados neste trabalho, assim não verificou-se grandes diferenças com relação a quantidade de amido liberado ao longo do tempo. Menores valores foram observados naturalmente para a silagem de milho devido ao menor teor de amido deste alimento.

Quando uma suspensão aquosa de amido é aquecida, as pontes de hidrogênio enfraquecem, a água é absorvida, e os grânulos de amido incham. Este processo é normalmente chamado de gelatinização, porque a solução formada tem uma consistência gelatinosa e altamente viscosa.

Segundo French (1984), a porosidade dos grânulos de amido à água e a pequenas moléculas solúveis ocorre devido à expansão reversível das regiões amorfas, que penetram por todo o grânulo durante a hidratação, formando uma fase contínua de gel. No entanto, a entrada de enzimas hidrolizantes e outras moléculas grandes para o interior dos grânulos é restrita e somente possível através de poros ou canais. Esses poros, na superfície de alguns grânulos, são orifícios ou canais que penetram em uma direção radial ao longo do grânulo.

Estudos de microscopia eletrônica sugerem orifícios com diâmetros entre 0,1 e 0,3 μm , enquanto canais interiores teriam entre 0,07 e 0,1 μm (ELIASSON, 1996; ELIASSON, 2004). Porém, mais estudos devem ser realizados para comprovar a existência desses poros e canais em todas as fontes de amido, pois neste trabalho não foi visualizado nenhuma evidência de poros na superfície dos grânulos, Lan et al., 2008 também não verificaram a existência dos mesmos.

3.4. CONCLUSÕES

A reconstituição feita antes da moagem a 5 mm promove a liberação da maior parte do pericarpo aderido ao grão de milho. Microscopicamente, a reconstituição não altera a estrutura dos grânulos de amido sendo que algumas alterações podem ser devido a preparação das amostras para visualização. A quantidade de amido liberado pela ação enzimática também não é afetada quando o grão de milho é reconstituído.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACH KNUDSEN, K.E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 67, p. 319-338, 1997.
- BULÉON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85-112, 1998.
- COLONNA, P., BULEON, A.; LELOUP, V.; et al. Constituantes des céréales, des graines, des fruits et de leurs sous-produits. In: Jarrige et al. (1995). **Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion**. Editions INRA, Paris., p; 83 - 122,1995.
- ELIASSON, A.C. Carbohydrates in food. New York: Marcel Dekker, 664p. 1996.
- ELIASSON, A.C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 605p. 2004.
- FELISBERTO, N. R. O. Tamanho da partícula da forragem em dietas de cabras leiteiras. Viçosa: UFV, 2011. 120p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- FERREIRA, W. A. Armazenamento de grãos de cereais. In: **Manual de armazenamento e embalagem de produtos agropecuários**. CEREDA. M. P.; SANCHES, L. (Eds). FEPAF. UNESP. Botucatu. p. 96-128, 1983.
- FRENCH, D. Organization of starch granule. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHAL, E. F. **Starch: chemistry and Tecnology**. 2. ed. London: Academic Press, p. 183-247. 1984.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Jounal of Cell Biology** 27:137-138. 1965.
- LAN, H. et al. Impact of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of normal, waxy and high amylose bread wheat starches. **Food Chemistry**, v.111, p.663-675, 2008.
- OATES, C.G. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p.375-382, 1997.
- STARK, J.R.; LYNN, A. Biochemistry of plant polysaccharides: starch granules large and small. **Biochemical Society Transactions**, v.20, p.7-12, 1992.

4. CAPÍTULO 2

Desempenho produtivo e cinética digestiva de nutrientes em vacas alimentadas com grãos de milho reconstituído

4.1. INTRODUÇÃO

Dietas com milho moído fino são mais comumente utilizadas na alimentação de ruminantes no Brasil, porém grande atenção deve ser dada ao nível de utilização de concentrado, pois efeitos adversos podem ocorrer devido a rápida taxa de fermentação ruminal. Podem ocorrer perdas de energia com o calor de fermentação (MELLO Jr., 1991), o que segundo Orskov (1986), se dá principalmente na forma de calor e gases, o que totalizam de 12 a 20% da energia ingerida. A eficiência de aproveitamento energético do amido digerido no rúmen pode ser melhorada se a fermentação ruminal for controlada.

A reconstituição consiste em elevar a umidade dos grãos de milho para um teor de umidade próximo ao teor de umidade ideal para ensilagem, ou seja, próximo de 33 %. Associada a reconstituição pode ser efetuada a moagem grosseira para que ocorra uma melhoria nos padrões de fermentação ruminal, além de considerável economia de energia com o processo de moagem (HEALY et al. 1994).

O processamento de grãos pode afetar a digestibilidade e a taxa de digestão do amido dos grãos de milho, bem como o consumo de forragem. É considerado que todos os tipos de processamento potencialmente são úteis na melhoria da conversão alimentar. Quando o processamento de grãos não é necessário, pode ocorrer um desperdício de energia, possivelmente prejuízos, como por exemplo: aumento no grau de moagem levando a um excesso de produção de ácidos orgânicos no rúmen e deprimindo o consumo de forragem (ORSKOV, 1979, 1986).

Grãos de milho podem ser colhidos no tempo convencional como grãos secos ou antecipadamente com alto teor de umidade, o que pode ser armazenado quer por via anaeróbia ou após o tratamento com ácido propiônico aerobicamente (TAIT e BEAMES, 1988). Transformações físicas ou químicas podem ser aplicados isoladamente ou em combinação. Neste trabalho o milho em grão passa por processamento envolvendo

reconstituição e moagem de maneira simples e possível de ser realizada em nível de propriedade rural. São considerados os efeitos do processamento principalmente sobre a digestibilidade, a taxa e o sítio de digestão do grânulo de amido, e o consumo de matéria seca.

Existe a necessidade de aperfeiçoar a moagem de forma a maximizar o aproveitamento do alimento e racionalizar o uso da energia. Assim a reconstituição de grãos de milho moídos grosseiramente, pode auxiliar no processo de digestão e ao mesmo tempo causar reduções significativas de consumo de energia para moagem dos grãos. De acordo com essas informações estabeleceu-se como objetivo neste trabalho avaliar diferentes formas de processamento do grão de milho baseados em reconstituição e moagem e sua utilização como componente de rações para vacas leiteiras através do consumo, produção e composição do leite e cinética de nutrientes.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Local, animais, tratamentos e coletas

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata Mineira, com 649 m de altitude. Geograficamente está definida pelas coordenadas de 20°45'20" de latitude sul e 42°52'40" de longitude oeste. De acordo com dados fornecidos pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, o clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical, segundo a classificação proposta por Köppen.

Foram utilizadas seis vacas da raça Holandesa Malhada de Preto, puras e puras por cruza, distribuídas em dois quadrados latinos 3 X 3, balanceados de acordo com o período de lactação para que todas as vacas apresentassem no final do experimento menos de 150 dias de gestação.

Os animais foram manejados em baias individuais, tipo "Tie Stall", onde receberam, alimentação à vontade duas vezes ao dia, às 6:30 e às 15:30 horas. O experimento constou de três períodos com duração de 21 dias cada um, sendo os nove primeiros para adaptação as dietas e os demais para a coleta de dados.

As dietas foram calculadas de acordo com o NRC (2001), de forma a atender as exigências nutricionais de vacas com 600 kg de peso corporal e produção diária 30 kg de leite com 3,5% de gordura. Os cálculos foram feitos de modo que as dietas fossem isoprotéicas. O volumoso utilizado foi a silagem de milho (*Zea mays* - híbrido AG-1051) na proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado, na base da matéria seca.

Na Tabela 1 é apresentada a composição bromatológica dos ingredientes e suplementos utilizados no experimento. Nas Tabelas 2 e 3 são apresentadas as proporções dos ingredientes utilizados na formulação dos concentrados e a composição bromatológica estimada dos concentrados, respectivamente. Na Tabela 4 é apresentada a proporção dos ingredientes utilizados nas dietas.

Tabela 1 – Composição bromatológica dos ingredientes e suplementos (%MS)

Item	Ingrediente					
	Silagem de Milho	MMF	MRA	MRD	F. Trigo	F. Soja
MS	29,97	88,49	78,66	69,49	89,08	88,77
CZ	5,01	3,26	1,34	1,18	6,61	7,16
MO	94,99	96,74	98,66	98,82	93,39	92,84
PB	7,45	8,61	7,86	9,32	19,03	51,69
EE	2,40	3,18	2,18	2,32	2,68	2,12
FDN	50,96	10,71	12,28	11,00	41,56	13,47
FDNc	50,38	14,60	14,16	10,40	41,54	13,45
FDNp	49,98	14,09	13,53	9,91	37,92	12,06
FDNcp	51,01	12,01	12,49	9,01	37,90	20,35
FDA	37,21	4,85	4,59	4,96	15,94	14,99
AMIDO	28,13	83,84	85,49	90,31	27,40	1,90
CHOT	85,14	88,95	88,63	87,19	71,68	39,03
CSDN	49,04	79,29	82,72	84,00	58,44	86,53
CNF	34,12	62,34	70,14	65,78	33,79	18,68
LIG	6,00	1,25	1,13	0,92	1,82	2,00
LIG (% FDNcp)	11,76	5,56	6,10	4,29	4,79	9,84
PIDN	1,92	6,58	5,45	5,43	8,75	10,49
PIDA	0,49	0,07	0,07	0,07	0,21	0,35
CIDN	1,14	0,50	0,12	0,04	0,04	0,18
Na	0,98	0,15	0,18	0,23	0,24	0,44
K	1,46	0,16	0,18	0,22	0,53	1,00
Zn	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
Mg	0,68	0,08	0,10	0,11	0,39	0,30
Fe	0,37	0,01	0,01	0,02	0,02	0,04
Ca	0,64	0,02	0,02	0,03	0,11	0,30
P	0,19	0,24	0,24	0,22	0,99	0,64
Valor Estimado de Energia						
NDT _m (%)	59,44	78,79	82,14	78,60	73,67	71,37
NDT _{3M} (%)	59,44	71,02	72,53	70,90	67,75	66,30
ED (Mcal/kg)	2,62	3,47	3,58	3,47	3,25	3,15
EM (Mcal/kg)	2,20	3,06	3,16	3,05	2,83	2,73
EL (Mcal/kg)	1,46	1,98	2,04	1,97	1,84	1,78
ELp (Mcal/kg)	0,74	1,08	1,12	1,08	0,99	0,95

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não-fibrosos (CNF), carboidratos solúveis em detergente neutro (CSDN), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNc), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), lignina em detergente ácido (LDA) e matéria mineral (MM), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável (EM), energia digestível (ED), energia líquida (EL), energia líquida de produção (ELp).

A ração completa foi fornecida em cochos individuais, diariamente, sendo feitas pesagens das quantidades das dietas fornecidas e das sobras de cada tratamento, para estimativa do consumo. O monitoramento diário do consumo era feito com objetivo manter as sobras de alimento na ordem de 10%, com base na matéria natural.

Tabela 2 - Composição dos concentrados experimentais (%MS)

Trat.	MMF	MRA	MRD
Alimentos		%	
Milho	59,71	59,71	59,71
F. Trigo	13,95	13,95	13,95
F. Soja	19,90	19,90	19,90
Uréia	2,98	2,98	2,98
Supl. Mineral	3,46	3,46	3,46
Total	100,00	100,00	100,00

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm)

Observa-se na tabela 2 que a composição dos concentrados experimentais é a mesma, porém com alterações na forma de processamento da fonte energética utilizada, que neste caso é o milho, pois este é o alimento foco do estudo.

Tabela 3 – Composição bromatológica dos concentrados experimentais

Item (%MS)	Concentrado	
	Com inclusão de milho	Sem inclusão de milho
MS	86,05	89,10
CZ	6,88	16,72
MO	83,12	83,28
PB	24,36	47,89
EE	3,29	1,64
FDN	17,28	21,35
FDNc	17,09	20,81
FDNp	15,96	19,80
FDNcp	15,59	18,86
FDA	13,72	12,32
AMIDO	40,64	9,32
CHOT	65,48	33,75
CSDN	82,72	78,65
CNF	46,90	10,89
LIG	1,14	1,74

LIG (% FDNcp)	6,17	7,66
PIDN	7,61	7,31
PIDA	0,96	1,20
CIDN	1,04	2,56
Na	0,42	0,96
K	0,44	0,79
Zn	0,013	0,004
Mg	0,17	0,29
Fe	0,02	0,057
Ca	0,84	1,99
P	0,73	1,36
Valor Estimado de Energia		
NDT _m (%)	77,29	63,41
NDT _{3M} (%)	70,06	61,17
ED (Mcal/kg)	3,41	2,80
EM (Mcal/kg)	2,99	2,37
ELm (Mcal/kg)	1,94	1,57
ELp (Mcal/kg)	1,06	0,81

Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não-fibrosos (CNF), carboidratos solúveis em detergente neutro (CSDN), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNc), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), lignina em detergente ácido (LDA) e matéria mineral (MM), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável (EM), energia digestível (ED), energia líquida (EL), energia líquida de produção (ELp).

Tabela 4 – Composição da dieta

Alimento		
	%	kg MN/an/d
Silagem de Milho	50,00	43,80
Milho	30,00	8,09
F. Trigo	7,00	1,89
F. Soja	9,5	2,70
Uréia	1,50	0,36
Supl. Mineral ¹	1,74	0,42
Bicarb. de sódio/Óx. De Mg (2:1)	0,50	0,13
Total	100,00	57,25

¹ Composição (%): fosfato bicálcico (41,00), calcário (29,00), sal comum (24,70), flor de enxofre (2,54), sulfato de magnésio (1,85), sulfato de cobre (0,037), sulfato de zinco (0,45), outros micronutrientes (0,423)

Os carboidratos totais (CHOT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992) e Van Soest et al. (1991), respectivamente:

$$CHOT = 100 - (\% PB + \% EE + \% Cinzas)$$

$$CNF = (100 - (\% PB + \% EE + \% Cinzas + \% FDNcp))$$

Os valores estimados de nutrientes digestíveis totais (NDT) para o nível de manutenção (NDT_m), de NDT para o nível de produção (NDT_p) e de energia líquida para o nível de produção (EL_p) dos alimentos foram obtidos segundo as equações descritas no NRC (2001). Para efetuar a correção na digestibilidade de manutenção para produção, considerou-se um consumo de 3 vezes a manutenção (3M), calculado considerando as exigências de manutenção e produção de leite estimadas pelo NRC (2001).

$$NDT_m = (PBD + CNFD + FDND + AGD \times 2,25) - 7, \text{ em que:}$$

$$PBD = PB \times \text{Exp}[-1,2 \times PIDA/PB] - \text{para volumosos};$$

$$PBD = [1 - (0,4 \times PIDA/PB)] \times PB - \text{para concentrados};$$

$$CNFD = 0,98 \times CNF;$$

$$FDND = 0,75 \times (FDN_{cp} - LDA) \times [1 - (LDA/FDN_{cp})^{0,667}];$$

$$AGD = EE - 1$$

$$NDT_{3M} = 0,18 \times NDT_m - 10,3$$

0,75 = constante de proporcionalidade; e 7 refere-se ao NDT metabólico fecal;

Sendo PBD (PB verdadeiramente digestível); CNFD (CNF verdadeiramente digestível); FDND (FDN verdadeiramente digestível); AGD (AG verdadeiramente digestíveis); LDA (lignina em detergente ácido).

Os valores de NDT foram convertidos em energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) utilizando-se as equações sugeridas pelo NRC (2001):

$$ED \text{ (Mcal/kg)} = 0,04409 \times NDT(\%)$$

$$EM \text{ (Mcal/kg)} = 1,01 \times ED \text{ (Mcal/kg)} - 0,45;$$

A conversão do NDT em energia líquida foi feita pela equação de Moe et al. (1972), que corresponde a energia líquida ao nível de manutenção:

$$EL_m \text{ (Mcal/kg)} = 0,0266 \times NDT (\%) - 0,12$$

Para a quantificação da energia das dietas, foram utilizados os valores da digestibilidade aparente obtidos no experimento, segundo Weiss (1999):

$$NDT (\%) = PBD + FDND + CNFD + (EED * 2,25),$$

em que “d” representa a digestibilidade aparente dos componentes.

4.2.2. Análises laboratoriais

O preparo das amostras compostas do alimento fornecido e das sobras diárias de cada animal e período experimental e as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), compostos nitrogenados (N), extrato etéreo (EE) seguiram as especificações American of Official Analytical Chemists - AOAC (1990). Fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al. (1991).

Nos alimentos procedeu-se também as análises de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), de acordo com técnicas descritas por Licitra et al. (1996), e de lignina em ácido sulfúrico (LDA), conforme descrito por Pereira & Rossi Jr. (1995). Macrominerais (Ca, P, Mg, Na, K e S) e microminerais (Cu, Zn, Mn, Co, I, Se, Fe) foram determinados por espectrometria de absorção atômica nas amostras de alimentos.

Nas amostras de fezes foram determinados os teores de MS, MO, CZ, EE, CNF, N, PB, FDN.

Com objetivo de determinar a digestibilidade da fração amido, o teor de amido fecal foi analisado conforme a metodologia proposta por Bach Knudsen (1997), ambos no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da ESALQ/USP.

4.2.3. Composição do Leite

As vacas foram ordenhadas, mecanicamente, duas vezes ao dia, fazendo-se o registro diário da produção de leite. No 15º dia de cada período experimental, foi coletada uma amostra de leite com dispositivo acoplado à ordenhadeira, aproximadamente 300 ml, na ordenha da manhã e da tarde, fazendo-se amostras compostas, que foram acondicionadas em frascos plásticos com conservante (Bronopol®), mantidas entre 2 e 6°C, e encaminhadas para o Laboratório de Análises de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite, no município de Juiz de Fora - MG, para fins de análise dos teores de proteína, gordura, lactose e extrato seco total, segundo a metodologia descrita pelo International Dairy Federation (1996).

No Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da ESALQ/USP, foram determinados o perfil de ácidos graxos as amostras de leite. As amostras foram transmetiladas e os ésteres metílicos de ácidos graxos da gordura do leite foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo Focus CG-Finnigan, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian), com 100 m de comprimento por 0,25 µm de diâmetro interno e 0,20 µm de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8mL/min. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70°C, tempo de espera 4 minutos, 1750°C (13°C/min) tempo de espera 27 min, 2150°C (4°C/min) tempo de espera 9 minutos e, em seguida aumentando 7 °C/minuto até 230°C, permanecendo por 5 minutos, totalizando 65 min. A temperatura do vaporizador foi de 250 °C e a do detector de 300 °C

Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetado no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação dos tempos de retenção e as percentagens dos ácidos graxos obtidas através do software – Chromquest 4.1 (THERMO ELECTRON, Italy).

Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. Estes foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos são expressos em percentual de área (%).

Os padrões utilizados foram: BCR-CRM 164, Anhydrous Milk-Fat Producer: BCR Institute for Reference e Supelco TM Component FAME Mix, cat 18919 Supelco, Bellefonte, PA.

A produção de leite corrigida (PLC) para 3,5% de gordura, foi estimada segundo Sklan et al. (1992), pela seguinte equação:

$$PLC = (0,432 + 0,1625 \times \% \text{ gordura do leite}) \times \text{produção de leite em kg/dia}$$

4.2.4. Determinação da digestibilidade total da matéria seca e dos nutrientes

A digestibilidade aparente total foi determinada pelo método indireto utilizando-se como indicador o óxido crômico (Cr₂O₃) que foi fornecido em

quantidade de 15 g/animal/dia, infundido via oral através de sonda esofágica em capsulas de papel, do 1º ao 9º dia de cada período experimental.

As amostras de fezes foram coletadas diretamente do reto, entre o 9º e 14º dia de cada período experimental com intervalos de 26 horas cada, iniciando-se às 16 horas do 9º dia e finalizando às 8 horas do 14º dia e acondicionadas em sacos plásticos. Posteriormente foram acondicionados em bandejas de alumínio, e secas em estufa ventilada a 65°C. Uma amostra composta de cada animal com base no peso seco ao ar foi obtida, referente a cada animal em cada período.

As amostras foram moídas em moinho tipo “Willey”, com peneira de 1 mm, e armazenadas como amostras compostas por animal e período, em vidros com tampa de polietileno. Nestas amostras foram efetuadas as análises da concentração de cromo, matéria seca (MS) segundo Williams et al. (1962), utilizando-se espectrômetro de absorção atômica.

Para determinação dos coeficientes das digestibilidades aparentes totais (CDT), da MS, MO, EE, FDN, CNF e CT, os cálculos foram efetuados segundo Coelho da Silva e Leão (1979).

4.2.5. Determinação dos teores de amido nos alimentos e nas sobras

Para as amostras de alimentos e sobras o teor de amido (% MS) foi analisado conforme a metodologia proposta por Bach Knudsen (1997). As determinações de amido das sobras e dietas foram feitas colocando-se em tubos de ensaio de 40 mL aproximadamente 0,20 g de amostra.

Nos tubos previamente pesados foram dispensados 30 mL de solução tampão de acetato de sódio ($\text{pH} = 5,00 \pm 0,05$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e adicionada 50 μL da enzima α -amilase (Novozymes, Termamyl 2x). Todos os tubos de ensaio foram homogeneizados em agitador e posteriormente, colocados em banho-maria a 100°C durante uma hora, com homogeneização dos tubos aos 10, 30 e 50 minutos de incubação. Em seguida foram retirados do banho-maria até atingirem temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 1 mL da solução contendo 100 unidades da enzima amyloglucosidase por mL (Megazyme, E-AMGDF).

Os tubos foram novamente agitados e incubados em banho-maria a 60°C, permanecendo durante 2 horas, sendo agitados após 1 hora de incubação. Após as 2 horas, os tubos foram transferidos para a bancada até atingirem temperatura ambiente. Posteriormente os mesmos foram pesados (para correção do volume) e a solução transferida para tubos de 50 mL, centrifugados a 2.060 g por 10 minutos a uma temperatura de 10°C. Em seguida utilizou-se 10 µL de cada tubo centrifugado para reagir com 1 mL de uma solução estável de um kit comercial de glicose GOD PAP (Laborlab, 06400), numa diluição de 1:100. Após 15 minutos de reação a 23°C, foi realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro (Shimadzu, UV – 1601 PC) a 505 nm.

Para cada reação foi feita uma curva padrão com solução de glicose. Para cada ensaio foram utilizados duas amostras padrões (amido puro e fubá de milho) e um branco. Para que o amido da dieta e sobras não fosse superestimado pela contaminação com glicose, foram pesados 0,20g de amostra sendo esta colocada em tubo de ensaio com tampa de rosca de 40 mL, previamente pesado. Foi dispensado 30 mL de água deionizada dentro dos tubos e por quatro horas, os tubos foram então agitados em intervalos de 30 minutos. Após as quatro horas, os tubos foram pesados, para correção do volume e em seguida transferidos para os tubos de centrifugação. A partir da centrifugação, todos os processos foram iguais aos já descritos. Após a leitura de glicose destas amostras, os valores obtidos foram subtraídos dos valores do amido.

4.2.6. Delineamento experimental e análises estatísticas

Para adaptação dos animais à dieta foi obedecido um período de 9 dias no início do experimento, e a cada troca de tratamento por animal, e o experimento foi dividido em três períodos experimentais de 21 dias, sendo os últimos 11 dias destinados à coleta de amostras e de dados.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino duplo paralelo 3 x 3. O modelo linear misto dos efeitos correspondentes foi o seguinte:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + c_k + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

onde: y_{ijk} representa a observação da vaca k dado tratamento i no período j ; α_i representa o efeito fixo do i -ésimo tratamento, $i = 1, 2, \dots, n_t$; β_j representa o efeito fixo do período j , $j = 1, 2, \dots, n_p$; e c_k representa o efeito aleatório da vaca k , $k = 1, 2, \dots, n_c$, com variância σ_c^2 .

Os dados coletados foram analisados por intermédio do comando MIXED do programa estatístico SAS (SAS, 2007). Este procedimento define as variáveis fixas e aleatórias do modelo, utiliza o método de máxima verossimilhança para estimar os componentes de variância.

O número de tratamentos (n_t), períodos (n_p) e quadrados (n_q) era igual. Assim, o número total de vacas (n_v) no estudo foi $n_v = n_q \times n_t$. Sem perda de generalidade, podemos assumir que efeitos de quadrados não existem, pois o quadrado não representa qualquer entidade de bloqueio espacial, temporal ou de outra natureza; ou seja, todos os quadrados são realizados simultaneamente e próximos (TEMPLEMAN, 2004).

O efeito de período é considerado fixo sendo colocado como um sinônimo de fase de lactação, desde que a variabilidade na produção seja baixa dentro de cada período. Portanto, a interação $\alpha\beta_{ij}$ entre o i -ésimo tratamento e o j -ésimo período também são considerados fixos, desde que os mesmos períodos sejam considerados dentro de cada quadrado latino.

O modelo acima apresenta o resíduo e_{ijk} normal, independentemente e identicamente distribuído com variância σ^2 .

Assim, neste projeto o quadrado latino possui um desenho ou modelo de medidas repetidas, segundo o qual as vacas são observadas ao longo do tempo, embora com designações de tratamento diferentes em cada período.

4.2.7. Cinética de degradação da fibra em detergente neutro do volumoso e do milho reconstituído

A cinética de degradação foi estimada com base nas técnicas *in vitro* gravimétricas e de produção cumulativa de gases da fermentação microbiana.

Foram realizadas incubações das amostras em frascos de 100 mL tendo como inóculo líquido de rúmen, acrescido de solução de meio e redutora de acordo com Goering & Van Soest, 1970. Foram utilizadas,

aproximadamente, 600 mg de amostra (moída a 1 mm) para cada frasco, em cada tempo de incubação, e adicionavam-se, então 40 mL de solução e 10 mL de líquido ruminal. Antes da mistura dos líquidos, procedia-se à infusão de CO₂, para saturação do meio. Os tempos de incubação foram 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 72 e 96 horas. Os frascos foram mantidos em sala climatizada com aquecimento (39°C) em mesa de agitação orbital automática. Terminada a incubação, o conteúdo de cada frasco foi transferido quantitativamente para um copo-béquer de 500 mL, ao qual eram adicionados 100 mL de solução detergente neutra. Após 1 hora de fervura, filtrou-se o conteúdo do béquer em um cadinho de peso conhecido, utilizando água destilada quente para a lavagem e transferência do resíduo final, seguido de lavagem com acetona. Ao final, o cadinho que continha o resíduo foi levado à estufa (105°C), para secagem e posterior pesagem.

Os perfis de degradação da fibra em detergente neutro (FDN) obtidos pelo procedimento descrito acima foram interpretados cineticamente, utilizando o modelo proposto por Matis et al. 1989, Matis, 1972 e Vieira et al. 2008a considerando a ordem de dependência do tempo (N):

$$R(t) = [R_0 - U] \left\{ \delta^N \exp(-k_d t) + \exp(-\lambda t) \sum_{i=0}^{N-1} (1 - \delta^{N-i}) (\lambda t)^i i! \right\} + U + e$$

sendo: $\delta = \lambda / (\lambda - k_d)$

em que: R(t) corresponde ao resíduo de incubação após determinado tempo t (h); R(0) equivale à fração potencialmente degradável (%); U: corresponde à fração indegradável (%); k_d: corresponde à taxa de degradação da fração potencialmente degradável da FDN_{cp} (h⁻¹); N: ordem de dependência do tempo relacionado à preparação do substrato para digestão; λ: taxa de preparação do substrato para degradação; i: Denotação subscrita da ordem dependência do tempo; t: tempo (horas) e: erro associado.

A equação foi ajustada para os perfis de degradação por meio do algoritmo Newton dos procedimentos PROC NLIN do SAS. O aumento de ordem dependência do tempo foi aplicado para avaliar a qualidade de ajuste do modelo.

O critério de escolha do melhor modelo foi a probabilidade de verossimilhança calculada a partir do critério Akaike (1974).

Já a produção cumulativa de gases da fermentação foi obtida após incubações anaeróbicas *in vitro* em sala climatizada a 39°C, com base nas metodologias descritas por Malafaia et al. (1998), com modificações.

As incubações foram conduzidas em frascos de vidro (100 mL) hermeticamente fechados com tampa de borracha e lacre em alumínio. Foram adicionados 40 mL de solução de meio, 2 mL de solução redutora de acordo Goering & Van Soest (1970), 10 mL de líquido de rúmen e 600 mg de matéria seca dos alimentos moídos a 1 mm, em triplicata. As medições de pressão e volume foram realizadas por meio de um manômetro (0-1 kgf/cm²) acoplado a uma seringa de vidro (20 mL) nos seguintes tempos 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 18; 24; 30; 36; 40; 48; 56; 68; 72 e 96 horas, após a adição do inoculo ruminal. O inoculo foi coletado de uma vaca alimentada com silagem de milho e mistura concentrada contendo os mesmos componentes das dietas utilizadas neste trabalho.

As taxas de degradação das frações A + B₁ dos carboidratos foram estimadas por meio da combinação entre as técnicas *in vitro* gravimétricas e de produção de gases. Uma vez obtido o perfil de produção dos gases da matéria seca das forrageiras, o volume final dos gases foi estimado por meio do ajuste do modelo:

$$V_{(t)_i} = V_f * [1 - (1 + \lambda t_i) \exp(-\lambda t_i)] + e_i$$

em que $V(t)_i$ corresponde ao volume acumulado de gás no tempo t_i expresso em mL/100 mg de MS incubada; V_f equivale ao volume máximo produzido e λ representa o preparo do substrato para a digestão e a taxa de degradação expressa em h^{-1} .

Estimado o volume final V_f e, a partir dos teores de FDN_{cp} = CF e CNF = CT - CF, foram preditas as contribuições sobre o V_f de cada um destes componentes (CF e CNF), com base na pressuposição de que o volume de gás produzido por unidade monomérica de carboidrato assimilado e fermentado pela massa microbiana é o mesmo para carboidratos fibrosos e não fibrosos em um mesmo substrato (BEUVINK et al., 1992; SCHOFIELD

et al., 1995; HALL et al., 1998; STEFANON et al., 1995), dessa forma procedeu-se os seguintes cálculos:

$$V_f(CF) = V_f \left(\frac{B_2}{B_2+CF} \right) \text{ e } V_f(CNF) = V_f \left(\frac{B_2}{B_2+CNF} \right)$$

em que $V_f(CF)$ é o volume final de gás estimado proveniente de carboidratos fibrosos e $V_f(CNF)$ é o volume final de gás estimado proveniente de carboidratos não fibrosos. Obtida a estimativa $V_f(CF)$ e, uma vez que $V_f(CNF) + V_f(CF) = V_f$, foi simulada, então, a produção acumulativa dos gases da fermentação dos carboidratos fibrosos para os tempos t_i a partir do perfil cinético gravimétrico, cuja versão adaptada para simular esta produção acumulada foi:

$$V_{CF}(t_i) = V_i(CF) \left[1 - \frac{k_d * \exp(k_a t_i) - \exp(k_d t_i)}{k_d - k_a} \right]$$

em que $V_{CF}(t_i)$ é o volume estimado de gás proveniente de carboidratos fibrosos no tempo t_i , k_d (h^{-1}) corresponde a taxa de degradação; k_a (h^{-1}) é a taxa fracional constante para a latência.

Em seguida, para cada tempo t_i do volume registrado para a produção de gás de matéria seca foi descontado o correspondente $V_{CF}(t_i)$ para obtenção do perfil de produção acumulado dos gases oriundos dos CNF. A este perfil foi ajustado o seguinte modelo:

$$V_{CNF}(t_i) = V_f A [1 - \exp(-k_{d1} t_i)] + V_f B_1 \left[1 - \frac{k_d * \exp(k_a t_i) - \exp(k_d t_i)}{k_d - k_a} \right]$$

em que $V_{CNF}(t_i)$ é o volume estimado de gás proveniente de carboidratos fibrosos no tempo t_i , $V_f A$ é o volume final de gás estimado proveniente da fração A; $V_f B_1$ é o volume estimado de gás proveniente da fração B_1 .

Uma vez obtidas, as estimativas dos parâmetros $V_f A$ e $V_f B_1$, as frações A e B_1 dos CHOT foram obtidas com base nas seguintes expressões:

$$A = CNF \left(\frac{V_f A}{V_f A + V_f B_1} \right) \text{ e } B_1 = CNF \left(\frac{V_f B_1}{V_f A + V_f B_1} \right)$$

As frações B₂ e C foram obtidas da seguinte maneira:

$$B_2(\%CHOT) = (1 - U) * FDNcp;$$

$$C(\%CHOT) = U * FDNcp.$$

em que U equivale à fração indegradável (%); FDNcp representa a fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteína.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de matéria seca (CMS) foi semelhante em quase todas as situações, com exceção de uma pequena redução no CMS no tratamento MRD no segundo período. O consumo de carboidratos não fibrosos (CNF) apresentou variações significativas, onde maiores consumos foram observados para o tratamento MMF no primeiro e segundo período. Comportamento semelhante foi observado para os consumos de amido (AMIDO) em porcentagem dos CHOT, e para a digestibilidade dos CNF para o mesmo tratamento. Este fato pode ser explicado pela maior densidade do milho neste tratamento, pois a moagem ocorreu a 1 mm, o que fez com que a dieta se apresentasse mais homogênea.

Foi detectado somente uma redução significativa na digestibilidade da MS do MRA entre os tratamentos no segundo período.

As dietas contendo MRA e MRD causaram maior variação no consumo de FDNcp, CNF e AMIDO com menores consumos detectados no primeiro e segundo períodos. O consumo de amido foi mais estável e constante nas dietas com MMF provavelmente devido a uma menor variação na granulometria do concentrado e uma melhor homogeneização da ração. As dietas contendo MRA e MRD proporcionam maior estratificação das partículas no rúmen, onde as maiores partículas podem escapar a fermentação ruminal ocasionando os resultados observados.

Os valores de NDT dos milhos processados utilizados neste trabalho foram menores que os valores apresentados no NRC (1996). Os valores de NDT do NRC (1996) para o milho moído, para o laminado e para o floculado são 88,00, 90,00 e 93,00% respectivamente. O valor estimado mais alto encontrado foi para o MRA (82,14%), sendo que não foi utilizado o fator de processamento (PAF) no NRC (2001).

Tabela 5 - Consumos médios diários de matéria seca e nutrientes obtidos para as dietas experimentais

VARIÁVEL	TRAT	PER			<i>p-value</i>	CV (%)
		1	2	3		
MS, (kg/d)	MMF	24,15	23,89	23,19	0,069	5,63
	MRA	22,78	21,01	22,23	0,015	
	MRD	21,30 ^{ab}	19,84 ^b	24,57 ^a	0,069	

CNF, (kg/d)	MMF	10,69 ^A	10,96 ^A	11,07	0,003	4,61
	MRA	9,42A ^{Bb}	9,28 ^{Bb}	11,84 ^a	<0,001	
	MRD	8,65 ^{Bb}	9,33A ^{Bb}	11,41 ^a	0,006	
PB, (kg/d)	MMF	3,72	3,87	3,67	0,023	5,97
	MRA	3,45	3,31	3,85	0,024	
	MRD	3,15	0,20	3,79	0,080	
EE, (kg/d)	MMF	0,74	0,71	0,77	0,001	4,36
	MRA	0,67	0,63	0,72	<0,001	
	MRD	0,63	0,61	0,78	0,090	
CHOT, (kg/d)	MMF	18,91	19,05	19,11	0,081	5,54
	MRA	17,66	16,62	20,29	0,000	
	MRD	16,34 ^b	16,08 ^b	20,42 ^a	0,044	
MO, (kg/d)	MMF	22,74	22,46	21,81	0,124	8,10
	MRA	21,47	19,74	19,85	0,384	
	MRD	21,10	18,67	23,10	0,209	
FDNcp, (kg/d)	MMF	8,60	9,03	9,53	0,050	11,46
	MRA	8,30 ^{ab}	7,79 ^b	10,32 ^a	<0,0001	
	MRD	7,549 ^b	7,735 ^b	10,63 ^a	0,059	
AMIDO, (kg/d)	MMF	7,75	8,37	7,88	0,017	9,56
	MRA	6,48	6,44 ^b	9,24 ^a	0,000	
	MRD	5,53 ^b	6,12 ^b	8,454 ^a	0,019	
NDT, (kg/d)	MMF	13,92 ^b	17,19 ^{Aa}	17,96 ^a	0,011	12,66
	MRA	13,83 ^b	12,04 ^{Bb}	18,97 ^a	<0,0001	
	MRD	12,04 ^b	12,76 ^{Bb}	18,25 ^a	0,005	
ED, (Mcal/d)	MMF	62,52 ^b	77,17A ^{ab}	80,64 ^a	0,011	6,86
	MRA	62,07	54,05 ^B	85,18	<0,0001	
	MRD	54,06	57,296 ^B	81,92	0,005	
EM, (Mcal/d)	MMF	52,17	67,082 ^A	70,90	0,096	7,21
	MRA	52,34 ^b	45,04 ^{Ba}	75,02 ^a	<0,0001	
	MRD	44,92	48,85 ^B	71,57	0,003	
EL, (Mcal/d)	MMF	31,50 ^b	38,78 ^{Aa}	40,52 ^a	0,011	6,86
	MRA	31,18 ^b	27,15 ^{Bb}	42,81 ^a	<0,0001	
	MRD	27,16 ^b	28,79 ^{Bb}	41,17 ^a	0,005	
ELp, (Mcal/d)	MMF	19,27	19,04	15,71	0,284	13,86
	MRA	17,11	15,84	17,10	0,617	
	MRD	14,82	17,65	16,52	0,209	

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); MS (matéria seca); MO (matéria orgânica); PB (proteína bruta); EE (extrato etéreo); CHOT (carboidratos totais); FDNcp (fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína); CNF (carboidratos não-fibrosos); AMIDO (amido) e NDT (nutrientes digestíveis totais); ED (energia digestível); EM (energia metabolizável); EL (energia líquida); ELP (energia líquida de produção); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si; CV = coeficiente de variação (%).

O consumo de NDT foi menor no primeiro período, aumentando significativamente no terceiro período experimental. Estes resultados

apontam um aumento na eficiência de uso da energia com o avanço da gestação, que pode ser comprovado com o aumento da digestibilidade da MS. Os padrões de ingestão de MS de vacas de alta produção e ao início da lactação devem ser diferentes dos de vacas com menor potencial produtivo e/ou ao final da lactação (GRANT, 1995). Assim, ingestão de matéria seca é o principal fator que afeta a desempenho animal. O gado leiteiro pode modificar o comportamento de acordo com o tipo, quantidade e acessibilidade do alimento e práticas de manejo.

Não foram observadas diferenças significativas para os consumos de PB, EE, MO e ELp.

A caracterização do valor nutritivo dos alimentos, que envolve consumo, digestibilidade e eficiência de utilização do alimento tem grande importância para os ruminantes, pois possibilita inferir sobre sua utilização por esses animais (FREITAS et al., 2002).

A digestibilidade aparente média para a MS e demais nutrientes e respectivos coeficientes de variação estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes obtidos para as dietas experimentais

VARIÁVEL	TRAT	PER			P-value	CV %
		1	2	3		
MS	MMF	49,69 ^b	61,53 ^a	61,67 ^a	0,455	5,07
	MRA	57,74 ^{ab}	48,76 ^b	65,31 ^a	0,000	
	MRD	56,06	51,46	59,34	0,001	
MO	MMF	53,19 ^b	63,91 ^{Aa}	64,16 ^a	0,219	4,87
	MRA	59,7 ^{ab}	50,88 ^{Bb}	66,74 ^a	0,000	
	MRD	58,01	53,53 ^B	60,70	0,001	
PB	MMF	47,26 ^{Bb}	62,02 ^a	63,99 ^a	0,146	5,55
	MRA	58,97 ^{Ab}	52,94 ^b	72,92 ^a	<0,0001	
	MRD	57,925 ^A	56,59	62,33	0,001	
EE	MMF	81,43	84,52	74,68	0,001	6,89
	MRA	77,36	83,40	87,20	0,164	
	MRD	62,78	71,07	73,69	0,154	
FDNcp	MMF	26,92 ^{Bb}	44,70 ^{ab}	50,26 ^a	0,004	11,34
	MRA	51,6 ^{Aab}	37,55 ^b	66,92 ^a	<0,0001	
	MRD	42,73 ^{AB}	44,84 ^a	57,31	0,005	
CHOT	MMF	54,77 ^b	65,75 ^{Aa}	67,06 ^a	0,166	5,01
	MRA	59,86 ^{ab}	51,5 ^{Bb}	69,1 ^a	<0,0001	
	MRD	58,01	55,84 ^{AB}	63,53	0,002	
	MMF	78,62 ^A	85,91 ^A	85,99 ^A	<0,0001	

CNF	MRA	67,45 ^{Bb}	66,23 ^{Bb}	81,72 ^{ABa}	0,000	4,10
	MRD	70,51 ^{AB}	69,365 ^B	74,54 ^B	0,019	

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); MS (matéria seca); MO (matéria orgânica); PB (proteína bruta); EE (extrato etéreo); CHOT (carboidratos totais); FDNcp (fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e preteína); CNF (carboidratos não-fibrosos) e AMIDO (amido); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem ente si; CV = coeficiente de variação (%).

Conforme Van Soest (1994), a digestibilidade e utilização dos nutrientes são uma descrição qualitativa do consumo dos alimentos. Neste contexto, pode-se observar que as digestibilidade aparentes dos nutrientes, exceto CNF e CHOT não variaram em função do tipo de processamento, pois exceto a FDNcp todos se comportam como uma entidade nutricional (LUCAS, 1961).

Os coeficientes de digestibilidade da MS foram significativamente maiores no terceiro período para o MMF e MRA e maior, mas não significativo para o MRD. Entre os tratamentos, verificou-se aumento na digestibilidade da MS apenas no MMF e MRD, que ocorreu no segundo período. Schake et al. (1972), trabalhando com grão de sorgo reconstituído para 30% de umidade, sorgo laminado a seco e sorgo floculado armazenados por 14 dias antes do fornecimento não verificou diferenças no consumo de MS e nas taxa de ganho, mas a eficiência alimentar tendeu a ser melhorada para o animais alimentados como grão reconstituído. Este estudo contou com 75 animais por tratamento.

A digestibilidade da FDNcp apresentou grande variação entre as dietas no primeiro período, em torno de 26,92% (MMF) a 51,6% (MRA). O baixo valor da digestibilidade da FDNcp para o MMF no primeiro período não condiz com o valor observado para a digestibilidade da MS total, que não diferiu.

Com relação aos CHOT verificou-se diferença entre tratamentos apenas no segundo período onde para o MMF, a digestibilidade foi maior em relação aos demais. Com o aumento da vitreosidade do grão de milho ocorre redução na degradabilidade ruminal do amido. Segundo Correa et al. (2002), os híbridos brasileiros são considerados os mais duros, quando comparados com híbridos de milho dentado cultivado nos Estados Unidos. O híbrido brasileiro com menor vitreosidade apresenta maiores valores que o mais vítreo dos Estados Unidos (CORREA et al., 2002). Assim o aumento no grau

de moagem expõe ainda mais o amido e aumenta a superfície específica para ataque microbiano.

A digestibilidade da MO foi maior para o tratamento MMF apenas no segundo período e seguindo o que ocorreu com alguns outros resultados, foi superior para os três tratamentos no último período em relação ao primeiro e segundo períodos.

Com relação a PB, a digestibilidade desta fração apresentou apenas uma diferença significativa entre tratamentos, sendo menor para o MMF no primeiro período. Essa redução pode estar associada à redução significativa na digestibilidade da fibra, o que pode ter reduzido as taxas de crescimento microbiano.

Para o CNF o MMF apresentou maiores valores de digestibilidade em relação aos demais tratamentos. Owens e Zinn (2005) compararam milho moído fino e laminado a seco, e afirmaram que o moído fino tem sua extensão de digestão aumentada devido ao maior desaparecimento no intestino delgado, enquanto o laminado a seco tem digestão reduzida neste compartimento, mas ainda pode ser fermentado no intestino grosso. Assim, aspectos como o menor tamanho de partículas e a maior superfície específica podem justificar a menor variação entre os períodos para o MMF.

Nota-se que, no geral, o MMF apresentou uma menor variação de resultados entre períodos, indicando que a moagem mais uniforme e a superfície específica da dieta são fatores importantes para menores flutuações no metabolismo ruminal.

Normalmente, a reconstituição da umidade dos grãos é feita com objetivo e armazenar os grãos na forma de silagem. Os eventos que ocorrem durante o processo fermentativo melhoram a digestibilidade do amido. A maioria dos trabalhos (PFLUGFELDER et al., 1986; SULLINS et al., 1971; HIBBERD et al., 1984) se concentram nos estudos com grãos reconstituídos e ensilados e não servem para justificar os resultados obtidos neste estudo.

Na Tabela 7 são apresentadas respostas em produção e composição do leite.

Tabela 7 – Produção diária de leite (PL) e componentes do leite obtidas para as dietas experimentais

VARIÁVEL	TRAT	PER			P-value	CV %
		1	2	3		
PL (kg/dia)	MMF	28,86	24,91	23,24	0,421	11,25
	MRA	23,75	23,26	23,55	0,216	
	MRD	25,75	24,94	22,87	0,705	
G, %	MMF	3,35 ^{AB}	4,41	3,66	0,0471	8,27
	MRA	3,91 ^A	3,57	4,18	0,0023	
	MRD	2,59 ^{Ba}	3,77 ^b	3,95 ^b	0,0041	
C18:2	MMF	1,95	1,91	1,99	0,0513	10,8
	MRA	1,66	1,70	1,62	0,7395	
	MRD	2,04	1,86	1,81	0,8698	
PROT, %	MMF	3,35	3,44	3,31	0,958	5,74
	MRA	3,29	3,55	3,27	0,102	
	MRD	3,11	3,51	3,41	0,647	
LAC, %	MMF	4,30	4,33	3,91	0,821	5,58
	MRA	4,54	3,91	4,13	0,224	
	MRD	4,21	4,25	4,32	0,127	
ES, %	MMF	11,905	13,14	11,74	0,275	3,63
	MRA	12,695	11,85	12,48	0,043	
	MRD	10,78 ^b	12,44 ^a	12,6 ^a	0,001	
ESD, %	MMF	8,55	8,73	8,08	0,927	9,08
	MRA	8,79	8,28	8,30	0,294	
	MRD	8,19	8,67	8,65	0,020	

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); G (gordura do leite), PROT (proteína do leite), LAC (lactose do leite); ES (extrato seco do leite); ESD (extrato seco desengordurado); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si; CV = coeficiente de variação (%).

Não foram observadas diferenças entre as dietas em relação à PL, PLC, PROT, LAC e ESD. Também não foi verificada inversão na relação gordura/proteína entre as dietas. A ausência de significância para a produção de leite pode ser explicada pela ausência de resposta no consumo de MS. A produção de leite foi em média 82% da produção esperada. Todavia, o sistema NRC (2001) seja amplamente difundido e satisfatório para o uso em condições temperadas, esse conjunto de equações apresentadas variações nos valores de predição quando aplicado em condições tropicais, tornando as estimativas substancialmente desviadas dos valores observados in vivo (COSTA, 2002; SILVA, 2004; OLIVEIRA, 2005).

Já para os teores de gordura, foi verificada diferença significativa no apenas no primeiro período, sendo o MRA maior em relação aos demais. Isto pode estar relacionado a uma maior produção de precursores da gordura do leite devido a melhor digestibilidade da FDNcp verificada para o mesmo tratamento.

Com relação ao desempenho, estudos de Riley et al. (1975) e Bolsen e Riley (1976) relataram que não houve diferença na produção de vacas alimentados com grãos de sorgo reconstituído e aqueles alimentados com grãos de sorgo seco laminado, mas esses estudos tiveram replicação limitada e os detalhes do processo de reconstituição não foram completamente descritos nesses estudos.

Com relação ao ácido octadecadienóico, que possui característica nutracêutica (PALMQUIST e MATOS, 2006), nota-se que não houve influência do processamento sobre a produção deste ácido graxo, também chamado de ácido linoleico conjugado (CLA). Efeitos sobre o CLA são geralmente observados quando ocorrem alterações nos níveis e no tipo de gordura da dieta (JENKINS e PALMQUIST, 1982; JENKINS, 1993). Neste trabalho o consumo de EE situou-se em torno de 0,7 kg/dia, sendo oriundo das mesmas fontes em todas as dietas, o que justifica a ausência de significância.

Griinari et al., 1998 verificaram redução na concentração de CLA na gordura do leite em animais alimentados com uma dieta que resultou em queda no pH ruminal, porém neste trabalho não foram observadas reduções significativas no pH ruminal.

Grande parte das teorias propostas para a queda de gordura do leite deve-se à baixa quantidade de precursores lipídicos, baseadas em observações de reduzida produção de acetato e butirato e aumento na formação de propionato quando da utilização de baixa fibra na dieta. O efeito do aumento da produção de propionato sobre a síntese do leite é geralmente relacionado como mediado pela indução da troca de substâncias lipogênicas induzidas pela insulina. Propionato e glicose estimulam à liberação de insulina (SUTTON, 1985), sugerindo que o aumento na secreção de insulina resultante da ingestão de baixa quantidade de fibra reduziria a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo, assim reduzindo o suprimento de lipídios a

glândula mamária. A insulina também estimula o uso de acetato e butirato para a síntese de lipídios nos tecidos adiposos.

Na Tabela 9 são apresentados os teores das frações dos CHOT e as taxas de degradação das frações A+B₁ e fração B₂.

Tabela 8 - Fracionamento dos carboidratos totais dos alimentos utilizados como componentes da dieta e taxa de degradação das frações

Alimento	Frações (%CHOT)				Taxa de degradação em h ⁻¹	
	FR-A	FR-B ₁	FR-B ₂	FR-C	kd (A+B ₁) e intervalo	kd (B ₂)
S. Milho	1,14	43,24	38,86	16,77	0,2353 (0,1543-0,3164)	0,09
MMF	3,66	73,35	20,77	2,21	0,2196 (-4,356-0,8748)	0,19
MRA	4,13	76,75	18,02	1,10	0,3147 (-0,1623-0,7917)	0,27
MRD	4,38	72,72	20,78	2,13	0,2654 (0,2421-0,2888)	0,16
F. Trigo	4,94	37,91	37,90	19,25	0,0879 (0,0630-0,1129)	0,01
F. Soja	4,44	73,24	20,35	1,97	0,083 (0,0606-0,1055)	0,02

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm).

Verifica-se na tabela acima que os teores das frações dos CHOT é semelhante para o milho processado de diferentes formas. Verifica-se no entanto que os teores da fração C para o MRA é aproximadamente 50% menor em relação ao MMF e MRD. Este fato pode ser justificado pela liberação da maior parte do pericarpo que recobre os grãos de milho e perda durante o processo de moagem neste tratamento. O pericarpo representa, em média, 5% do grão, sendo a estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos, sendo responsável por até 54% da fibra do grão de milho (PAES, 2006). Este é constituído basicamente por material lignocelulósico. Para a silagem de milho, farelo de soja e farelo de trigo os valores de todas as frações estão próximos aos das tabelas do “*Cornell Net Carbohydrate and Protein System*” (CNCPS).

A velocidade de degradação das frações A+B₁ do milho para o MRA e MRD foi em média 30% superior ao MMF indicando que provavelmente a umidade das partículas reconstituídas e a liberação do pericarpo favoreceu a atividade enzimática microbiana. Sullins et al. (1971) propuseram que o amolecimento promove mudanças na degradação da matriz de proteína dos grânulos de amido, porém em grãos reconstituídos e ensilados. A sua análise microscópica revelou que a estrutura do endosperma do grão

reconstituído foi modificado e aumentou da acessibilidade do grânulos de amido.

Quase as totalidades dos trabalhos revisados empregam a reconstituição como preparação para ensilagem dos grãos e não servem para explicar os resultados obtidos neste trabalho. Entre 1971 e 1981, vários estudos (Sullins et al, 1971;. Wagner et al, 1974;. Hibberd et al, 1981). indicaram que o início da germinação poderia explicar o alterações químicas observadas em grãos de sorgo reconstituídos. No nosso trabalho não foi verificado germinação devido ao curto período de tempo utilizado. Por outro lado, quando os grãos de milho foram moídos grosseiramente e em seguida passam pelo processo de reconstituição (MRD), ocorreu uma pequena elevação da temperatura das partículas de milho durante este processo, provavelmente devido a um início de fermentação, o que poderia explicar a maior velocidade de degradação deste processamento em relação ao MMF.

Sullins et al. (1971) detectou que a germinação de grãos durante a ensilagem promove libertação de hormônios como a giberelina, que podem migrar para a camada de aleurona e estimular a libertação de protease e de amilase pela semente. A protease inicia a degradação da proteína que envolve os grânulos de amido e favorece o ataque microbiano em nível de rúmen. Verificou-se também que a reconstituição antes da operação de ensilagem com milho quebrado inibiu a degradação do endosperma e da matriz proteica, porque os hormônios foram incapazes de mover a partir do embrião para a camada de aleurona e ativar estas enzimas.

Assim a moagem ou quebra antes da reconstituição destrói esta via de sinalização e inibe a maior parte do processo autolítico (SULLINS et al.,1971). No entanto, algumas enzimas presentes nas partículas de grão de ainda foram ativadas quando a água era adicionada, o que poderia resultar em alguma degradação enzimática (SULLINS et al., 1971).

Na Tabela 10 encontram-se os valores médios estimados da porção indegradável (U), o período de latência (λ) e o volume final de gases da fermentação microbiana (V_f) para os alimentos utilizados no presente estudo.

Tabela 9 – Valores médios estimados para o período de latência (λ), porção indegradável (U) e volume final de gases da fermentação microbiana (Vf) para os alimentos utilizados

Alimentos	Parâmetros		
	λ	U	Vf
S. Milho	0,37	31,27	11,00
MMF	1,75	7,47	16,26
MRA	0,69	9,31	15,57
MRD	2,38	5,91	15,22
F. Trigo	0,94	43,71	10,80
F. Soja	0,35	6,02	18,71

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); λ = (horas); U = fração indegradável (%); Vf = volume máximo de gás produzido (mL).

A latência, que representa o tempo de preparo do substrato para a digestão microbiana foi maior para o MRD. Porém, apesar do maior tempo de colonização este alimento apresentou as maiores taxas de degradação.

Segundo Jobim (1996) os grãos de milho, mesmo quando triturados ou parcialmente quebrados, são protegidos pelo pericarpo, o qual é muito resistente à degradação microbiana e quando os grãos de milho são moídos grosseiramente e em seguida passam pelo processo de reconstituição (MMG), não ocorre liberação do pericarpo. Este fato pode retardar a ação microbiana, pois considerando que os grãos de milho foram moídos a 5 mm e supondo que pelo menos um dos lados permaneceu com o pericarpo aderido. O mesmo ocorre com o MMF, porém a superfície específica para ação microbiana é maior devido a moagem a 1 mm.

Naturalmente a silagem de milho e o farelo de trigo apresentaram maiores valores de fração indegradável devido a maior porcentagem de fibra na composição (Tabela 1, item 4.2.1).

4.4. CONCLUSÕES

A utilização da reconstituição antes ou depois da moagem grosseira não altera o consumo e a digestibilidade da matéria seca. Os processamentos estudados também não melhoram a produção, a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos do leite em relação ao tratamento convencional, neste caso o milho moído fino (1 mm).

Em geral o milho moído fino (1 mm) causa menor variação no consumo e digestibilidade, indicando que a moagem mais uniforme e a superfície específica da dieta são fatores importantes para menores flutuações no metabolismo ruminal.

Na reconstituição seguida de moagem a 5 mm, ocorre a liberação da maior parte do pericarpo que recobre os grãos de milho e perda deste pericarpo durante o processo de moagem o que promove aumento na velocidade de degradação das frações A+B₁.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control.**, Boston, v.19, n.6, p.716-723, Dec. 1974.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis. 15th ed.** Washington D. C., 1141 p. 1990.
- BACH KNUDSEN, K.E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 67, p. 319-338, 1997.
- BOLSEN, K. RILEY, J. Sources of roughage and milo for finishing steers. Proc. Kansas State University Cattlemen's Day Report. **Report of Progress** 262. 1976.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos da nutrição de ruminantes.** Piracicaba: Livroceres, 380p. 1979.
- CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N.; LAUER, J.G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.85, n.11, p.3008-3012, 2002.
- COSTA, M.A.L. **Desempenho de novilhos zebuínos e validação das equações do NRC (2001) para predizer o valor energético dos alimentos em condições brasileiras.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 80p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. et al. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados através de indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31. P.1521-1530, 2002.
- Griinari, J. M.; D. A. Dwyer, M. A. McGuire; D. E. Bauman; D. L. Palmquist; K. V. V. Nurmela. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.81: 1251-1261. 1998.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications).** Washington: USDA, 20p. (Agricultural Handbook N^o. 379). 1975.
- GRANT, R.J., ALBRIGHT, J.L. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.12, p.2791- 2803, 1995.
- HEALY, B.J. et al. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2227-2236, 1994.

- HIBBERD, C.A. WAGNER, D.G. HINTZ, R.L. Effect of Length of Reconstitution on the Chemical Composition and In Vitro Digestibility of Sorghum Grain. **Animal Science Research Report**. p184-188, 1981.
- IDF – INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Whole milk determination of milkfat, protein and lactose content. **Guide for the operation of mid-infra-red instruments**. Bruxelles: 12p. (IDF Standard 141 B). 1996.
- JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**. v.76, n.12, p.3851-3863. 1993.
- JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of added fat and calcium on in vitro formation of insoluble fatty acid soaps and cell wall digestibility. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 957-963, 1982.
- JOBIM, C.C., REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. Avaliação do valor nutritivo das silagens de grãos úmidos e de espigas de milho sem brácteas. **Revista Unimar**, v.18, n.3, p.545-552, 1996.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardizations of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- MALAFAIA, P.A.M., VALADARES FILHO, S.C., VIEIRA, R.A.M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p. 790-796, 1998.
- MATIS, J.H., Gamma time-dependency in Blaxter's compartmental model. **Biometrics**, v.28, 597-602, 1972.
- MATIS, J.H., WEHRLY, T.E., ELLIS, W.C., Some generalized stochastic compartmental models for digesta flow. **Biometrics**, v.45, p.703-720, 1989.
- MELLO JR., C.A. Processamento de grãos de milho e sorgo visando aumento do valor nutritivo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4., Piracicaba, 1991. **Anais**. Piracicaba, FEALQ, p.263-284, 1991.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 381p. 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 234 p. 1996.
- OLIVEIRA, A.S. **Casca de café ou casca de soja em substituição ao milho em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras**.

- Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 90p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- ØRSKOV, E. R., MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, p. 499-503, 1979.
- ØRSKOV, E.R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, Albany, v.63, p.1624-1633, 1986.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A. Corn grain for cattle: influence of processing on site and extent of digestion. In: SOUTHWEST NUTRITION CONFERENCE, 2005. Nebraska. **Proceedings...** Nebraska, p. 86-112, 2005.
- PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Circular Técnica**, Embrapa Milho e Sorgo. 2006.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. **Metabolismo de lipídeos**. In: Nutrição de Ruminantes, Telma Teresinha Berchielli, Alexandre Vaz Pires, Simone Gisele de Oliveira (Ed.) – Jaboticabal: Funep, 583 p., 2006.
- PEREIRA, J.R.A.; ROSSI JR, P. **Manual prático de avaliação de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 25p. 1995.
- PFLUGFELDER, R. L., L. W. ROONEY, and L. M. SCHAKE. The role of germination in sorghum reconstitution. **Animal Feed Science and Technology**. 14:243-254. 1986.
- POND, K.R.; et al. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. **British Journal of Nutrition**, v.60, p.571-595. 1988.
- RILEY, J. G., BOLSEN, K. K. FINK, G. Sources of roughage and milo for finishing steers. Proc. Kansas State University Cattlemen's Day **Report. Report of Progress** 230. 1975.
- SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- SNIFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate end protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.
- SUTTON, J.D. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.3376-3393, 1985.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **User's guide: statistics**. versão 9.0. Cary: 2007.

- TEMPELMAN, R. J. Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. **Journal of Animal Science**. 82 (E. Suppl.):E162–E172, 2004.
- TAIT, R.M., BEAMES, R.M., Processing and preservation of cereals and protein concentrates. In: E.R. Orskov (Editor), **Feed Science**. Elsevier, Amsterdam, pp. 151-175. 1988.
- UDÉN, P.; ROUNSAVILLE, R. T.; WIGGANS, G. R.; VAN SOEST, P. J. (1982) The measurement of liquid and solid digesta retention in ruminants, equines and rabbits given timothy (*Phleum pratense*) hay. **British Journal of Nutrition**., 48(2): 329-339.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Ithaca, New York: Cornell, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A.; Methods for dietary fiber, neutral fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VIEIRA, R.A.M.; TEDESCHI, L.O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. **Journal of Theoretical Biology**, doi: 10.1016/j.jtbi.2008.08.014, 2008.
- SCHAKE, L. M., J. K. RIGGS, O. D. BUTLER. Commercial feedlot evaluation of four methods of sorghum grain processing. **Journal of Animal Science**. 34:926-930. 1972.
- SILVA, P.A. **Valor energético do capim-elefante em diferentes idades de rebrota e estimativa da digestibilidade *in vivo* da fibra em detergente neutro**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 72p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- SULLINS, R. D., ROONEY, L. W., RIGGS. J. K. Physical changes in the kernel during reconstitution of sorghum grain. **Cereal Chemistry**. 48:567-575. 1971.
- WEISS, W. P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61, 1999, **Proceedings**., Ithaca: Cornell University, p. 176-185, 1999.

5. CAPÍTULO 3

Teores de amido fecal, parâmetros ruminais e síntese microbiana em vacas alimentadas com grãos de milho reconstituído.

5.1. INTRODUÇÃO

A presença de uma matriz protéica ao redor do grânulo de amido, dificulta a ação das enzimas digestivas (KOTARSKI et al., 1992) e conseqüentemente pode reduzir a digestibilidade do amido e até mesmo ocasionar perdas nas fezes. Essa matriz protéica é mais significativa nos grãos de sorgo e milho que nos demais cereais (SNIFFEN et al., 1987). O grão inteiro, com o pericarpo intacto, é muito resistente à digestão pelos ruminantes e impede a adesão de bactérias (BEAUCHEMIN et al. 1994; McALLISTER et al. 1994).

Visando aumentar a susceptibilidade da molécula de amido ao ataque enzimático no rúmen, várias formas de processamento de grãos vêm sendo estudadas. Estas alterações na estrutura do grânulo de amido aumentam a digestão amilolítica por parte das enzimas de microrganismos ruminais. O processamento físico na presença de umidade permite uma maior digestão enzimática (NOCEK e TAMMINGA, 1991). Os microrganismos ruminais necessitam também de condições de meio específicas para permitir a normalidade do metabolismo e crescimento e maior utilização do amido. O pH ruminal é o principal fator químico que afeta o crescimento microbiano, devendo manter-se na faixa de $6,7 \pm 0,5$ para permitir a adequada atividade microbiana (VAN SOEST, 1994). O crescimento microbiano pode ser afetado se ocorrer queda acentuada no pH quando dietas com alta quantidade de amido rapidamente fermentável são fornecidas. (SNIFFEN et al., 1992).

A produção de proteína microbiana é resultado da eficiência microbiana (g de nitrogênio bacteriano / kg de matéria orgânica digerida no rúmen) (SNIFFEN et al. 1992). Porém, a proteína e os lipídios que estão presentes na matéria orgânica contribuem pouco com a energia para os microrganismos, assim estudos têm sugerido que o mais apropriado seria expressar a eficiência microbiana como função da digestão de carboidratos

no rúmen. Desta forma, a produção microbiana (gN) passa a ser resultado da quantidade de substrato fermentado no rúmen (carboidrato) e da eficiência microbiana (gN / kg de carboidrato fermentado) (RUSSEL et al. 1992). Assim quanto maior for a digestibilidade ruminal da fonte de amido, seja devido ao processamento ou não, maior a síntese de proteína microbiana.

Deste modo, faz-se necessário determinar ou estimar a produção de proteína microbiana, pois a concentração de amônia ruminal representa uma medida de excesso e não necessariamente vai refletir a eficiência de crescimento de todos os microrganismos ruminais (MORRISON e MACKIE, 1996; OBA e ALLEN, 2003).

Com relação a avaliação das perdas de amido nas fezes, Owens e Zinn (2005) sugeriram esta como estimativa da digestibilidade do amido e do teor de energia líquida de manutenção e de ganho do milho. As equações descritas por estes autores e por Zinn et al. (2007) para a estimativa da digestibilidade do amido a partir do teor de amido fecal apresentam R^2 de 0,90 a 0,96. Zinn et al. (2002) já haviam sugerido utilizar o teor de amido fecal para avaliar programas nutricionais em confinamentos. Segundo eles, maiores concentrações de amido nas fezes indicam também uma provável alteração no local de digestão, passando do rúmen para o pós rúmen.

Assim, desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de avaliar o efeito da reconstituição associada a moagem grosseira dos grãos de milho sobre a digestibilidade e os teores de amido fecal em vacas leiteiras, o pH ruminal e a concentração de ácidos graxos voláteis e a síntese de proteína microbiana ruminal.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Local, animais, tratamentos e coletas

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata Mineira, com 649 m de altitude. Geograficamente está definida pelas coordenadas de 20°45'20" de latitude sul e 42°52'40" de longitude oeste. De acordo com dados fornecidos pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, o clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical, segundo a classificação proposta por Köppen.

Foram utilizadas seis vacas da raça Holandesa Malhada de Preto, puras e puras por cruza, distribuídas em dois quadrados latinos 3 X 3, balanceados de acordo com o período de lactação para que todas as vacas apresentassem no final do experimento menos de 150 dias de gestação.

Os animais foram manejados em baias individuais, tipo "Tie Stall", onde receberam, alimentação à vontade duas vezes ao dia, às 6:30 e às 15:30 horas. O experimento constou de três períodos com duração de 21 dias cada um, sendo os nove primeiros para adaptação as dietas e os demais para a coleta de dados. Os tratamentos foram compostos pela utilização de diferentes formas de processamento do milho no concentrado, sendo: MMF - Milho duro moído fino (1mm), MRA - Milho duro grão reconstituído e moído grosso (5 mm) e MRD - Milho duro moído grosso (5 mm) e reconstituído.

As dietas foram calculadas de acordo com o NRC (2001), de forma a atender as exigências nutricionais de vacas com 600 kg de peso corporal e produção diária 30kg de leite com 3,5% de gordura. Os cálculos foram feitos de modo que as dietas fossem isoprotéicas. As dietas foram constituídas de silagem de milho (*Zea mays* - híbrido AG-1051) na proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado, na base da matéria seca.

No capítulo 2, na Tabela 1 é apresentada a composição bromatológica dos ingredientes e suplementos utilizados no experimento e

nas Tabelas 2 e 3 são apresentadas as proporções dos ingredientes utilizados na formulação dos concentrados e a composição bromatológica estimada dos concentrados, respectivamente. Na Tabela 4 e apresentada a proporção dos ingredientes utilizados nas dietas.

5.2.2. Determinação da digestibilidade e do teor de amido nas fezes

Com objetivo de determinar a digestibilidade da fração amido e os teores de perda de amido nas fezes foram efetuadas análises dos teores amido fecal por meio da técnica de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). Os espectros das amostras de fezes foram obtidos em intervalos de 2 nm, em uma amplitude de 1100 a 2498 nm, utilizando o aparelho NIRSystem 5000 (Foss NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA) do Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal, ESALQ - USP. Os dados espectrais foram armazenados como $\log 1/R$ (R = reflectância).

Para determinação do coeficiente de digestibilidade aparente total do amido foram efetuados os cálculos segundo Coelho da Silva e Leão (1979).

5.2.3. Determinação de parâmetros ruminais

Para medição do pH foram colhidos 100 mL do líquido ruminal, aproximadamente, via sonda esofágica segundo Ortolani (1981), quatro horas após a alimentação fazendo-se a leitura imediatamente com auxílio de um potenciômetro digital, no 16º dia de cada período experimental.

Para a determinação da concentração dos ácidos graxos voláteis (AGVs): acético, propiônico e butírico, foram coletados 50 mL do líquido de rúmen nos mesmos dias e horários e filtrados em gaze dupla. No laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV, foram retiradas alíquotas de 2 mL, nas quais foram adicionados 1 mL de ácido metafosfórico a 20% e 0,2 mL de ácido fênico a 1% (como padrão interno). Em seguida foram centrifugadas a 17000 rpm, por 15 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para as leituras das concentrações de ácidos graxos voláteis (AGVs). As leituras dos AGVs foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca SHIMADZU SPD-10 A VP, detector Ultra Violeta (UV) e comprimento de ondas de 210 nm. A coluna usada foi C18 (fase reversa). Como fase

móvel utilizou-se o ácido fórmico 0,1% em água, fluxo de 1,5 mL/minuto, pressão na coluna de 168 Kgf e volume injetado 20 uL.

5.2.4. Estimativa da produção de compostos microbianos

Também no 16º dia de cada período experimental foram coletadas foi coletado ainda uma amostra “spot” de urina foi quatro horas após a alimentação com a finalidade de estimar eficiência microbiana ruminal. Depois de homogêneas e filtradas, foram obtidas alíquotas de 10 mL que foram diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e a precipitação do ácido úrico, e armazenadas a - 20°C para posteriores análises de nitrogênio total, uréia, alantoína, ácido úrico e creatinina.

As análises de alantoína na urina e no leite foram determinadas pelo método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987), descrito por Chen e Gomes (1992). As determinações de creatinina e do ácido úrico na urina e a determinação da uréia no soro e na urina foram realizadas por meio de kits comerciais.

O volume urinário médio diário foi obtido, dividindo-se a excreção total de creatinina (concentração de creatinina em mg/kg de PV multiplicada pelo peso vivo) pela concentração de creatinina na amostra spot de urina, sendo o valor de 24,4 mg/kg de PV de creatinina, utilizado para a estimativa do volume urinário. Esse valor foi a média encontrada por Pereira (2003), para vacas nos terços inicial e médio da lactação. A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e das quantidades de alantoína secretadas no leite, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de DP (Y, mmol/dia), por meio da equação $Y = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas e $0,385 PV^{0,75}$ a contribuição endógena para excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (Y, gN/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), por

meio da equação $Y = (70X) / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 representa o conteúdo de N na purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116; a relação N-purina:N total nas bactérias (Chen e Gomes, 1992).

5.2.5. Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino duplo paralelo 3 x 3. O modelo linear misto dos efeitos correspondentes foi o seguinte:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + c_k + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

onde: y_{ijk} representa a observação da vaca k dado tratamento i no período j ; α_i representa o efeito fixo do i -ésimo tratamento, $i = 1, 2, \dots, n_t$; β_j representa o efeito fixo do período j , $j = 1, 2, \dots, n_p$; e c_k representa o efeito aleatório da vaca k , $k = 1, 2, \dots, n_c$, com variância σ_c^2 .

Os dados coletados foram analisados por intermédio o comando MIXED do programa estatístico SAS (SAS, 2007). Este procedimento define as variáveis fixas e aleatórias do modelo, utiliza o método de máxima verossimilhança para estimar os componentes de variância.

Neste projeto o quadrado latino possui um desenho ou modelo de medidas repetidas, segundo o qual as vacas são observadas ao longo do tempo, embora com designações de tratamento diferentes em cada período.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores de amido fecal e digestibilidade do amido.

O tipo de processamento alterou claramente o local de digestão do amido, onde nos tratamentos envolvendo a reconstituição (MRA e MRD) ocorreu em média 50% de aumento nas perdas amido nas fezes. Este fato se deve as mudanças da gravidade específica dos grãos após a moagem a 1 ou 5 mm, promovendo diferenças na taxa de passagem e efeitos na utilização do amido.

Tabela 1 – Teores médios de amido fecal e digestibilidade do amido

VARIÁVEL	TRAT	PERIODO			p-value	CV %
		1	2	3		
Amido fecal (%MS)	MMF	6,490	4,095 ^B	5,24 ^B	<0,0001	19,04
	MRA	10,380	10,155 ^A	12,17 ^A	0,9186	
	MRD	11,110	12,53 ^A	10,265 ^A	0,3216	
DAMIDO (%)	MMF	86,67	90,96	95,26	0,008	3,52
	MRA	84,82	84,53	92,65	0,001	
	MRD	79,07	86,51	88,44	0,488	

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si; CV = coeficiente de variação (%).

Segundo Huber, 1976 e Lee, 1977, o amido que não é digerido no rúmen tem uma taxa de passagem muito rápida pelo intestino delgado, e uma grande parte passa para o intestino grosso sofrendo fermentação microbiana. Neste local, devido à produção de ácidos graxos voláteis e ácido láctico, o pH da digesta pode reduzir ao ponto de causar problemas para a mucosa intestinal, amolecimento das fezes e acidose local(CAETANO, 2008).

De acordo com Owens et al., (1986), a glicose absorvida no intestino teoricamente apresentaria uma eficiência energética 42% superior em relação aos AGV produzidos pela fermentação da glicose no rúmen. Entretanto, a maior fermentação de amido que se obtém com fontes de amido de alta degradabilidade ruminal poderia garantir um maior aporte de energia total para o animal.

Alguns trabalhos têm demonstrado que o aumento do fluxo de proteína para o intestino delgado acarreta um aumento na síntese de amilase pancreática (HUNTINGTON, 1997). Desta forma, o incremento no fluxo de proteína para o intestino acarreta um aumento na digestibilidade do amido que chega ao intestino delgado e um aumento na concentração portal de glicose (TANIGUCHI et al., 1995). Estes resultados demonstram a importância da sincronização da degradabilidade ruminal entre as fontes de proteína e amido.

A utilização das fontes de proteína e de amido de alta degradabilidade ruminal acarreta um aumento na eficiência microbiana e conseqüentemente um maior fluxo de proteína para o intestino delgado (SPICER et al., 1986; STREETER et al., 1989; ZINN, 1993a, b), aumentando a produção de amilase e permitindo melhor digestão do amido no intestino.

O amido que escapa a digestão ruminal pode muitas vezes não sofrer digestão no intestino delgado. Quando o amido chega ao intestino grosso, sofre fermentação microbiana. Neste local, devido à produção de ácido láctico e ácidos voláteis, o pH da digesta diminui até o ponto de aumentar a osmolaridade, irritar a mucosa intestinal e provocar diarreia e diminuição da MS fecal (CHANNON et al. 2004).

Na Tabela 12 são apresentados os valores médios para alguns parâmetros ruminais obtidos para as dietas experimentais.

Tabela 2 - Teores médios de ácido láctico (AL), ácido acético (AA), ácido butírico (AB) e pH ruminal obtidos para as dietas experimentais

VARIÁVEL (mmol/dL)	TRAT	PER			p-value	CV %
		1	2	3		
AA	MMF	2,11	1,55	3,57	0,1832	30,84
	MRA	2,56	1,46	3,43	0,0059	
	MRD	4,42	2,10	3,24	0,2621	
AP	MMF	0,64 ^b	0,75 ^{ab}	1,2 ^a	0,608	13,41
	MRA	0,80 ^{ab}	0,72 ^b	1,17 ^a	<0,0001	
	MRD	0,63 ^b	0,91 ^{ab}	1,26 ^a	0,3194	
AB	MMF	0,08	0,06	0,06	0,1476	21,79
	MRA	0,07	0,06	0,10	0,5047	
	MRD	0,06	0,07	0,06	0,0705	
pH	MMF	6,25	6,25	6,25	0,0007	1,89
	MRA	6,05	6,10	6,10	0,0108	

MRD 6,45 6,25 6,40 0,0527

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem ente si; CV = coeficiente de variação (%).

Não foram encontradas diferenças significativas para as concentrações de ácido acético, propiônico e butírico entre as dietas avaliadas. Apesar de não terem sido encontradas diferenças verifica-se um aumento numérico na concentração de AA e um aumento significativo nas concentrações de AP no terceiro período experimental condizente com os maiores valores de digestibilidade da MS, MO, PB e FDNcp observados neste período.

O pH ruminal não variou significativamente entre as dietas avaliadas, sendo que para o MMF, os valores foram constantes nos três períodos. Pereira (2003), trabalhando com vacas no terço inicial da lactação, alimentadas com dietas à base de farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho, com 15,5% de PB na MS da dieta total, observou valores de pH (6,48; 6,10; 6,05 e 5,88) próximos aos relatados nesse experimento, nos intervalos de amostragem de 0, 2, 4 e 6 horas após a alimentação, respectivamente. Situando-se esses valores bem próximos aos relatados na presente pesquisa e considerados adequados para um metabolismo ruminal normal.

Na Tabela 6 síntese de compostos nitrogenados microbianos (NM) e eficiência microbiana (EM) obtido para as dietas.

Tabela 3 - Média da síntese de compostos nitrogenados microbianos (NM) e eficiência microbiana (EM)

VARIÁVEL (mmol/dia)	TRAT	PER			p-value	CV %
		1	2	3		
NM (g/dia)	MMF	213,43	226,37	527,47 ^A	0,0065	14,7
	MRA	267,97	185,69	311,1 ^B	<0,0001	
	MRD	318,01	234,86	523,25 ^A	0,0427	
EM (g/kgNDT)	MMF	78,32 ^{Bb}	80,25 ^b	186,72 ^{Aa}	0,006	15,5
	MRA	106,77 ^{AB}	76,94	105,17 ^B	<0,0001	
	MRD	137,29 ^{Aab}	99,95 ^b	177,24 ^{Aa}	0,0239	

MMF= Milho Moído Fino (1mm); MRA = Milho Grão Reconstituído e Moído (5mm); MRD = Milho Moído e Reconstituído (5mm); Médias seguidas de mesma letra minúscula na mesma linha e mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem ente si; CV = coeficiente de variação (%).

As dietas contendo MMF e MRD resultaram em maiores valores de NM somente no terceiro período, não apresentando diferença entre tratamentos, confirmando os dados apresentados sobre maior digestibilidade da MS e MO neste mesmo período experimental. A eficiência microbiana variou entre tratamentos e períodos, sendo menor para a dieta contendo MMF no primeiro período e menor para MRA no terceiro período. Para as dietas contendo MMF e MRA os valores foram menores que os valores sugeridos pelo NRC (2001) de 130 g PBmic/kg de NDT. Somente a dieta contendo MRD atingiu o valor recomendado pelo NRC (2001), sendo em média 138,16 g/kg NDT.

Ao que tudo indica, apesar das dietas terem sido calculadas de acordo com o NRC (2001) o suprimento de energia, para a síntese de proteína microbiana, principal fonte de aminoácidos para vacas em lactação (SCHWAB, 1996), não foi satisfatório. Outros fatores que poderiam interferir na síntese microbiana como o pH ruminal apresentaram-se dentro da faixa ideal. Isto pode ser confirmado pela produção de leite, que apresentou valores cerca de 30% abaixo do esperado.

5.4. CONCLUSÕES

Os tratamentos que envolveram a reconstituição associada a moagem grosseira do milho promovem maiores perdas de amido nas fezes, porém a digestibilidade total do amido não varia com o processamento, sendo igual para todas as dietas, e com valores próximos a 80%.

Os processamentos estudados não alteram as concentrações de ácido acético, propiônico e butírico, sendo que dieta contendo MMF promove menor variação no pH ruminal. A reconstituição depois da moagem a 5 mm aumenta a eficiência microbiana ruminal.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEAUACHEMIN, K. A.; McALLISTER, T.A.; DONG, Y.; FARR, B.I.; CHENG, K.J. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 236 - 246, 1994.
- CAETANO, M. **Estudo das perdas de amido em confinamentos brasileiros e do uso do amido fecal como ferramenta de manejo de bovinos confinados**. Piracicaba – ESALQ, (Dissertação de mestrado), 76p., 2008.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK. (occasional publication). 21p, 1992.
- HUBER, T.L. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 43, p. 902-909, 1976.
- HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v.75, p.852-867, 1997.
- KOTARSKI, K.K.; WANISHA, R.D.; THURN, K.K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 178 - 184. 1992.
- SNIFFEN, C.J.; ROBINSON, P.H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 425 – 434, 1987.
- LEE, G.J. Changes in composition and pH of digesta along the gastrointestinal tract of sheep in relation to scouring induced by wheat engorgement. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 28, p. 1075-1082, 1977.
- McALLISTER, T.A.; RODE, L.M.; MAJOR, D.J. CHUNG, K.J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 3004 - 3012, 1994.
- MORRISON, M.; MACKIE, R.I. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal Agriculture Research**, v.47, n.2 p. 227-246, 1996.
- NOCEK, J.E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, p. 3598-3629, 1991.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 381p. 2001.

- OBA, M.; ALLEN, M. Dose-response effects of intrauminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or midlactation. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2922- 2931, 2003.
- ORTOLONI, E.L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, v.33, n.2, p.269-275, 1981.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A. Corn grain for cattle: influence of processing on site and extent of digestion. **Proceedings of the Southwest Nutrition Conference**, p.86-112, 2005.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 63, p. 1634-1648, 1986.
- PEREIRA, M. L. A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RUSSELL, J. B.; O CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3551 – 3561, 1992.
- SCHWAB, C.G. Amino acid nutrition of the dairy cows: current status. In: **CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES**, Proceedings, Cornell University, Ithaca, NY, 1996. p.184-198.
- SNIFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate end protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.
- SPICER, L.A.; THEURER, C.B.; SOWE, J.; NOON, T. H. Ruminant and post-ruminal utilization of nitrogen and starch from sorghum grain-, corn- and barley-based diets by beef steers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 62, p. 521-530, 1986.
- STREETER, M.N.; WAGNER, D.G.; OWENS, F.N.; HIBBERD, C.A. Combinations of highmoisture harvested sorghum grain and dry-rolled corn: effects on site and extent of digestion in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 67, p. 1623-1633, 1989.
- TANIGUCHI, K.; HUNTINGTON, G.B.; GLENN, B.P. Net nutrient flux by visceral tissues of beef steers given abomasal and ruminal infusion of casein and starch. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 73, p. 236-249, 1995.

- VAN SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminants**. Ithaca: Cornell University Press, 476 p. 1994.
- ZINN, R.A.; BARRERAS, A.; CORONA, L.; OWENS, F.N.; WARE, R.A. Starch digestion by feedlot cattle: predictions from analysis of feed and fecal starch and nitrogen. **Journal of Animal Science**, v.85, p.1727-1730, 2007.
- ZINN, R.A. Influence of processing on the feeding value of barley for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 71, p. 3-10, 1993a.
- ZINN, R.A. Influence of processing on the feeding value of oats for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 71, p. 2303-2309, 1993b.
- ZINN, R.A.; OWENS, F.N.; WARE, R.A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p. 1145-1156, 2002.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Processamento de grãos de milho baseado em reconstituição da umidade, associada à moagem grosseira (5 mm), não altera o consumo e a digestibilidade da matéria seca, bem como a produção e composição do leite.

A reconstituição da umidade e moagem a 5 mm dos grãos de milho não altera a concentração ruminal de ácido acético, propiônico e butírico, sendo que reconstituição feita depois da moagem aumenta a eficiência microbiana ruminal. Ocorre maiores perdas de amido nas fezes com a utilização destas formas de processamento, porém a digestibilidade total do amido não varia.

Na reconstituição feita antes da moagem a 5 mm, maior parte do pericarpo aderido ao grão de milho é liberado, sendo que estes processamentos não alteram a estrutura dos grânulos de amido e a quantidade de amido liberado pela ação enzimática.

7. APÊNDICE

Tabela – Perfil de ácidos graxos do leite, separados por tamanho da cadeia e número de ligações, obtidas para as dietas experimentais

PER	ANIM	TRT	AGCC	AGCM	AGCL	AGS	AGI	AGPI	AGMI
1	1	MRD	6,76	8,51	68,21	73,95	25,41	1,94	23,56
1	2	MRD	6,12	8,08	69,38	71,62	27,44	3,11	24,73
1	3	MRA	6,41	7,12	70,46	74,16	24,92	2,21	23,10
1	4	MRA	6,61	8,82	67,31	71,93	27,40	1,89	25,61
1	5	MMF	6,27	8,90	68,29	71,42	27,88	2,48	25,51
1	6	MMF	6,32	8,02	69,29	74,21	25,06	2,24	23,07
2	1	MRA	6,30	7,33	70,22	72,88	26,33	2,10	24,49
2	2	MRA	6,29	7,34	70,22	73,09	26,11	2,25	24,13
2	3	MMF	1,59	7,66	73,99	71,75	27,33	2,39	25,32
2	4	MMF	6,69	9,09	66,85	72,14	26,99	2,27	25,07
2	5	MRD	5,88	7,60	71,83	69,30	29,92	2,52	27,60
2	6	MRD	6,33	7,45	70,28	73,14	26,17	2,08	24,30
3	1	MMF	6,26	7,77	69,36	72,34	26,86	2,26	24,87
3	2	MMF	6,10	7,32	70,23	71,97	27,14	2,77	24,70
3	3	MRD	6,35	7,92	68,89	73,86	25,40	2,33	23,30
3	4	MRD	6,79	9,00	66,74	73,48	25,80	2,12	23,87
3	5	MRA	6,03	7,78	70,69	72,94	26,37	2,19	24,32
3	6	MRA	6,40	8,00	69,05	74,31	25,08	1,80	23,45

Tabela 3 – Perfil de ácidos graxos do leite obtidos para as dietas experimentais (g/100g)

PER	ANIM	TRT	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C11:0	C12:0
1	1	MRD	2,87	2,32	1,57	3,66	0,43	0,09	4,34
1	2	MRD	2,68	2,05	1,40	3,24	0,49	0,17	4,18
1	3	MRA	2,89	2,17	1,35	2,94	0,47	0,08	3,65
1	4	MRA	2,87	2,23	1,51	3,67	0,49	0,10	4,56
1	5	MMF	2,60	2,16	1,51	3,84	0,40	0,11	4,54
1	6	MMF	2,81	2,13	1,39	3,39	0,35	0,10	4,18
2	1	MRA	2,76	2,15	1,39	3,10	0,40	0,09	3,74
2	2	MRA	2,79	2,13	1,37	3,08	0,41	0,09	3,76
2	3	MMF	0,02	0,39	1,18	3,14	0,46	0,10	3,97
2	4	MMF	2,88	2,27	1,55	3,82	0,47	0,10	4,70
2	5	MRD	2,49	2,01	1,38	3,36	0,29	0,07	3,88
2	6	MRD	2,89	2,10	1,34	3,18	0,35	0,07	3,85
3	1	MMF	2,68	2,15	1,44	3,30	0,41	0,09	3,97
3	2	MMF	2,75	2,04	1,31	3,00	0,43	0,12	3,78
3	3	MRD	2,73	2,18	1,44	3,28	0,48	0,09	4,08
3	4	MRD	2,93	2,31	1,55	3,81	0,45	0,10	4,64
3	5	MRA	2,57	2,09	1,38	3,38	0,33	0,08	3,99

3	6	MRA	2,86	2,15	1,40	3,36	0,41	0,08	4,15
PER	ANIM	TRT	C12:1	C13:0	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C17:1
1	1	MRD	0,12	0,25	12,44	1,83	33,46	0,47	0,20
1	2	MRD	0,16	0,43	11,39	2,46	34,61	0,58	0,27
1	3	MRA	0,13	0,25	11,65	1,98	39,97	0,46	0,25
1	4	MRA	0,16	0,27	12,96	1,83	33,19	0,42	0,24
1	5	MMF	0,14	0,27	12,42	1,92	31,49	0,47	0,25
1	6	MMF	0,11	0,26	12,55	1,85	36,26	0,47	0,22
2	1	MRA	0,11	0,25	12,07	1,94	33,45	0,51	0,21
2	2	MRA	0,11	0,26	11,99	1,97	34,19	0,50	0,21
2	3	MMF	0,13	0,29	12,29	2,07	38,28	0,53	0,26
2	4	MMF	0,15	0,26	13,27	1,80	32,35	0,42	0,19
2	5	MRD	0,09	0,19	11,38	1,53	29,12	0,51	0,30
2	6	MRD	0,10	0,22	12,38	1,68	34,64	0,48	0,24
3	1	MMF	0,12	0,23	12,35	2,04	31,75	0,50	0,18
3	2	MMF	0,13	0,27	11,71	2,30	34,28	0,53	0,23
3	3	MRD	0,14	0,27	12,48	2,00	36,59	0,46	0,22
3	4	MRD	0,14	0,24	13,47	1,84	33,35	0,42	0,20
3	5	MRA	0,10	0,21	12,02	1,62	33,65	0,45	0,27
3	6	MRA	0,13	0,23	12,85	1,64	36,46	0,41	0,22
PER	ANIM	TRT	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:2	C20:4
1	1	MRD	10,10	20,16	1,55	0,14	0,07	0,00	0,21
1	2	MRD	7,76	20,76	2,53	0,24	0,06	0,03	0,28
1	3	MRA	6,26	19,11	1,80	0,18	0,04	0,02	0,17
1	4	MRA	7,81	21,18	1,55	0,14	0,05	0,00	0,17
1	5	MMF	9,41	21,62	2,01	0,16	0,07	0,02	0,25
1	6	MMF	8,35	19,70	1,89	0,14	0,06	0,00	0,18
2	1	MRA	10,84	21,21	1,65	0,17	0,09	0,01	0,21
2	2	MRA	10,35	20,78	1,74	0,18	0,08	0,02	0,26
2	3	MMF	8,90	21,58	1,94	0,16	0,09	0,02	0,23
2	4	MMF	8,19	21,14	1,88	0,18	0,08	0,02	0,17
2	5	MRD	12,67	24,13	2,01	0,17	0,13	0,01	0,29
2	6	MRD	9,78	20,99	1,70	0,15	0,09	0,02	0,18
3	1	MMF	11,20	21,57	1,78	0,18	0,13	0,03	0,23
3	2	MMF	9,21	21,11	2,19	0,23	0,11	0,02	0,28
3	3	MRD	7,70	19,65	1,90	0,17	0,09	0,01	0,21
3	4	MRD	8,25	20,22	1,71	0,18	0,10	0,00	0,19
3	5	MRA	10,88	20,70	1,76	0,17	0,11	0,02	0,21
3	6	MRA	8,23	19,71	1,48	0,12	0,09	0,01	0,16

Modelo 1 - Modelo utilizado para determinação dos parâmetros da degradação das frações A+B1 dos carboidratos

Modelo de degradacao GNG1 ou GCMD 1
08:59 Wednesday, February 10, 2012

The NLIN Procedure
Dependent Variable y

Grid Search
Weighted
Vf k SS

15.0000 0.0900 551.6

Modelo de degradacao GNG1 ou GCMD 2
08:59 Wednesday, February 10, 2012

The NLIN Procedure
Dependent Variable y
Method: Newton

Iterative Phase			
Iter	Vf	k	Weighted SS
0	15.0000	0.0900	551.6
1	15.4079	0.0894	545.0
2	15.5292	0.0889	543.8
3	15.5624	0.0888	543.5
4	15.5712	0.0887	543.4
5	15.5736	0.0887	543.4
6	15.5742	0.0887	543.4
7	15.5743	0.0887	543.4

NOTE: Convergence criterion met.

Estimation Summary

Method	Newton
Iterations	7
R	9.576E-6
PPC(Vf)	2.776E-6
RPC(Vf)	0.00001
Object	2.388E-6
Objective	543.3987
Observations Read	80
Observations Used	80
Observations Missing	0

NOTE: An intercept was not specified for this model.

Source	Sum of DF	Mean Squares	Approx Square	F Value	Pr > F
Model	2	8437.1	4218.5	605.53	<.0001
Error	78	543.4	6.9667		
Uncorrected Total	80	8980.5			

Modelo de degradacao GNG1 ou GCMD 3
08:59 Wednesday, February 10, 2012

The NLIN Procedure

Parameter	Approx			
	Estimate	Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
Vf	15.5743	0.5940	14.3919	16.7568
k	0.0887	0.0104	0.0681	0.1093

Approximate Correlation Matrix
Vf k

Vf 1.0000000 -0.6574717
k -0.6574717 1.0000000

Modelo de degradacao GNG1 ou GCMD 4
08:59 Wednesday, February 10, 2012

Obs	t	y	sigma	yhat	rbi	sse	b	r	_weight_
1	0.00	0.0	3	0.0000	0.00000	543.399	4.685	0.00000	1.00000
2	0.25	0.0	3	0.3416	-0.34159	543.399	4.685	0.11386	0.99882
3	0.50	0.0	3	0.6757	-0.67569	543.399	4.685	0.22523	0.99538
4	1.00	0.0	3	1.3221	-1.32206	543.399	4.685	0.44069	0.98238
5	2.00	1.4	3	2.5319	-1.13190	543.399	4.685	0.37730	0.98707
6	4.00	4.0	3	4.6522	-0.65219	543.399	4.685	0.21740	0.99570
7	6.00	4.0	3	6.4278	-2.42778	543.399	4.685	0.80926	0.94122
8	8.00	7.4	3	7.9147	-0.51472	543.399	4.685	0.17157	0.99732
9	10.00	10.9	3	9.1599	1.74006	543.399	4.685	0.58002	0.96958
10	12.00	13.1	3	10.2027	2.89728	543.399	4.685	0.96576	0.91682
11	14.00	14.8	3	11.0760	3.72403	543.399	4.685	1.24134	0.86452
12	18.00	15.2	3	12.4197	2.78033	543.399	4.685	0.92678	0.92327
13	24.00	15.2	3	13.7217	1.47834	543.399	4.685	0.49278	0.97800
14	30.00	15.2	3	14.4863	0.71371	543.399	4.685	0.23790	0.99485
15	36.00	15.2	3	14.9353	0.26465	543.399	4.685	0.08822	0.99929
16	40.00	15.7	3	15.1262	0.57378	543.399	4.685	0.19126	0.99667
17	48.00	15.7	3	15.3540	0.34605	543.399	4.685	0.11535	0.99879
18	56.00	15.7	3	15.4660	0.23405	543.399	4.685	0.07802	0.99945
19	72.00	15.8	3	15.5481	0.25188	543.399	4.685	0.08396	0.99936
20	96.00	16.0	3	15.5712	0.42878	543.399	4.685	0.14293	0.99814
21	0.00	0.0	3	0.0000	0.00000	543.399	4.685	0.00000	1.00000
22	0.25	0.0	3	0.3416	-0.34159	543.399	4.685	0.11386	0.99882
23	0.50	0.0	3	0.6757	-0.67569	543.399	4.685	0.22523	0.99538
24	1.00	0.0	3	1.3221	-1.32206	543.399	4.685	0.44069	0.98238
25	2.00	0.7	3	2.5319	-1.83190	543.399	4.685	0.61063	0.96631
26	4.00	2.0	3	4.6522	-2.65219	543.399	4.685	0.88406	0.93005
27	6.00	2.0	3	6.4278	-4.42778	543.399	4.685	1.47593	0.81136
28	8.00	5.3	3	7.9147	-2.61472	543.399	4.685	0.87157	0.93198
29	10.00	6.1	3	9.1599	-3.05994	543.399	4.685	1.01998	0.90745
30	12.00	7.2	3	10.2027	-3.00272	543.399	4.685	1.00091	0.91080
31	14.00	7.6	3	11.0760	-3.47597	543.399	4.685	1.15866	0.88141
32	18.00	7.7	3	12.4197	-4.71967	543.399	4.685	1.57322	0.78719
33	24.00	7.7	3	13.7217	-6.02166	543.399	4.685	2.00722	0.66658
34	30.00	7.8	3	14.4863	-6.68629	543.399	4.685	2.22876	0.59859
35	36.00	8.7	3	14.9353	-6.23535	543.399	4.685	2.07845	0.64511
36	40.00	8.8	3	15.1262	-6.32622	543.399	4.685	2.10874	0.63586
37	48.00	9.3	3	15.3540	-6.05395	543.399	4.685	2.01798	0.66336
38	56.00	10.2	3	15.4660	-5.26595	543.399	4.685	1.75532	0.73895
39	72.00	10.5	3	15.5481	-5.04812	543.399	4.685	1.68271	0.75864
40	96.00	10.9	3	15.5712	-4.67122	543.399	4.685	1.55707	0.79128
41	0.00	0.0	3	0.0000	0.00000	543.399	4.685	0.00000	1.00000
42	0.25	0.1	3	0.3416	-0.24159	543.399	4.685	0.08053	0.99941
43	0.50	0.1	3	0.6757	-0.57569	543.399	4.685	0.19190	0.99665
44	1.00	0.1	3	1.3221	-1.22206	543.399	4.685	0.40735	0.98494
45	2.00	1.1	3	2.5319	-1.43190	543.399	4.685	0.47730	0.97935
46	4.00	3.1	3	4.6522	-1.55219	543.399	4.685	0.51740	0.97576
47	6.00	4.6	3	6.4278	-1.82778	543.399	4.685	0.60926	0.96646
48	8.00	7.5	3	7.9147	-0.41472	543.399	4.685	0.13824	0.99826

Modelo de degradacao GNG1 ou GCMD 5
08:59 Wednesday, February 10, 2012

Obs	t	y	sigma	yhat	rbi	sse	b	r	_weight_
49	10.00	10.1	3	9.1599	0.94006	543.399	4.685	0.31335	0.99107
50	12.00	12.4	3	10.2027	2.19728	543.399	4.685	0.73243	0.95172
51	14.00	13.3	3	11.0760	2.22403	543.399	4.685	0.74134	0.95055
52	18.00	13.6	3	12.4197	1.18033	543.399	4.685	0.39344	0.98594
53	24.00	13.6	3	13.7217	-0.12166	543.399	4.685	0.04055	0.99985
54	30.00	14.3	3	14.4863	-0.18629	543.399	4.685	0.06210	0.99965
55	36.00	14.3	3	14.9353	-0.63535	543.399	4.685	0.21178	0.99592
56	40.00	14.3	3	15.1262	-0.82622	543.399	4.685	0.27541	0.99310
57	48.00	14.3	3	15.3540	-1.05395	543.399	4.685	0.35132	0.98879

58	56.00	14.4	3	15.4660	-1.06595	543.399	4.685	0.35532	0.98853
59	72.00	14.4	3	15.5481	-1.14812	543.399	4.685	0.38271	0.98670
60	96.00	14.4	3	15.5712	-1.17122	543.399	4.685	0.39041	0.98616
61	0.00	0.0	3	0.0000	0.00000	543.399	4.685	0.00000	1.00000
62	0.25	0.0	3	0.3416	-0.34159	543.399	4.685	0.11386	0.99882
63	0.50	0.0	3	0.6757	-0.67569	543.399	4.685	0.22523	0.99538
64	1.00	0.0	3	1.3221	-1.32206	543.399	4.685	0.44069	0.98238
65	2.00	1.4	3	2.5319	-1.13190	543.399	4.685	0.37730	0.98707
66	4.00	3.4	3	4.6522	-1.25219	543.399	4.685	0.41740	0.98419
67	6.00	5.3	3	6.4278	-1.12778	543.399	4.685	0.37593	0.98716
68	8.00	8.8	3	7.9147	0.88528	543.399	4.685	0.29509	0.99208
69	10.00	11.2	3	9.1599	2.04006	543.399	4.685	0.68002	0.95831
70	12.00	15.4	3	10.2027	5.19728	543.399	4.685	1.73243	0.74522
71	14.00	17.5	3	11.0760	6.42403	543.399	4.685	2.14134	0.62583
72	18.00	18.1	3	12.4197	5.68033	543.399	4.685	1.89344	0.70000
73	24.00	18.4	3	13.7217	4.67834	543.399	4.685	1.55945	0.79068
74	30.00	19.7	3	14.4863	5.21371	543.399	4.685	1.73790	0.74373
75	36.00	19.7	3	14.9353	4.76465	543.399	4.685	1.58822	0.78336
76	40.00	19.7	3	15.1262	4.57378	543.399	4.685	1.52459	0.79942
77	48.00	19.7	3	15.3540	4.34605	543.399	4.685	1.44868	0.81791
78	56.00	19.7	3	15.4660	4.23405	543.399	4.685	1.41135	0.82673
79	72.00	19.7	3	15.5481	4.15188	543.399	4.685	1.38396	0.83309
80	96.00	19.8	3	15.5712	4.22878	543.399	4.685	1.40959	0.82715
