



## Cinética da fermentação ruminal de diferentes genótipos de milho e tamanho de partículas por meio da técnica de produção acumulativa de gases. Ruminal fermentation kinetics of different corn genotypes and particle size through the cumulative gas production technique.

Gianne Evans Cunha<sup>1</sup>, Bruna Bonini Sestari<sup>1</sup>, Bruno Mazzer de Oliveira Ramos<sup>2</sup>, [Angela Rocio Poveda-Parra](#)<sup>1</sup>, [Eduardo Lucas Terra Peixoto](#)<sup>3</sup>, [Fernando Luiz Massaro Junior](#)<sup>1</sup>, [Mirna Adriane Syperreck](#)<sup>4</sup>, [Odimári Pricila Prado-Calixto](#)<sup>5</sup>, [Ivone Yurika Mizubuti](#)<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> Doutor em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, UEL, PR, Brazil. E-mails:

[gianneevans@hotmail.com](mailto:gianneevans@hotmail.com); [brunab.sestari@hotmail.com](mailto:brunab.sestari@hotmail.com); [angelpov@gmail.com](mailto:angelpov@gmail.com); [massaro@uel.br](mailto:massaro@uel.br)

<sup>2</sup> Doutor em Ciência Animal, Biorigin Technical Manager in North America, Lexington, Kentucky, USA.

E-mail: [bruno\\_mazzer@yahoo.com.br](mailto:bruno_mazzer@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Doutor em Ciência Animal, Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, MS, Brazil. E-mail:

[eduardopeixoto@ufgd.edu.br](mailto:eduardopeixoto@ufgd.edu.br)

<sup>4</sup> Doutor em Ciência Animal, Nutriquest Technofeed Animal Nutrition LTDA, Campinas, SP, Brazil. E-mail:

[syperreck@gmail.com](mailto:syperreck@gmail.com)

<sup>5</sup> Professores Doutores, Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, UEL, PR, Brazil. E-mails: [odimari@uel.br](mailto:odimari@uel.br); [mizubuti@uel.br](mailto:mizubuti@uel.br)

\* Autor para correspondência

### Resumo

Objetivou-se avaliar a cinética de degradação ruminal *in vitro* de três genótipos de milho (duro, semiduro e semi-dentado) em quatro tamanhos de partículas (maiores que 1400 µm; entre 1400 e 850 µm; entre 850 e 420 µm; e menores que 420 µm), pela técnica semi-automática de produção acumulativa de gases. Houve efeito de genótipo e tamanho de partícula sobre a produção total de gases e tempo de colonização. Milho duro em partículas menores fornecem melhores parâmetros de fermentação ruminal, com maior produção total de gases, maior taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos carboidratos e menor tempo de colonização.

**Palavras-chave:** Modelo logístico unicompartmental. Tempo de colonização. Vitreosidade. Volume de gás.

### Abstract

The objective was to evaluate the *in vitro* ruminal degradation kinetics of three corn genotypes (flint, semi-flint and semi-dent) in four particle sizes (greater than 1400 µm; between 1400 and 850 µm; between 850 and 420 µm; and smaller than 420 µm), by the semi-automatic cumulative gas production technique. There was an effect of genotype and particle size on total gas production and colonization time. Flint corn in smaller particles provides better ruminal fermentation parameters, with higher total gas production, higher degradation rate of potentially degradable fraction of carbohydrates and shorter lag time.

**Keywords:** Single pool logistic model. Lag time. Vitreousness. Gas volume.



## Introdução

O grão de milho é produzido em quase todo o mundo e o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com 87,79 milhões de toneladas produzidas na safra de 2021 (IBGE, 2022), sendo que os Estados Unidos e a China são os dois maiores produtores. Em geral, a maior parte da produção de milho em grão é destinado à alimentação animal. Nos Estados Unidos, cerca de 50% são destinados à alimentação animal e no Brasil varia de 60% a 80%. Isto mostra a dependência da criação animal em relação à produção de milho (GUIMARÃES, 2018).

O milho é um dos principais grãos que compõe a dieta de bovinos confinados, representando uma fonte energética de alta qualidade (MATA et al., 2017). Como a alimentação é responsável pela maior parte dos custos de produção, são necessários estudos no sentido de auxiliar na maximização da utilização dos alimentos pelo animal.

No endosperma do milho encontra-se o amido que corresponde de 60% a 80% de sua composição. O endosperma pode ser classificado como endosperma vítreo ou farináceo, dependendo da distribuição dos grânulos de amido e da matriz proteica. O endosperma farináceo não possui matriz proteica circundando os grânulos de amido, enquanto que, o endosperma vítreo possui uma matriz proteica densa, estruturada que circunda esses grânulos, conferindo ao grão de milho uma aparência vítrea e dura (PAES, 2006). A relação entre endosperma vítreo e farináceo é que determina o genótipo de milho que pode ser: farináceo, dentado, semidentado, semiduro e duro.

Essa matriz proteica que circunda o endosperma vítreo é um dos principais fatores que afetam a utilização do amido pelos microrganismos ruminais, pois dificulta a adesão e ação das enzimas digestivas dos microrganismos. Portanto, é importante que o milho seja processado para aumentar a área de superfície dos grãos, reduzir a interação da matriz proteica com os grânulos de amido e aumentar a solubilidade do amido em água através do rompimento das pontes de hidrogênio das moléculas de amilose e amilopectina, facilitando a adesão e digestão enzimática pelas bactérias ruminais (KOTARSKI; WANISKA; THURN, 1992; ANTUNES; RODRIGUEZ, 2006).

No Brasil, não há preocupação em se conhecer o tipo do milho utilizado em rações de animais em confinamento. Em geral, o milho para a alimentação animal é de origem desconhecida, sendo muitas vezes uma mistura de genótipos, pois são adquiridos de cooperativas. Essas cooperativas recebem o milho de vários produtores locais e os misturam em silos. Sendo assim, não se pode determinar o genótipo do milho fornecido aos animais. Como o milho é um dos componentes mais onerosos da dieta de bovinos confinados, o valor nutritivo de cada genótipo deveria ser levado em consideração ao se preparar a ração dos animais, pois o mesmo pode ter impactos importantes sobre o desempenho.

O valor nutritivo dos alimentos é determinado por uma complexa interação entre os nutrientes e os microrganismos do trato digestivo, nos processos de digestão, absorção, transporte e utilização de metabólitos (MARTINS et al., 2000).

Neste sentido, as técnicas *in vivo*, *in situ* e *in vitro* de avaliação dos alimentos são valiosas ferramentas para estimar o valor nutritivo dos alimentos. A técnica *in vitro* de produção de gases apresenta resultados confiáveis da cinética de fermentação ruminal, fornecendo a taxa e a extensão de degradação dos alimentos, bem como permite medir os produtos da fermentação de partes solúveis e insolúveis dos substratos. Possibilita ainda o uso de grande número de substratos por experimento, apresentando elevada acurácia nas mensurações, simplicidade no manuseio dos equipamentos e baixo custo por amostra analisada (PELL; SCHOFIELD, 1993; MAURICIO et al., 1999).

O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a cinética de fermentação ruminal de três genótipos de milho fragmentados em partículas de diferentes tamanhos, utilizando a técnica *in vitro* de produção acumulativa de gases.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Foram escolhidos três genótipos de milho (Agrocere AG9010: grão duro; Dow AgroSciences 2B710: grão semiduro; e Dow AgroSciences 2B587: grão semidentado) comumente utilizados na alimentação dos animais na região de Londrina-Paraná. Foi calculado o índice de vitreosidade de cada variedade por meio da metodologia descrita por Erasmus e Taylor (2004), sendo que o milho duro apresentou índice de vitreosidade de 62,64%, o semiduro 58,5% e o semidentado 57,7%.

Após esse procedimento, foram realizadas análises bromatológicas dos três genótipos de milho determinando-se os teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) (Tabela 1) segundo as metodologias descritas por Mizubuti et al. (2009). O amido foi determinado segundo a metodologia descrita por Lane e Eynon (1934). Os teores de NDT foram estimados pela fórmula descrita por Patterson et al. (2000):  $NDT = [88,9 - (0,779 \times FDA\%)]$ .

Os três genótipos de milho foram moídos em moinho com peneira de 10 mm de diâmetro e posteriormente as amostras passaram pelo conjunto de peneiras com aberturas de 1400, 850 e 420  $\mu\text{m}$  através de um sistema de agitação vertical durante 10 minutos, obtendo-se quatro tamanhos de partículas que foram: maiores que 1400  $\mu\text{m}$ ; entre 1400 e 850  $\mu\text{m}$ ; entre 850 e 420  $\mu\text{m}$  e inferiores a 420  $\mu\text{m}$ .

Os parâmetros de cinética de degradação ruminal *in vitro* dos alimentos experimentais foram estimados a partir do método semi-automático de produção acumulativa de gases descrito por Mauricio et al. (1999).

Tabela 1 - Composição bromatológica de grãos de milho de genótipo duro (Agrocere AG9010), semiduro (Dow AgroSciences 2B710) e semidentado (Dow AgroSciences 2B587).

Genótipos de milho	Composição Bromatológica*							Amido
	MS %	MM	PB	EE	FDN % na MS	FDA	NDT	
Duro	89,45	1,39	12,28	4,55	25,82	4,27	85,57	67,99
Semiduro	89,54	1,33	13,05	4,59	18,29	2,28	87,12	66,98
Semidentado	89,49	1,20	11,86	4,24	19,64	2,61	86,87	74,56

\*MS- Matéria Seca; MM- Matéria Mineral; PB- Proteína Bruta; FDN- Fibra em Detergente Neutro; FDA- Fibra em Detergente Ácido; EE- Extrato Etéreo; NDT – Nutrientes Digestíveis Totais.

O líquido ruminal utilizado na incubação foi coletado de dois bovinos machos, castrados, com 24 meses de idade, peso vivo médio de 400 kg, fistulados no rúmen. Os animais foram mantidos confinados durante 15 dias antes da coleta do inóculo. A dieta foi formulada segundo as recomendações do NRC (2000) para exigências de manutenção e composta de bagaço de cana-de-açúcar como fonte volumosa e concentrado contendo grão de milho moído, farelo de soja, uréia e suplemento mineral, na relação volumoso: concentrado de 50:50, com consumo *ad libitum*, sendo o arraçoamento feito duas vezes ao dia, pela manhã (07h30min) e a tarde (17h00min). A solução tampão, descrita por

McDougall (1948), foi preparada no dia da incubação, reduzida por gaseificação de CO<sub>2</sub> (pH 6,9) e mantida aquecida a 39°C até o momento da incubação.

Para cada amostra foram utilizados cinco frascos de 50 mL cada e neles foram adicionados 0,3 g de amostra, 24 mL de solução tampão e 6 mL de líquido ruminal. Para os ajustes da variação da fonte de inóculo, foram incubados frascos brancos contendo apenas solução tampão e líquido ruminal. Os frascos foram hermeticamente fechados utilizando-se rolhas de borracha e despressurizados nos primeiros 5 minutos com o auxílio de uma agulha e foram mantidos em câmara incubadora tipo BOD a 39° C durante todo o período de mensuração da produção de gás.

Após a despressurização, a pressão dos gases produzidos pela fermentação do substrato e acumulada nos frascos foi mensurada por meio de um manômetro digital, nos tempos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36 e 48 horas de fermentação. Os valores de pressão expressos em Psi foram convertidos em volume (mL), conforme equação pré-estabelecida para as condições locais: Volume (mL) = 0,5702 + 3,2399 x Pressão + 0,1074 x Pressão<sup>2</sup> (R<sup>2</sup>=0,99), corrigidos para um grama de matéria seca, e descontados os valores obtidos nos frascos brancos.

A cinética de produção cumulativa dos gases oriundos das frações de carboidratos não estruturais (CNE) e fibra em detergente neutro (FDN) foi analisada empregando-se o modelo logístico unicompartimental (SCHOFIELD; PITT; PELL, 1994):  $V(t) = V_f / (1 + \exp[2 - 4 \times C \times (t - L)])$ , onde: V(t) é o volume acumulado no tempo t; V<sub>f</sub> (mL/100 mg MS), o total de gases produzido a partir da fração em questão; C (h<sup>-1</sup>), a taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos carboidratos contidos na matéria seca ou na parede celular insolúvel em solução detergente neutra; L, a latência discreta (h); e t, o tempo (h). As taxas de degradação ruminal dos CNE e da FDN foram estimadas como C/V<sub>f</sub>; em que C equivale à taxa máxima de produção de gases. Os parâmetros cinéticos relativos à fração de CNE foram estimados a partir da produção cumulativa de gases até 12 horas de incubação, ou até o momento em que a assíntota fosse estabelecida (STEFANON; PELL; SCHOFIELD, 1996; DOANE; PELL; SCHOFIELD, 1997; DOANE; PELL; SCHOFIELD, 1998).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial três x quatro, sendo três genótipos de milho (duro, semiduro e semidentado) e quatro tamanhos de partículas (P1- maiores que 1400 µm; P2- entre 1400 e 850 µm; P3- entre 850 e 420 µm e P4- inferiores a 420 µm), com cinco repetições cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste Tukey (P<0,05) utilizando-se o procedimento PROC GLM (SAS, 2001).

## Resultados e discussão

Houve efeito do genótipo na produção total de gases (P<0,05, Tabela 2). O milho duro produziu maior volume de gases (237,96 mL), seguido do milho semiduro (230,21 mL) e semidentado (221,46 mL). Esse resultado contraria aqueles encontrados na literatura, no qual, o milho semidentado apresenta maior produção de gases, já que o grau de vitreosidade do grão é um dos fatores que interfere na sua fermentação (PHILIPPEAU; LE DESCHAULT DE MONREDON; MICHALET-DOREAU, 1999; MATA et al., 2017; BLASEL; HOFFMAN; SHAVER, 2006; DEPETERS et al., 2007).

Tabela 2 - Volume total de gases produzidos em 48h, taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos carboidratos e latência discreta (tempo de colonização) de grãos de milho de genótipo duro, semiduro e semimentado em diferentes tamanhos de partículas.

Tamanhos de partículas	Parâmetros			Média
	Volume total de gases (ml/g de MS)			
	Duro	Semiduro	Semimentado	
maiores que 1400 µm	226,40 Aa	227,60 Aa	215,02 Aa	223,01 b
entre 1400 µm e 850 µm	239,42 Aa	224,38 Aa	221,04 Aa	228,28 b
entre 850 µm e 420 µm	244,30 Aa	224,68 Aa	222,08 Aa	230,35 ab
menores que 420 µm	241,74 Aa	244,20 Aa	227,70 Aa	237,88 a
Média	237,96 A	230,21 B	221,46 C	-
	Milho	Tamanho	Interação MxT	-
p-valor	<0,0001	0,0009	0,1066	-
	c (%/h)			
maiores que 1400 µm	0,0729 Aa	0,0754 Aa	0,0689 Aa	0,0724 c
entre 1400 µm e 850 µm	0,0799 Aa	0,0781 Aa	0,0728 Aa	0,0769 bc
entre 850 µm e 420 µm	0,0857 Aa	0,0767 Aa	0,0753 Aa	0,0792 b
menores que 420 µm	0,0987 Aa	0,1016 Aa	0,0888 Aa	0,0964 a
Média	0,0843 A	0,0829 A	0,0764 B	-
	Milho	Tamanho	Interação MxT	-
p-valor	<0,0001	<0,0001	0,0791	-
	Tempo de Colonização (h)			
maiores que 1400 µm	12,36 Aa	13,2 Aa	13,13 Aa	12,90 a
entre 1400 µm e 850 µm	12,04 Aab	13,43 Aa	12,73 Aa	12,73 a
entre 850 µm e 420 µm	10,64 Ab	11,02 Ab	10,7 Ab	10,79 b
menores que 420 µm	7,63 Bc	8,17 Ac	9,52 Ab	8,44 c
Média	10,67 B	11,45 A	11,52 A	-
	Milho	Tamanho	Interação MxT	-
p-valor	0,0005	<0,0001	0,0301	-

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%

No entanto, a maior produção de gases observado para o genótipo tipo duro, pode ser atribuído ao maior teor de FDN nesse genótipo (Tabela 1), uma vez que o modelo unicompartmental de produção de gases não caracteriza, no modelo, a fermentação que é decorrente da fração prontamente disponível (carboidratos não fibrosos) daquela fração de lenta degradação (carboidratos fibrosos), contabilizando apenas o volume de gases gerado ao longo de toda a fermentação.

Ao analisar a Figura 1 observou-se que há produção de gases para os três genótipos acentuando-se após seis horas de incubação. Após 12h de incubação verificou-se que o milho tipo duro gerou maior volume de gases do que os demais genótipos.

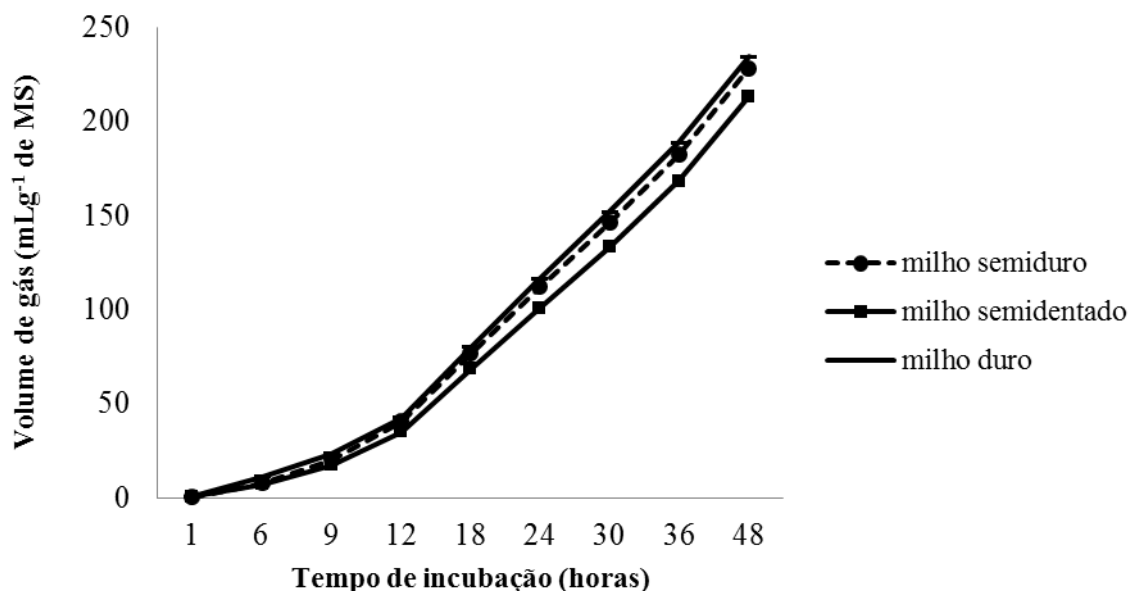


Figura 1 - Produção total de gases em função dos tempos de incubação de grãos de milho de genótipos duro, semiduro e semidentado.

Esses resultados diferem do estudo realizado por DePeters et al. (2007) que estudaram a produção de gases de quatro genótipos de milho com diferentes vitreosidades (55; 60;63 e 65%) e observaram que as diferenças entre os genótipos ocorreram nas primeiras 8h de incubação, sendo que o genótipo com menor vitreosidade (55%) apresentou produção de gases superior (217,5 mL) aos genótipos com 63% e 65% de vitreosidade (190,8 mL). Ainda no mesmo estudo, os pesquisadores separaram endosperma vítreo e farináceo e realizaram a incubação dos mesmos. Verificaram que o endosperma farináceo apresentou maior fermentação em 8h de incubação, porém, em 72h de incubação, o endosperma vítreo produziu maior volume total de gases. Parte dos resultados obtidos no presente estudo, foi coerente com os resultados acima apresentados, pois o milho duro teve maior produção de gases e também foi o genótipo com maior quantidade de endosperma vítreo.

Pode ser que tenha ocorrido sincronismo entre bactérias proteolíticas e amilolíticas na degradação do milho duro, já que esse genótipo possui maior quantidade de matriz proteica. Esse sincronismo pode ter gerado um balanço de energia - proteína que favoreceu o crescimento microbiano acelerando a fermentação do milho. O oposto pode ter ocorrido com o genótipo semidentado, que por possuir maior quantidade de amido livre, pode ter sido fermentado rapidamente pelas bactérias amilolíticas nas primeiras horas, produzindo altas taxas de ácidos graxos que ocasionou diminuição do pH e influenciou negativamente a ação de outros microrganismos, levando à menor produção total de gases.

Esse sincronismo pode ter sido gerado pela dieta dos animais doadores de líquido ruminal, uma vez que os mesmos consumiram dieta contendo farelo de soja e ureia, que provavelmente proporcionaram uma população de bactérias proteolíticas que auxiliaram na degradação da matriz proteica do amido do milho.

Houve efeito ( $P < 0,05$ ) do tamanho de partícula no volume total de gases produzido (Tabela 2) e, independente do tempo de incubação (Figura 2), as partículas com menores diâmetros produziram maiores quantidades de gases do que partículas com maiores diâmetros. Estas observações corroboram com o conceito do mecanismo de digestão do amido definido por Huntington (1997), em que a digestão do amido deve ter relação inversa com o tamanho de partícula, pois a área de superfície para digestão bacteriana ou de hidrólise enzimática do amido aumenta com a diminuição

do tamanho de partícula. Além disso, a diminuição no tamanho de partícula provavelmente reduziu a interação da matriz proteica com os grânulos de amido e rompeu as pontes de hidrogênio das moléculas de amilose e amilopectina dos grânulos, facilitando a ação das enzimas bacterianas.

Lee et al. (2002) ao estudarem o milho inteiro e com dois graus de moagem (com peneira de 4mm e 1mm) constataram que as partículas de 1mm apresentaram produção de gases superiores às partículas de 4 mm e ao grão inteiro. Bird et al. (1999) obtiveram resultados superiores para partículas menores em cevada, sendo que a produção de gases de partículas de 0,5 mm foram 48% superiores às partículas de 4 mm. Para a fermentação do amido, observaram que em partículas de 0,5 mm, foi de 79% e em partículas de 4 mm, foi de 46%.

Blasel, Hoffman e Shaver (2006) constataram que o grau de acesso da amilase ao amido de milho está diretamente relacionado ao tamanho da partícula e que a cada aumento de 100  $\mu\text{m}$  no tamanho da partícula diminui-se em 2,68% o grau de acesso da amilase. Isto confirma que a moagem aumentou o acesso da enzima e que, em milho farináceo, esse acesso foi 60% maior do que em milho duro.

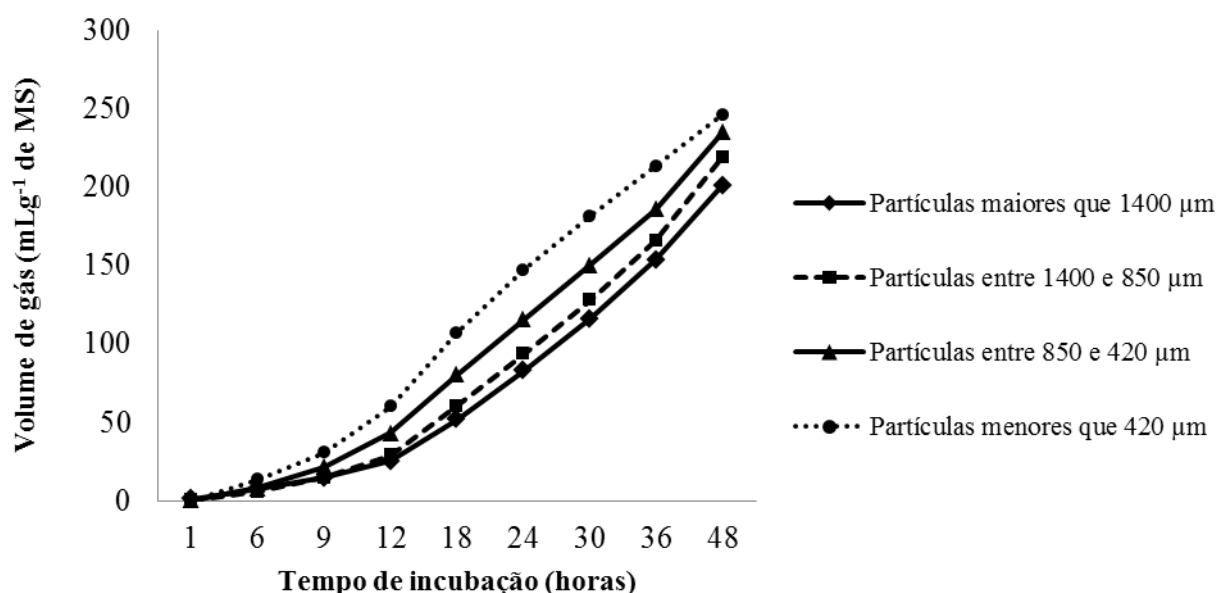


Figura 2 - Produção total de gases em função dos tempos de incubação de milho moído em diferentes tamanhos de partículas.

Para taxa de degradação da fração potencialmente degradável (c), houve efeito ( $P < 0,05$ ) do genótipo, sendo que o milho tipo duro ( $0,0843 \text{ h}^{-1}$ ) e semiduro ( $0,0829 \text{ h}^{-1}$ ) apresentaram valores superiores ao do milho semidentado ( $0,0764 \text{ h}^{-1}$ , Tabela 2), cujos resultados são condizentes com o volume de produção de gases, no qual o milho duro foi superior aos demais. Os resultados da taxa de degradação são muito variáveis quando comparados aos encontrados em literatura. Os valores obtidos por Wascheck et al. (2010) em fubá de milho foi de  $0,0681 \text{ h}^{-1}$ , que são próximos aos encontrados no presente estudo. Entretanto, os valores deste estudo estão acima daqueles encontrados por Philippeau, Le Deschault de Monredon e Michalet-Doreau (1999) em estudo *in situ*, cujos valores foram de  $0,059 \text{ h}^{-1}$  em milho dentado e  $0,034 \text{ h}^{-1}$  em milho duro. Contudo, ressalta-se que a divergência pode ser oriunda da técnica utilizada para mensurar a taxa de degradação, pois os estudos acima citados utilizaram como técnica o modelo *in situ* em que o alimento está em contato direto com o ambiente ruminal. Por outro lado, na técnica *in vitro* há apenas uma simulação das condições ruminais, e o alimento não sofre a mesma ação que no interior do rúmen.

Malafaia et al. (1998) relataram que a principal desvantagem do método *in vitro* de avaliação de alimentos é a de não reproduzir o ambiente ruminal, mas se o objetivo do estudo for determinar as propriedades intrínsecas do alimento, esta desvantagem pode ser revertida pois no método *in vitro*, as condições do ambiente podem ser controladas de maneira a prevenir as flutuações físico-químicas, permitindo isolar a característica de interesse do alimento, para que essa seja a única variável limitante para o estudo de degradação.

O tamanho de partícula promoveu efeito ( $P < 0,05$ ) sobre a taxa de degradação (fração c), sendo que a maior taxa de degradação foi encontrada em partículas menores que  $420 \mu\text{m}$  ( $0,0964 \text{ h}^{-1}$ ). Os valores obtidos estão de acordo com o volume total de gases produzidos por essas partículas, que foi maior em partículas menores e diminuiu com o aumento no tamanho das partículas. Rémond et al. (2004), em estudo *in situ*, observaram diferença entre tamanhos de partículas para fração c, sendo que para milho semiduro com partículas de  $700 \mu\text{m}$  e  $1800 \mu\text{m}$  encontraram valores de  $0,056$  e  $0,057 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente, os quais diferiram de partículas de  $3700 \mu\text{m}$  que apresentou valor de  $0,04 \text{ h}^{-1}$ . Para o milho de genótipo dentado, encontraram diferença entre partículas de  $600 \mu\text{m}$  e  $3500 \mu\text{m}$  ( $0,054$  e  $0,042 \text{ h}^{-1}$ ). Os valores obtidos no presente estudo, utilizando a técnica de produção de gases, foram superiores aos encontrados em estudos *in situ*.

O tempo de colonização foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelo genótipo (Tabela 2), sendo que o milho duro apresentou o menor tempo de colonização ( $10,67 \text{ h}$ ) do que os milhos semiduros ( $11,45 \text{ h}$ ) e semidentado ( $11,54 \text{ h}$ ), os quais não diferiram entre si. Este resultado contraria os resultados encontrados na literatura que indica que o genótipo com menor índice de vitreosidade apresentam menor tempo de colonização. No estudo realizado por Moreira et al. (2010), os resultados obtidos para tempo de colonização foram menores em forragens associadas ao milho dentado (média de  $0,31 \text{ h}$ ) e maiores em forragens associadas ao milho duro (média de  $1,14 \text{ h}$ ), mostrando que o aumento da vitreosidade do milho aumentou o tempo de colonização das amostras.

Este resultado pode ter sido influenciado tanto pela dieta do animal doador de líquido ruminal, quanto pelo sincronismo entre os microrganismos. O milho semidentado por possuir maior fração solúvel do que o milho duro, pode ter promovido uma diminuição de pH inicial que inibiu a colonização das partículas pelas bactérias ruminais. No milho duro, a solubilidade é mais baixa, o que pode ter proporcionado uma colonização primeiramente pelas bactérias proteolíticas, na fermentação da matriz proteica, e em seguida a colonização pelas bactérias amilolíticas na fermentação do amido.

O tamanho de partícula também influenciou ( $P < 0,05$ ) no tempo de colonização (Tabela 2). Observou-se que partículas menores ( $420 \mu\text{m}$ ) apresentaram tempo de colonização 34% menor que partículas grandes (maiores que  $1400 \mu\text{m}$  e entre  $1400$  e  $850 \mu\text{m}$ ) e 21,8% menor do que partículas de tamanho entre  $850$  e  $420 \mu\text{m}$ , confirmando que a degradação do milho é mais rápida em partículas menores porque a colonização ocorre mais rápido do que em partículas maiores. Partículas maiores e grãos inteiros, possuem matriz proteica intacta, altamente resistente à digestão pelos microrganismos ruminais, por não permitir a adesão das bactérias. Com a diminuição no tamanho das partículas, houve aumento da superfície de contato do alimento que proporcionou melhor adesão das bactérias ruminais e melhor digestão amilolítica pelas enzimas dos microrganismos (BEAUACHEMIN et al., 1994; BLASEL; HOFFMAN; SHAVER, 2006; HOFFMAN et al., 2012).

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre tamanho de partícula e genótipo de milho (Tabela 2) observando-se que para partículas finamente moídas (menor que  $420 \mu\text{m}$ ) o genótipo duro apresentou menor tempo de colonização ( $7,63 \text{ h}$ ) do que milho semiduro e semidentado ( $8,17 \text{ h}$  e  $9,52 \text{ h}$ , respectivamente).



## Conclusões

O milho do tipo duro fornece os melhores parâmetros de fermentação ruminal, com maior produção de gases pelas bactérias ruminais, maior taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos carboidratos e menor tempo de colonização do que milhos do tipo semiduro e semidentado. A diminuição no tamanho de partículas aumenta a produção de gases, aumenta a taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos carboidratos e diminui o tempo de colonização do milho, o que, conseqüentemente, melhora o aproveitamento ruminal do amido.

## Conflitos de interesse

Não houve conflitos de interesse dos autores.

## Contribuição dos autores

Gianne Evans Cunha: trabalho original - parte da tese de doutorado; Bruna Bonini Sestari, Bruno Mazzer de Oliveira Ramos, Angela Rocio Poveda-Parra, Fernando Luiz Massaro Junior, Mirna Adriane Syperreck, Eduardo Lucas Terra Peixoto: condução do experimento, coleta de dados, análises laboratoriais, análises estatísticas dos resultados e redação do texto; Odimári Pricila Prado-Calixto, Ivone Yurika Mizubuti: orientações, correções e revisão geral do texto.

## Referências

- ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. *In*: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Org.). **Nutrição de Ruminantes**. 1ª ed. Jaboticabal: Funep, p. 151-182, 2006.
- 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, n. 1, p. 236-246, 1994. <https://doi.org/10.2527/1994.721236x>
- BIRD, S. H.; ROWE, J. B.; CHOCT, M.; STACHIW, S.; TYLER, P.; THOMPSON, R. D. *In vitro* fermentation of grain and enzymatic digestion of cereal starch. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, v. 12, p. 53-61, 1999. <https://ses.library.usyd.edu.au/handle/2123/2615>
- BLASEL, H. M.; HOFFMAN, P. C.; SHAVER, R. D. Degree of starch access: An enzymatic method to determine starch degradation potential of corn grain and corn silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 128, n.1, p. 96-107, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.018>
- DEPETERS, E. J.; GETACHEW, G.; FADEL, J. G.; CORONA, L.; ZINN, R. A. Influence of corn hybrid, protease and methods of processing on *in vitro* gas production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 1/2, p. 157-175, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.004>
- DOANE, P. H.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Ensiling effects on the ethanol fractionation of forages using gas production. **Journal of Animal Science**, v. 76. n. 3, p. 888-895, 1998. <https://doi.org/10.2527/1998.763888x>
- DOANE, P. H.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. The effect of preservation method on the neutral detergent soluble fraction of forages. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 4, p. 1140-1148, 1997. <https://doi.org/10.2527/1997.7541140x>

- ERASMUS, C.; TAYLOR, J. R. N. Optimizing the determination of maize endosperm vitreousness by a rapid non-destructive image analysis technique. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n.9, p.920-930, 2004. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1672>
- GUIMARÃES, E. **Nutrição animal e a produção de grãos no Brasil**. Animal Business Brasil. p. 1-6, 2018. Disponível em: <<https://animalbusiness.com.br/columas/zootecnia/nutricao-animal-e-producao-de-graos-no-brasil/>>. Acesso em 13 nov. 2022.
- HOFFMAN, P. C.; MERTENS, D. R.; LARSON, J.; COBLENTZ, W. K.; SHAVER, R. D. A query for effective mean particle size in dry and high-moisture corns. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 3467-3477, 2012. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5126>
- HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 3, p. 852-867, 1997. <https://doi.org/10.2527/1997.753852x>
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. **Área, Produção e Rendimento Médio - Confronto das safras de 2021 e das estimativas para 2022 – Brasil**. 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?edicao=35409&t=resultados>>. Acesso em 13 nov. 2022.
- KOTARSKI, S. F.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 178-190, 1992. <https://doi.org/10.1093/jn/122.1.178>
- LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator**. Normam Rodge: London, 1934, 8p.
- LEE, S. Y.; KIM, W. Y.; KO, J. Y.; HA, J. K. Effects of corn processing on *in vitro* and *in situ* digestion of corn grain in Holstein steers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 6, p. 851-858, 2002. <https://doi.org/10.5713/ajas.2002.851>
- MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. D. C.; VIEIRA, R. A. M.; SILVA, J.; PEREIRA, J. C. Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 2, p. 370-380, 1998. <http://www.sbz.org.br/revista/artigos/1990.pdf>
- MARTINS, A. S.; PRADO, I. N.; ZEOULA, L. M.; BRANCO, A. F.; NASCIMENTO, W. G. Digestibilidade aparente de dietas contendo milho ou casca de mandioca como fonte energética e farelo de algodão ou levedura como fonte protéica em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 269-277, 2000. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000100035>
- MATA, D. G.; MORAES, G. J.; LEAL, E. S.; FORMIGONI, G. M.; COSTA, M. C. M.; NIWA, M. V. G.; KOZERSKI, N. D.; ÍTAVO, L. C. V. Efeitos dos processamentos do milho sobre o desempenho de bovinos de corte terminados em confinamento. *In: X MOSTRA CIENTÍFICA, FAMEZ / UFMS*, 2017, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, p. 177-184, 2017. <https://famez.ufms.br/files/2015/09/EFEITOS-DOS-PROCESSAMENTOS-DO-MILHO-SOBRE-O-DESEMPENHO-DE-BOVINOS-DE-CORTE-TERMINADOS-EM-CONFINAMENTO.pdf>
- MAURICIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4)
- MCDUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1948. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1274641/>
- MIZUBUTI, I. Y.; PINTO, A. P.; PEREIRA, E. S.; RAMOS, B. M. O. **Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais**. Londrina: EDUEL, 2009, 228p.

- MOREIRA, P. C.; REIS, R. B.; REZENDE, P. L. P.; WASCHECK, R. C.; MENDONÇA, A. C.; DUTRA, A. R. Produção cumulativa de gases e parâmetros de France avaliados pela técnica semiautomática *in vitro* de fontes de carboidratos de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 2, p. 452-462, 2010. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ20220319025>
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7<sup>th</sup> ed. Washington, DC.: National Academic Press, 2000, 242p. <https://nap.nationalacademies.org/download/9791>
- PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Circular Técnica (EMBRAPA)**, Sete Lagoas, MG, v. 75, 2006, 6p. [https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/19619/1/Circ\\_75.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/19619/1/Circ_75.pdf)
- PATTERSON, T.; KLOPFENSTEIN, T. J.; MILTON, T.; BRINK, D. R. Evaluation of the 1996 Beef Cattle NRC model predictions of intake and gain for calves fed low or medium energy density diets. **Nebraska Beef Reports**, p. 26-29, 2000. <https://core.ac.uk/download/pdf/188118642.pdf>
- PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 4, p. 1063-1073, 1993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77435-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77435-4)
- PHILIPPEAU, C.; LE DESCHAULT DE MONREDON, F.; MICHALET-DOREAU, B. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 1, p. 238-243, 1999. <https://doi.org/10.2527/1999.771238x>
- RÉMOND, D.; CABRERA-ESTRADA, J.I.; CHAMPION, M.; CHAUVEAU, B.; COUDURE, R.; PONCET, C. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 5, p. 1389-1399, 2004. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73288-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73288-9)
- SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetic of fiber digestion from *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 11, p. 2980-2991, 1994. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>
- SAS. Statistical Analysis System. **User's guide**. Version 8.1.ed. Cary: SAS Institute, 2001, 956p.
- STEFANON, B.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Effect of maturity on digestion kinetics of water-soluble and water-insoluble fractions of alfalfa and brome hay. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1104-1115, 1996. <https://doi.org/10.2527/1996.7451104x>
- WASCHECK, R. C.; REZENDE, P. L. P.; MOREIRA, P. C.; REIS, R. B.; ROSA, S. R. A.; MENDONÇA, A. C. Degradabilidade e produção de gases *in vitro* de fontes energéticas alternativas na alimentação de ruminantes. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, n. 4, p. 425-430, 2010. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v32i4.8835>

Recebido em 25 de novembro de 2022  
Retornado para ajustes em 22 de fevereiro de 2023  
Recebido com ajustes em 22 de fevereiro de 2023  
Aceito em 28 de fevereiro de 2023